

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA COM BROMETO DE
PIRIDOSTIGMINA SOBRE A MODULAÇÃO AUTONÔMICA
CARDIOVASCULAR EM RATOS COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA
DECORRENTE DO INFARTO DO MIOCÁRDIO**

ELIZABETE NOGUEIRA JANUÁRIO

**Uberaba – MG
Novembro 2009**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

ELIZABETE NOGUEIRA JANUÁRIO

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA COM BROMETO DE
PIRIDOSTIGMINA SOBRE A MODULAÇÃO AUTONÔMICA
CARDIOVASCULAR EM RATOS COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA
DECORRENTE DO INFARTO DO MIOCÁRDIO**

**Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Patologia, área de concentração “Patologia Geral”,
da Universidade Federal do Triângulo Mineiro,
como requisito parcial para obtenção do Título de
Doutor em Patologia.**

Orientador: Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva

**Uberaba, MG
Novembro, 2009**

Catálogo na Fonte por Elisabete Perez Caramori Ambrósio / Bibliotecária CRB6-1535

J38m Januário, Elizabete Nogueira.
Efeitos da estimulação colinérgica com brometo de piridostigmina sobre modulação autonômica cardiovascular em ratos com insuficiência cardíaca decorrente do infarto do miocárdio |Elizabete Nogueira Januário-2009

Contém anexos.

Tese (Doutorado em Patologia) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba MG.

Orientador: Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva.

1. Brometo de piridostigmina (patologia). 2. Modulação autonômica cardiovascular. I. Silva, Valdo José Dias da. II. Título.

CDU 616.12

ELIZABETE NOGUEIRA JANUÁRIO

EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA COM BROMETO DE PIRIDOSTIGMINA SOBRE MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDIOVASCULAR EM RATOS COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA DECORRENTE DO INFARTO DO MIOCÁRDIO

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor. Área de concentração: Patologia Geral.

Uberaba,-----, de -----de 2009

Banca Examinadora

Nome:
Titulação:
Assinatura:
Instituição:

Nome:
Titulação:
Assinatura:
Instituição:

Nome:
Titulação:
Assinatura:
Instituição:

Nome:
Titulação:
Assinatura:
Instituição:

Nome:
Titulação:
Assinatura:
Instituição:

Dedico,

*A Deus, pela vida tão preciosa que nos é dada e
que muitas vezes nós não lhe damos o
devido valor.*

*Aos meus pais,
Hélio e Odete, pelo amor, carinho e
dedicação aos filhos e à família.*

*Aos meus filhos,
Cássio e Lucas,
Por serem o que são.*

*Ao meu marido,
Walmir,
Pela compreensão.*

*Aos meus seis irmãos,
por vivenciarmos o significado da palavra família*

*À minha irmã Dudu (Dulcinèia)
pela mulher de garra que amava tanto a
vida, mas que infelizmente não está mais
entre nós. Que Deus a proteja assim como
a sua filhinha Sara.*

Agradeço,

Ao Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva, meu orientador, por ser um pesquisador de ponta, uma mente brilhante, inquieta e insatisfeita, cuja alma é alimentada pelo conhecimento e o sendo desta forma aceitou me orientar. Agradeço profundamente pelos desafios que conseguimos transpor e pela conclusão deste trabalho.

“É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar; é melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver ...” (Martin Luther King).

Valdo é assim que o vejo, um grande homem!!

Aos professores da Disciplina de Fisiologia, Edson, Luiz Carlos, Aldo e Simone.

À Prof^a. Virgínia Crema e Ana Carolina Faleiros, pela ajuda e contribuição na parte de histologia e morfometria.

Aos colegas de Laboratório de Fisiologia Ricardo, Alethéia, Lucas, Sharon, Samantha, Angélica, Igor Gerusa, Glauco, Talles, pelo companheirismo e amizade .

Aos amigos e colaboradores do laboratório de fisiologia que de uma forma ou de outra contribuíram para a conclusão deste trabalho Octávio, Vanessa Capuano, Marcus Paulo e Lourdes, companheiros de jornada no laboratório.

Aos técnicos e funcionários das Disciplinas de Fisiologia e Histologia, Ana Maria, Margareth, Elisabete, Donizete, Glauco, Fausto, Marco Aurélio e Maria Aparecida, pela amizade, cuidado com os animais no biotério e preparação das lâminas.

As minhas alunas do curso de TSB, pelo incentivo nos momentos difíceis.

Aos animais do Biotério que deram suas vidas para a execução deste trabalho de pesquisa.

Ao meu Irmão Helio Nogueira pela formatação da tese.

Aos queridos funcionários do laboratório de Fisiologia Ana Maria, Donizete, Margareth, Glauco, Marquinho e Elisabete.

**“SE DEUS É POR NÓS,
QUEM SERÁ CONTRA NÓS?**

(Rom.8,31)

RESUMO

A insuficiência cardíaca congestiva decorrente do infarto do miocárdio constitui-se atualmente em um enorme problema de saúde pública em todo o mundo moderno. Novas estratégias terapêuticas para o tratamento da disfunção ventricular têm sido amplamente investigadas. O objetivo principal do presente estudo foi avaliar os eventuais efeitos da estimulação colinérgica prolongada com o brometo de piridostigmina, uma droga inibidora da acetilcolinesterase, sobre a função autonômica cardiovascular em ratos com insuficiência cardíaca congestiva decorrente do infarto do miocárdio. Para tal, o presente estudo utilizou diferentes ferramentas metodológicas de avaliação do sistema nervoso autônomo cardiovascular, como 1) a análise de variabilidade da frequência cardíaca (intervalo RR) e da pressão arterial (por meio da análise espectral), para se estudar a modulação autonômica cardiovascular; 2) o teste do reflexo barorreceptor cardíaco, para se investigar as respostas autonômicas cardiovasculares reflexas e 3) o bloqueio farmacológico com atropina e propranolol, para se estudar o comportamento tônico do sistema nervoso autônomo cardíaco. Usando quatro grupos experimentais: grupo controle não tratado (CON-VE, n=11) e tratado com o brometo de piridostigmina (CON-PIR, n=13), grupo infartado não tratado (INF-VE, n=10) e tratado com o brometo de piridostigmina (INF-PIR, n=12), o estudo também avaliou incidência de arritmias cardíacas, hemodinâmica e histologia ventricular esquerda. O presente estudo evidenciou que o tratamento prolongado (06 semanas) com o brometo de piridostigmina nos animais infartados foi capaz de restabelecer a modulação LF reduzida da variabilidade da FC e potenciar a sensibilidade barorreflexa cardíaca (via aumento das respostas de bradicardia reflexa à fenilefrina), sem, entretanto, modificar o comportamento tônico autonômico para o coração. Tais modificações foram associadas uma significativa redução de incidência de arritmias

cardíacas ventriculares (extrassístoles ventriculares) nos animais infartados tratados com o brometo de piridostigmina. Em adição, o tratamento prolongado com o brometo de piridostigmina não foi capaz de modificar a disfunção hemodinâmica ventricular esquerda, bem como as alterações morfológicas observadas nos ratos infartados. Tais efeitos do brometo de piridostigmina poderiam ser benéficos se aplicados dentro de um contexto clínico em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva pós-infarto do miocárdio.

ABSTRACT

Congestive heart failure due to myocardial infarction is a huge public health problem in modern world. New therapeutic modalities to treat ventricular dysfunction have been widely investigated. The central aim of the present study was to evaluate the potential effects of pyridostigmine bromide, an anti-cholinesterasic agent, on cardiovascular autonomic function in a rat model of congestive heart failure due to myocardial infarction caused by anterior descending coronary artery ligation. Briefly, the present study utilized different methodological approaches to explore cardiovascular autonomic nervous system, such as: 1) heart rate (RR interval) and arterial blood pressure variability analysis by means of autoregressive spectral analysis, to evaluate cardiovascular autonomic modulation; 2) baroreceptor reflex control of heart rate, using phenylephrine and sodium nitroprusside, to investigate cardiovascular reflex autonomic responses; and 3) pharmacological blockade of cardiac autonomic nervous system with atropine and propranolol, in order to study the tonic behavior of cardiac autonomic innervation. The animals were divided in four experimental groups: non-treated control group (n=11), control group treated with pyridostigmine bromide (n=13), non-treated infarcted group (n=10), and infarcted group treated with pyridostigmine bromide (n=12). Cardiac arrhythmias incidence and ventricular hemodynamics and histology were also evaluated. The present study showed that long term (06 weeks) treatment with pyridostigmine bromide in infarcted rats was able to normalize the reduced LF oscillations of heart rate variability and to potentiate cardiac baroreflex sensitivity to bradycardic responses, without any changes in sympathetic or vagal tones directed to the heart. Such changes were associated to significant reduction in cardiac arrhythmias (ventricular extrasystoles) incidence in infarcted rats treated with pyridostigmine bromide. In addition, long term treatment with pyridostigmine bromide in infarcted rats

was not able to modify left ventricular hemodynamics dysfunction, as well as histological alterations observed in infarcted rats. Such effects of pyridostigmine bromide could be beneficial if applied in a clinical context on patients with congestive heart failure due to myocardial infarction.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	35
2.1 Objetivo geral	35
2.2 Objetivos específicos:	35
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 Animais experimentais.....	36
3.2 Indução do infarto do miocárdio	36
3.3 Tratamento com Brometo de Piridostigmina.....	38
3.4 Grupos experimentais	39
3.5 Procedimento cirúrgico para implante de eletrodos.....	39
3.6 Canulação dos vasos femorais.....	40
3.7. Protocolo experimental.....	40
3.8 Estudo hemodinâmico.....	42
3.9 Análise dos dados	42
3.10 Estudo anátomo–patológico	46
3.11 Processamento histológico.....	46
3.12 Avaliação do tamanho do infarto	47
3.13 Análise estatística	49
4 RESULTADOS.....	50
5 DISCUSSÃO	75
6 CONCLUSÃO	101
7 REFERÊNCIAS	102

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS

bpm	batimentos por minuto
Con	Controle
dP/dt Máxima	Velocidade máxima de contração
dP/dt Mínima	Velocidade máxima de relaxamento
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECG	Eletrocardiograma
EF-SIMPÁTICO	Efeito simpático
EF-VAGAL	Efeito vagal
epm	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
Fe	Fibrose externa
FFT	Transformação rápida de Fourier
Fi	Fibrose interna
FIMC	Frequência intrínseca de marcapasso cardíaco
Fv	Fibrilação ventricular
g	Gramas
HE	Hematoxilina - eosina
HF	Componente de alta frequência
HF(nu)	Componente de alta frequência normalizado
Hz	Hertz
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
Inf	Infarto
IRR	Intervalo entre as ondas R do eletrocardiograma
LF	Componente de baixa frequência
LF(nu)	Componente de baixa frequência normalizado
LF/HF	Relação LF/HF
mmHg	Milímetros de mercúrio
Nps	Nitoprusiato de sódio
ISV	Índice simpático vagal
ms	Milisegundos
PA	Pressão arterial
PAS	Pressão arterial sistólica
PDFVE	Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo
Pe	Perímetro externo
Phe	Fenilefrina
Pi	Perímetro interno
SRAA	Sistema renina - angiotensina - aldosterona
Rc	Rato controle
Ri	Rato infartado
SDNN	Desvio padrão de todos os ciclos PP
SNA	Sistema nervoso autônomo
Tv	Taquicardia ventricular
VE	Ventrículo esquerdo
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VLF	Componente de muito baixa frequência
VPA	Variabilidade da pressão arterial

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Alterações da variabilidade da frequência cardíaca em algumas doenças cardíacas. Extraído de Task Force, Circulation, 1996. 25
- Tabela 2: Valores médios (\pm e.p.m.) dos parâmetros hemodinâmicos basais: pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) e frequência cardíaca coletados em ratos acordados controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). 52
- Tabela 3: Valores médios (\pm e.p.m.) do intervalo RR, da variância e dos componentes espectrais VLF, LF e HF da variabilidade do intervalo RR (iRR) coletados em ratos acordados controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). 53
- Tabela 4: Valores médios (\pm e.p.m.) da pressão arterial sistólica (PAS), da variância e dos componentes espectrais VLF, LF e HF da variabilidade da PAS coletados em ratos acordados controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). 56
- Tabela 5: Valores médios (\pm e.p.m.) da sensibilidade barorreflexa calculada para as respostas de bradicardia e taquicardia reflexas nos grupos controle (CON) e infartado (INF), tratados ou não (VE) com o brometo de piridostigmina (PIR). 60
- Tabela 6: Valores médios (\pm e.p.m.) da frequência cardíaca basal, após atropina e após propranolol administrados em duas seqüências alternadas nos animais controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). Este procedimento permite o cálculo dos efeitos vagal e simpático, bem como da frequência intrínseca de marcapasso cardíaco (FIMC) e do índice simpato-vagal cardíaco tônico (ISV). 63
- Tabela 7: Valores médios (\pm epm) da PDFVE, dP/dt Max e dP/dt min nos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). 64
- Tabela 8: Valores médios (\pm EPM) do peso corporal final e dos pesos absoluto e relativo do coração nos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). 66

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Perfil espectral (à esquerda) de uma série temporal de intervalos RR (à direita) de um ser humano saudável. Note os componentes espectrais VLF (“very low frequency”), LF (“low frequency”) e HF (“high frequency”) da variabilidade do intervalo RR. (DE = densidade espectral, LF/HF = razão entre LF e HF, o qual expressa o balanço simpato-vagal cardíaco). 24
- Figura 2: Animal intubado e preparado para indução do IAM ou cirurgia fictícia..... 37
- Figura 3: Esquema do protocolo experimental realizado. 41
- Figura 4: Traçado simultâneo de pressão arterial pulsátil (traçado superior) e eletrocardiograma (traçado inferior), evidenciando o surgimento de extrasístoles ventriculares (setas) no ECG..... 43
- Figura 5: Calibração do sistema de análise de imagem..... 48
- Figura 6: Representação esquemática de como foram feitas as medidas do tamanho do infarto epicárdico e endocárdico. 49
- Figura 7: Espectros individuais da variabilidade do intervalo RR de animais representativos dos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). Note o aumento global da variabilidade do iRR no animal representativo do grupo CON-PIR e a redução do componente LF da variabilidade do intervalo RR no grupo INF-VE, bem como a normalização deste parâmetro no animal do grupo INF-PIR. 55
- Figura 8: Espectros individuais da variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) de animais representativos dos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). Note a queda da variância e do componente LF no animal infartado veículo (INF-VE) e a normalização destes parâmetros no animal infartado tratado com brometo de peiridostigmina..... 57
- Figura 9: Traçados eletrocardiográficos de dois animais representativos dos grupos infartados tratados ou não com brometo de piridostigmina. Note a extrasístole ventricular isolada no animal infartado não tratado. 59
- Figura 10: Gráficos de barra representando a sensibilidade barorreflexa cardíaca para as respsotas de bradicardia reflexa (A) e taquicardia reflexa (B) nos vários grupos identificados na figura. * P< 0,05 versus CON-VE; # p<0,05 versus INF-VE; & p<0,05 versus CON-PIR. 61

- Figura 11: Valores médios (\pm e.p.m.) da PDFVE, dP/dt Max e dP/dt min nos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). (PDFVE = Pressão Diastólica Final do Ventrículo Esquerdo; DP/dt máxima = Velocidade Máxima de Contração; DP/dt mínima = Velocidade Máxima de Relaxamento; * $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-VE; & $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-PIR). 65
- Figura 12: Valores médios (\pm e.p.m.) do peso cardíaco relativo (em mg/g) nos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). (* $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-VE; # $P < 0,05$ em relação ao grupo INF-VE; & $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-PIR). 67
- Figura 13: Secção miocárdica ventricular média transversal de um animal controle não tratado (CON-VE), um controle tratado com brometo de piridostigmina (CON-PIR), de um infartado não tratado (INF-VE) e outro infartado tratado (INF-PIR). A grande área vermelha entre as setas indicam a marcação de fibrose pelo picrossirius red, indicando o tecido cicatricial pós-infarto (aumento: x 10). 69
- Figura 14: Corte histológico corado por picrossirius red da região do septo interventricular entre os ventrículo esquerdo (VE) e direito (VD), mostrando o pericárdio visceral (P), o miocárdio (M) e os músculos papilares (MP). Aumento de 20X 71
- Figura 15: Aspecto morfológico do coração corado por hematoxilina e eosina na região do septo interventricular dos quatro grupos estudados em dois diferentes aumentos. Aumento de 32x: (A): grupo controle veiculo, (D): controle tratado, (G): infartado veículo e (J): infartado tratado. Aumento de 40x na região central do septo em cortes longitudinais e transversais, respectivamente: (B,C): grupo controle veiculo, (E,F): controle tratado, (H,I): infartado veículo e (K,L): infartado tratado. (A, D, G, J) Barra = 400 μ m; (B, C, E, F, H, I, K, L) Barra = 25 μ m. Seta indica um cardiomiócito ventricular isoado em corte transversal. 73

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são um dos maiores problemas de saúde pública no mundo ocidental (LEVY et.al.,2002). Nos Estados Unidos, 1,5 milhões de pessoas sofrem anualmente infarto agudo do miocárdio (IAM), assim como ocorre alta incidência desta cardiopatia em vários outros continentes, com alto índice de mortalidade (KIRCHHOFF M. *et al*, 1999; ROSAMOND WD *et al*, 1998; LOTUFO P.A.,1998)

A identificação e o controle, não só dos fatores de risco para o desenvolvimento do processo arterosclerótico subjacente, mas também das condições que aumentam a mortalidade dos pacientes portadores desta cardiopatia, são metas importantes a serem alcançadas (LEVY et.al.,2002).

O infarto do miocárdio, que faz parte de um grupo de doenças chamado doenças isquêmicas do coração, é a necrose da musculatura miocárdica, devido à deficiência de fluxo sanguíneo e à conseqüente falta de aporte nutritivo e de oxigênio. A interrupção do fluxo coronário, quase sempre, é devido ao estreitamento repentino de uma artéria coronária pelo ateroma (arterosclerose), ou pela obstrução total de uma coronária por êmbolo ou trombo (coágulo sanguíneo) (CARVALHO, 2001).

A extensão da necrose depende de vários fatores, tais como o calibre da artéria lesada, tempo de evolução da obstrução e desenvolvimento da circulação colateral. Esta, quando bastante extensa, é capaz de impedir a instalação de infarto, mesmo em casos de obstrução total da coronária. Esta circulação colateral varia muito conforme a espécie. Nos gatos e cachorros, por exemplo, existe significativo fluxo colateral durante a isquemia aguda (MAXWELL *et al.*, 1987).

Os pacientes que sofrem infarto são geralmente do sexo masculino. Acredita-se que as mulheres sofram um efeito “protetor” devido à produção de hormônios estrogênicos, sendo que, após a menopausa, devido à falta de produção desses hormônios, a incidência

de infarto na mulher aumenta consideravelmente (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1996).

Existem vários fatores de riscos responsáveis pelo infarto do miocárdio: a idade, os níveis plasmáticos elevados de colesterol, principalmente o colesterol de baixa densidade (LDL), o diabetes, levando ao desenvolvimento da neuropatia diabética e da microangiopatia, a hipertensão arterial sistêmica, que, assim como a obesidade, sobrecarregam o coração. O fumo está intimamente relacionado com o infarto do miocárdio, sendo que os fumantes são 60% mais susceptíveis de sofrer infarto do miocárdio que os não-fumantes (MANSUR *et al.*, 2003).

O infarto do miocárdio, apesar de ser uma causa de morte bem freqüente, tem apresentado índices de mortalidade menores nos últimos anos. Isto tem sido possível graças a inúmeras medidas preventivas e de esclarecimento sobre os efeitos deletérios dos fatores de risco (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1996).

A despeito de uma melhora contínua no tratamento do IAM, um número considerável de pacientes desenvolve modificações crônicas no miocárdio, com a deterioração funcional do ventrículo esquerdo, que está diretamente relacionadas à perda miocárdica, mesmo após a cicatrização da zona infartada. (LÖWEL *et al.*, 1993) Esta redução funcional do miocárdio ventricular acarreta uma sobrecarga de trabalho ao miocárdio normal remanescente, levando a aumentos na tensão transmural sistólica e particularmente na diastólica, com conseqüente estímulo para a hipertrofia do miocárdio remanescente, caracterizando o remodelamento ventricular (MADDY, 1996).

Os termos remodelagem ou remodelação ou remodelamento, têm sido muito citados como sendo as conseqüências anatômicas de agressões miocárdicas. A compreensão do remodelamento confunde-se com a etiopatogenia das miocardiopatias, ou de qualquer tipo de agressão miocárdica. Biologicamente, o remodelamento pode ser entendido como a

alteração estrutural ou bioquímica dos compartimentos muscular, vascular e/ou intersticial do miocárdio (MADDY, 1996).

Estes três compartimentos coexistem em equilíbrio, ou seja, a qualidade e quantidade de cada um deles são equilibradas ou adequadas. Se um compartimento alterar para mais ou para menos em relação aos outros, o miocárdio será remodelado. Há possibilidade de os três compartimentos se alterarem para mais concomitantemente, com a inter-relação entre eles, permanecendo constante, como acontece em corações de atletas. Nesta situação, o equilíbrio entre os compartimentos se mantém, apesar do aumento de massa miocárdica. Se admitirmos que o remodelamento ocorre apenas quando há desequilíbrio entre os compartimentos, devemos aceitar que, nos atletas, os ventrículos não estão remodelados. As fibras miocárdicas aumentam seu volume paralelamente à quantidade de interstício e vasos sanguíneos, os quais apresentam uma capacidade maior de vasodilatação e crescimento. Este processo de hipertrofia cardíaca “fisiológica” parece ter um limite máximo fisiológico de aumento da massa miocárdica de aproximadamente 200g de miocárdio no ventrículo esquerdo nos corações humanos. Até este ponto, as conexões de colágeno entre os miocardiócitos se comportariam de forma normal, fisiológica (MADDY, 1996).

Se houver estímulo para hipertrofia adicional, os vasos não terão capacidade de aumentar a oferta de oxigênio e nutrientes aos miocardiócitos, e estes poderão entrar em isquemia e processo de degeneração, com a conseqüente deposição de colágeno cicatricial. A quantidade de fibras miocárdicas diminui, e o interstício aumenta, ocorrendo desequilíbrio entre os três compartimentos e o conseqüente remodelamento. Esta é a diferença entre a hipertrofia fisiológica e a patológica. Além desse limite, a hipertrofia só seria considerada fisiológica se houvesse hiperplasia de fibras miocárdicas com

manutenção fisiológica das conexões de colágeno e nutrição vascular adequada. (MADY,1996).

Diferentemente das fibras miocárdicas e dos capilares, os fibroblastos proliferam, não havendo limite definido para seu crescimento. O interstício é um compartimento dinâmico. O colágeno é reabsorvido e produzido de forma contínua, mantendo assim o seu arcabouço sobre o qual o músculo trabalha em um formato adequado. É este formato adequado, gerado por produção e reabsorção equilibradas de colágeno, que permite ao músculo um trabalho sem sobrecarga, em nível fisiológico. Este formato pode se modificar de forma reversível ou não (MADDY, 1996).

Os estímulos para o remodelamento ventricular progressivo pós-IAM incluem estímulo mecânico primário, aumentos na tensão transmural diastólica e em menor grau na sistólica, aumentos progressivos na atividade do sistema renina-angiotensina circulante e/ou tecidual (PFEFFER *et al.*, 1985), aumento na atividade simpática que pode incrementar ainda mais a tensão transmural, causando efeitos adversos sobre o coração, acelerando o remodelamento e o aparecimento de insuficiência cardíaca (MANSUY *et al.*, 2000).

O remodelamento miocárdico pós-IAM, portanto, se caracteriza por um estado de hipertrofia cardíaca, associada a um aumento do conteúdo de material colágeno e a uma hiperatividade dos sistemas renina-angiotensina e simpático.

Dependendo da extensão e da duração da sobrecarga de trabalho, o remodelamento ventricular progressivo pode se desenvolver, levando a aumentos na pressão e volume diastólico final do ventrículo esquerdo, diminuição da fração de ejeção e débito cardíaco, culminando com insuficiência cardíaca congestiva (SCHRIER, ABRAHAM, 1999; LEVY *at al.*, 2002; JESSUP, BROZENA, 2003).

A insuficiência cardíaca, pela sua incidência e pelo seu impacto na economia e na qualidade de vida dos cidadãos, constitui atualmente um problema de saúde pública que desperta o interesse crescente, tanto das autoridades sanitárias, quanto da área médica em particular (LEVY *et al.*, 2002).

O envelhecimento ou longevidade das populações, que se deve em grande parte aos progressos tecnológicos e científicos alcançados nas últimas décadas, particularmente no campo da Medicina, tem sido considerado um dos fatores mais importantes a determinar o aumento crescente da incidência da ICC (LEVY *et al.*, 2002).

A hiper-atividade simpática em pacientes com ICC pós-infarto do miocárdio é um fenômeno já bem conhecido (FERGUSON *et al.*, 1984; 1992), assim como a disfunção parassimpática vagal e a hiper ativação do sistema renina-angiotensina e a vasopressina (PORTER *et al.*, 1990; CASADEI *et al.*, 1996; SCHRIER & ABRAHAM, 1999).

Dadas as implicações fisiopatológicas e prognósticas das alterações do SNA (simpático e parassimpático) em pacientes com ICC, a avaliação do estado funcional do SNA em pacientes com ICC passa a ser de grande valia, não só na predição de risco dos pacientes com ICC, bem como na orientação da abordagem terapêutica mais adequada

Várias são as técnicas disponíveis para a avaliação da função autonômica cardiovascular, dentre as quais podemos citar a medida de catecolaminas circulantes, respostas a estímulos estressantes, teste da função barorreflexa, registro eletromiográficos de fibras simpáticas vasomotoras, etc. A maioria destas técnicas, embora úteis na avaliação do estado autonômico do paciente com ICC, é, em sua grande maioria, invasivas e de difícil execução no contexto clínico ambulatorial (CASTRO; NÓBREGA; ARAÚJO, 1992b, JESUS, 1996).

Mais recentemente, para a análise do SNA cardiovascular, programas de computador específicos têm sido desenvolvidos, os quais determinam as variações contínuas que

ocorrem nos valores dos ciclos cardíacos normais, detectadas por exemplo, através de registro contínuo computadorizado do eletrocardiograma, ou através de registros Holter de longa duração. Reflexos eferentes simpáticos e parassimpáticos atuando sobre o nó sinusal, produzem modificações dos ciclos P-P do eletrocardiograma, expressão dos efeitos modulatórios autonômicos sobre o marcapasso sinusal do coração. Aceita-se que o sistema parassimpático, através de seus efeitos colinérgicos, seja o maior responsável pela variabilidade dos ciclos P-P normais. Corroborando esta afirmativa, está a observação de que as drogas que produzem redução dos efeitos vagais, como por exemplo, drogas anti-muscarínicas, como a atropina, reduzem de forma evidente e significativa as flutuações dos ciclos cardíacos; e as que aumentam os reflexos vagais, como os beta bloqueadores, produzem imediato efeito inverso (aumento da VFC). Assim, a quantificação das flutuações dos ciclos P-P normais permite, de forma indireta, uma avaliação do perfil autonômico cardíaco. Quanto maiores os efeitos parassimpáticos, maiores serão as flutuações. Uma baixa variabilidade indica a existência de depressão da atividade vagal e/ou exacerbação da atividade simpática cardíaca (KLEIGER *et al.*, 1987; PORTER *et al.*, 1990).

Os reflexos autonômicos exercem um papel fundamental sobre todos os mecanismos regulatórios cardíacos. As propriedades eletrofisiológicas, a dinâmica cardíaca e a função contrátil são profundamente influenciadas por eles. Em adição, os reflexos autonômicos podem alterar de forma importante os mecanismos de doença, facilitando o aparecimento de eventos arrítmicos graves e, muitas vezes, fatais, como a morte súbita (KLEIGER *et al.*, 1987, PORTER *et al.*, 1990).

O sistema simpático exerce um nítido efeito arritmogênico, cabendo ao parassimpático uma ação inversa, protetora. A maioria dos eventos cardíacos maiores acompanha-se momentaneamente de um aumento da atividade simpática cardíaca. Assim,

é possível que a análise do perfil autonômico cardíaco por meio da análise de variabilidade da FC represente um elemento importante para a estratificação de risco em algumas doenças cardíacas (LOMBARDI *et al.*, 1987; FARREL *et al.*, 1992; La ROVERE *et al.*, 2003).

Dois métodos são normalmente utilizados para a avaliação da VFC. Um explora o domínio de tempo, usando índices estatísticos extraídos das variações temporais dos ciclos (expressos normalmente em ms) ou dos percentuais de flutuação observados em ciclos adjacentes (%). O outro, no domínio da frequência, define e separa, por meio da análise espectral, as diversas respostas de frequência (Hz) observadas nas variações das séries temporais de intervalo RR (TASK FORCE, 1996).

A análise VFC no domínio de tempo é feita a partir das variações dos ciclos cardíacos considerados normais. São extraídos índices para quantificação da VFC, usando o tempo como variável. Representam, em sua maioria, valores estatísticos que englobam todo o período de gravação ou parte do mesmo (registros horários, por exemplo). Na maioria dos programas, esses índices somente são avaliados a partir de um mínimo de cem ciclos sucessivos, mensurados por períodos de cinco minutos, desprezando-se automaticamente variações bruscas dos mesmos com valores superiores a 25% do precedente. Assim, hipoteticamente, são abolidas as alterações conseqüentes às ectopias supraventriculares e ventriculares ou a artefatos de registro.

Os índices temporais mais comumente utilizados são:

- **SDNN:** desvio-padrão de todos os ciclos P-P mensurados durante o registro (ms).
- **VARIÂNCIA:** soma dos quadrados das diferenças de cada intervalo P-P do intervalo P-P médio dividido pelo número de intervalos P-P.

- **SDANN:** desvio-padrão da média de todos os segmentos de cinco minutos avaliados durante o registro (ms).
- **SDNN *índ*:** média do desvio-padrão de todos os segmentos de cinco minutos determinados no registro (ms).

Os índices temporais baseados em comparações de comprimento de ciclos adjacentes são o seguinte:

- **rMSSD:** raiz quadrada da média das diferenças sucessivas entre os intervalos RR durante o registro (ms).
- **pNN50:** percentual de variação maiores que 50ms entre os ciclos normais sucessivos durante o registro (%).

Alguns índices de VFC no domínio do tempo têm sido amplamente utilizados para estratificação de risco no pós-infarto do miocárdio. Na maioria dos pacientes, observa-se, nas primeiras 48 horas de evolução do processo agudo, uma progressiva redução da VFC por depressão da atividade vagal (KLEIGER *et al.*, 1987).

A análise da VFC no domínio da frequência para avaliação da função autonômica cardíaca, ganhou nas últimas duas décadas, um marcante impulso como um novo e promissor recurso metodológico, não invasivo, de grande simplicidade e de fácil aplicação em nível ambulatorial ou hospitalar. Este método permite caracterizar em valores absolutos e relativos os componentes modulatórios simpático e parassimpático cardíaco e, assim, o balanço funcional entre ambos. Ele consiste na análise computadorizada da variabilidade espontânea de uma série de intervalos RR do eletrocardiograma no domínio da frequência por meio da análise espectral. A análise da variabilidade da frequência cardíaca baseada nesse método vem sendo amplamente aplicada (TASK FORCE, 1996).

A análise espectral foi descrita pela primeira vez em 1720, pelo Barão francês Jean Baptiste J. Fourier. Ele demonstrou que os sinais oscilatórios compostos podem ser decompostos em ondas sinusoidais com diferentes amplitudes, fases e frequências (Hertz), a partir de uma função matemática por ele descrita, denominada de Função de Fourier.

Com a criação do algoritmo de computador para a realização da análise de Fourier em sinais digitais, a chamada transformação rápida de Fourier (“Fast Fourier Transform”- FFT), tornou-se possível a aplicação da análise espectral em vários sinais digitais computadorizados, incluindo o eletrocardiograma. A FFT, quando aplicada às flutuações do intervalo RR derivado do sinal eletrocardiográfico, o desdobrará em seus diversos componentes oscilatórios individuais com características, amplitude e frequências definidas. Captando-se os sinais e transformando-os, obtém-se curvas espectrais que diferenciam as bandas de resposta de frequência (TASK FORCE, 1996). Mais recentemente, um outro método de análise espectral baseado no modelamento autoregressivo do sinal de intervalo RR passou também a ser empregado (PAGANI *et al.*, 1986; MALLIANI *et al.*, 1991). Este método tem a vantagem de remover o ruído do sinal e identificar com maior precisão as frequências centrais das oscilações (PAGANI *et al.*, 1986; MALLIANI *et al.*, 1991).

Três principais componentes espectrais expressos em termos de áreas que integram determinadas faixas de frequências espectrais, foram descobertos em seres humanos (figura 1). Um componente inclui as frequências espectrais muito baixas (“very low frequency” - VLF ou MBF- 0,01- 0,04 Hz), provavelmente relacionado à termo-regulação, ao sistema renina-angiotensina, etc. Um segundo componente reúne as baixas frequências espectrais (“low frequency” - LF ou BF- 0,04 – 0,15 Hz), relacionado com a modulação autonômica barorreflexa, refletindo predominantemente modulação simpática e em menor grau a modulação parassimpática.

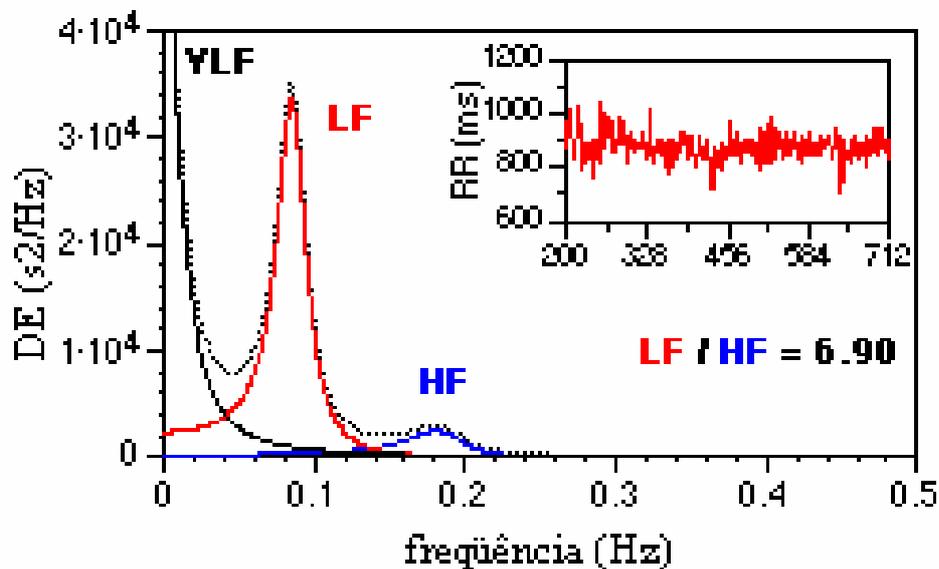


Figura 1: Perfil espectral (à esquerda) de uma série temporal de intervalos RR (à direita) de um ser humano saudável. Note os componentes espectrais VLF (“very low frequency”), LF (“low frequency”) e HF (“high frequency”) da variabilidade do intervalo RR. (DE = densidade espectral, LF/HF = razão entre LF e HF, o qual expressa o balanço simpato-vagal cardíaco). Fonte: Extraído de Malliani *et al.*, *Circulation*, 1991.

Um terceiro componente, que integra as altas frequências espectrais (“high frequency” - HF ou AF-0,15 – 0,50 Hz), coincide com o ritmo respiratório, o qual expressa exclusivamente a influência parassimpática sobre o nodo sinusal, manifestada pela arritmia sinusal respiratória (AKSELROD *et al.*, 1981; PAGANI *et al.*, 1986; MALLIANI *et al.*, 1991; TASK FORCE, 1996). Esta metodologia foi também aplicada a inúmeras outras espécies como o cão, gato, coelho, porco, cavalo, rato, camundongo etc. De uma maneira geral, em todos estas espécies estudadas os componentes espectrais encontrados na VFC, foram similares àqueles observados em seres humanos, diferindo apenas quanto às frequências centrais de oscilações dos componentes.

Dada as diferentes frequências cardíacas basais observadas entre ratos e seres humanos, os mesmos componentes espectrais descritos acima também são observados no rato normal, porém, em faixas de frequência diferentes: VLF (0,01-0,20 Hz), LF (0,20-0,80 Hz) e HF (0,80 a 2,50 Hz), os quais parecem possuir significados fisiológicos similares aos verificados em seres humanos (AKSELROD *et al.*, 1987; ALPER, JACOB, BRODY, 1987; FERRARI *et al.*, 1987; 1996; CERUTTI *et al.*, 1991; RUBINI *et al.*, 1993; BROWN *et al.*, 1994; CERUTTI, BARRES, PAULTRE, 1994; KUWAHARA *et al.*, 1994).

A avaliação da VFC, que tem sido realizada em várias doenças cardíacas (tabela1), parece ser um método apropriado para a estratificação de risco (TASK FORCE, 1996; LA ROVERE *et al.*, 2003), bem como para definir padrões prognósticos naquelas doenças que evoluem com progressiva depressão do sistema nervoso autônomo, como no caso do diabetes melito (MIGLIARO, CONTRERAS, 2003) e a doença de Chagas (CORREIA FILHO, 2000; JUNQUEIRA JR, SOARES, 2002)

Tabela 1: Alterações da variabilidade da frequência cardíaca em algumas doenças cardíacas. Extraído de Task Force, Circulation, 1996.

Doença	Índice espectral
Hipertensão arterial sistêmica	Depressão na ritmicidade do ↓ LF ↓ HF com modulação normal.
Infarto agudo do miocárdio	↓ dos índices de atividade vagal e do HF
Insuficiência cardíaca	Redução da atividade vagal. Inibidores da ECA podem modificar esse estado.
Prolapso da válvula mitral	Redução do HF e dos índices de atividade vagal.
Miocardiopatias	↓ VFC e dos índices vagais em pts sintomáticos.
Morte súbita cardíaca	↓ SDNN ↓ HF em sobreviventes
Arritmias ventriculares	Existe uma relação entre ↓ HF e início de TV
Arritmias supraventriculares	Aumento da atividade simpática após ablação por radiofrequência
Transplante cardíaco	Redução da VFC do coração doador.

As aplicações clínicas da análise da VFC são abaixo enumeradas:

1. Estratificação de risco no paciente pós-infarto do miocárdio. Esta representa no momento a maior aplicação do método, inclusive sendo utilizada para avaliação de pacientes propensos a desenvolver morte súbita cardíaca arritmogênica.
2. Avaliação da neuropatia diabética.
3. Análise do perfil de fármacos em relação as suas ações sobre o SNA cardíaco. Teoricamente, drogas que aumentam a atividade vagal, como os beta-bloqueadores, os inibidores da ECA exerceriam um maior efeito protetor em termos de arritmogênese ventricular.
4. Como auxiliar no esclarecimento dos mecanismos indutores de síncope, em especial, na forma do tipo neurogênica.
5. Como importante instrumento de pesquisa clínica.

Apesar destes parâmetros espectrais, notadamente os componentes LF e HF, na grande maioria dos casos, se comportarem de forma esperada quanto à capacidade dos mesmos de estimarem o balanço simpato-vagal cardíaco, discrepâncias e incoerências têm sido descritas na literatura, principalmente associados a alguns estados fisiopatológicos, como a insuficiência cardíaca congestiva (SAUL *et al.*, 1988; ADAMAPOULOS *et al.*, 1992; GUZZETTI *et al.*, 1995; 2001; 2002; VAN DE BORNE *et al.*, 1997; NOTARIUS *et al.*, 1999; GALINER *et al.*, 2000). Alguns autores têm descrito uma elevação significativa do componente LF da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes portadores de graus leves a moderados de insuficiência cardíaca congestiva, compatível com o comprovado aumento na atividade e/ou tônus simpático cardíaco (GUZZETTI *et al.*, 1995; 2001; 2002).

Entretanto, nas formas mais avançadas e mais graves de insuficiência cardíaca congestiva, onde a atividade e/ou tônus simpático, estimados por dosagens de catecolaminas plasmáticas, “spillover” de catecolaminas ou por medida direta da atividade nervosa simpática muscular, encontram-se excessivamente elevados, o esperado aumento no componente LF, expresso tanto em valores absolutos quanto em valores normalizados, não tem sido observado. Ao contrário, uma sensível redução deste componente tem sido descrita nas formas mais avançadas de insuficiência cardíaca congestiva (SAUL *et al.*, 1988; ADAMAPOULOS *et al.*, 1992; GUZZETTI *et al.*, 1995; 2001; 2002; SZABO *et al.*, 1995; VAN DE BORNE *et al.*, 1997; NOTARIUS *et al.*, 1999; GALINER *et al.*, 2000; LA ROVERE *et al.*, 2003). Trabalhos recentes encontraram uma marcada associação entre baixos valores de LF e risco cardiovascular aumentado de eventos arrítmicos e de morte súbita em pacientes portadores de insuficiência cardíaca congestiva (SZABO *et al.*, 1997; LA ROVERE *et al.*, 2003). Tais resultados implicaram os baixos valores do componente LF da variabilidade da FC como um preditor de risco cardiovascular independente. O uso deste preditor independente na identificação de pacientes com risco cardiovascular aumentado poderia ser benéfico na medida em que poderia orientar o clínico a tomar medidas preventivas, entre as quais, o uso de anti-arrítmicos, como a amiodarona ou beta-bloqueadores, ou mesmo a implantação de desfibriladores-cardioversores implantáveis (LA ROVERE, 2003).

Assim sendo, na insuficiência cardíaca congestiva severa, a despeito da evidência clara de uma elevada atividade simpática de repouso, atestada pelos elevados níveis plasmáticos de catecolaminas, a variabilidade da FC está reduzida e o componente LF encontra-se paradoxalmente reduzido ou abolido, fato que contradiz a idéia da razão LF/HF como um índice do balanço simpato-vagal cardíaco. Os mecanismos definitivamente implicados como causadores da reduzida potência da banda LF em

pacientes com insuficiência cardíaca severa não estão esclarecidos, o que aponta para uma grande necessidade de estudos adicionais para o real entendimento da gênese do componente LF da variabilidade da FC e de sua redução na insuficiência cardíaca congestiva severa (VANDE DE BORNE *et al.*, 1997)

Em ratos, o modelo de insuficiência cardíaca congestiva induzida por infarto do miocárdio pós-ligadura cirúrgica da artéria coronária descendente anterior tem sido bastante caracterizado na literatura quanto aos aspectos hemodinâmicos, neuro-humorais, histopatológicos, arritmogênicos, etc (PFEFFER *et al.*, 1979; 1985; FLETCHER *et al.*, 1981; JOHNSTON, MCLEOAD, WALKER, 1983; CURTIS, MCLEOAD, WALKER, 1987, DECK *et al.*, 1992; DI BONA, SWAIN, 1994; OPTIZ *et al.*, 1995). Entretanto, quanto ao estudo da variabilidade da FC neste modelo experimental, apenas alguns trabalhos têm sido descritos (TEERLINK, CLOZEL, 1993; KRUGER *et al.*, 1997; 2000; HENZE *et al.*, 2008; TOBALDINI *et al.*, 2009; MOSTARDA *et al.*, 2009). Em relação à análise espectral da variabilidade da FC, poucos trabalhos foram encontrados (KRÜGER *et al.*, 1997, 2000; HENZE *et al.*, 2008; TOBALDINI *et al.*, 2009; MOSTARDA *et al.*, 2009). Em alguns destes estudos (KRÜGER *et al.*, 1997, 2000), alterações na variabilidade da FC avaliada por análise espectral foram observadas apenas durante a fase aguda do infarto do miocárdio até o 3º dia, sendo que, após 4 ou 6 semanas, nenhuma alteração na variabilidade da FC foi encontrada, o que poderia estar indicando que o modelo de insuficiência cardíaca pós-infarto do miocárdio no rato não se comporta de forma semelhante ao encontrado em seres humanos, pelo menos em relação à variabilidade da FC (KRÜGER *et al.*, 1997, 2000). Entretanto, alguns pontos metodológicos devem ser considerados nestes estudos. Entre eles, talvez o mais importante se restringe ao modo de efetuação da análise espectral, em que segmentos de intervalos RR muito curtos (apenas 3 minutos) foram avaliados em cada animal infartado (KRÜGER *et al.*, 1997). Como o

comportamento dos animais varia bastante durante uma sessão de registro com os animais em estado consciente, registros mais longos de pelo menos 30 minutos talvez pudessem ser mais representativos do real estado de modulação autonômica dos animais infartados.

Além disso, os estudos de variabilidade cardiovascular realizados em modelos experimentais têm-se restringido à análise de variabilidade apenas da FC. Pouco se conhece sobre os efeitos da insuficiência cardíaca sobre a variabilidade da pressão arterial sistêmica (CARUANA *et al.*, 1988; BUTLER, ANDO, FLORAS, 1997; GILES *et al.*, 2001). Como os aferentes barorreceptores são fundamentais no controle da variabilidade da pressão arterial e a sensibilidade dos barorreceptores encontra-se prejudicada durante a insuficiência cardíaca congestiva (CHEN *et al.*, 1992; THAMES *et al.*, 1993), é possível que os componentes espectrais da pressão arterial encontrem-se também modificados no modelo experimental de insuficiência cardíaca pós-infarto do miocárdio no rato.

Ainda que controversias existam entre o valor diagnóstico e prognóstico da análise de variabilidade cardiovascular como marcador de modulação autonômica na ICC, é inegável que o desbalanço autonômico, isto é, a hiperatividade simpática e/ou a inibição vagal desempenhe um papel importante na fisiopatologia da ICC (KLEIGER *et al.*, 1987; SCHRIER, ABRAHAM, 1999; JESSUP, BROZENA, 2003).

Para manutenção da relação entre o meio externo e os diversos órgãos, bem como para a homeostase interna do organismo, se faz necessária a ação constante do sistema nervoso. Esse mecanismo regulatório, automático e involuntário é exercido pelo sistema nervoso autônomo, por meio de suas duas subdivisões anatomofuncionais: o sistema simpático e parassimpático (JUNQUEIRA JÚNIOR, 1998).

No coração, o simpático determina aceleração do ritmo cardíaco, aumento da contratilidade, enquanto o parassimpático, por outro lado, determina diminuição do ritmo cardíaco. Além disso, o simpático determina vasoconstrição dos vasos sanguíneos do

tronco e extremidades, enquanto que o parassimpático determina pouca ou nenhuma ação nos vasos sanguíneos. Assim sendo, os sistemas nervosos autônomos simpático e parassimpático (nervo vago) exercem uma ação regulatória fundamental no sistema cardiovascular, controlando vários parâmetros, como a frequência cardíaca, a pressão arterial, e a resistência periférica, através de seus mecanismos reflexos originados momento a momento (MANCIA, 1994; CAMPAGNOLE-SANTOS, HAIBARA, 2001)

Na evolução da insuficiência cardíaca assiste-se à ativação progressiva do sistema nervoso simpático, cuja base etiopatogênica ainda não foi definida, porém parece associar-se a uma disfunção do barorreceptor (MIRCOLI *et al.*, 2002), a uma ativação do eixo renina-angiotensina-aldosterona (RAA) e ao aumento da secreção da vasopressina (SCHRIER, ABRAHAM, 1999; JESSUP, BROZENA, 2003). São estas alterações fisiopatológicas, que condicionam o prognóstico através da sua ação deletéria sobre o leito vascular e sobre o músculo cardíaco (KLEIGER *et al.*, 1987; SCHRIER, ABRAHAM, 1999; JESSUP, BROZENA, 2003).

Vários estudos têm demonstrado na ICC uma incidência aumentada dos eventos arrítmicos potencialmente fatais, incluindo a morte súbita (BIGGER *et al.*, 1977). As possíveis causas da instabilidade elétrica do ventrículo insuficiente pós-IAM, decorrem provavelmente das alterações acima citadas, relacionadas ao remodelamento miocárdico e à ativação neuro-humoral (ZEHENDER *et al.*, 1991; WIT, JANSE, 1993) Tanto é verdade, que tratamentos que reduzem a tensão transmural da parede ventricular com conseqüente melhora na fração de ejeção, têm sido associados a uma redução na incidência de arritmias (MANSUY *et al.*, 2000). Paralelamente, resultados similares têm sido descritos com inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) e os antagonistas de receptores AT-1 da angiotensina, confirmando o papel do sistema renina-angiotensina na gênese de arritmias cardíacas associadas ao remodelamento miocárdico e a ICC (HATTORI *et al.*,

1997). Por fim, o uso de beta-bloqueadores, ao provocar uma redução do efeito simpático sobre o coração, parece também prevenir o desenvolvimento de eventos arrítmicos e de morte súbita em ratos com ICC após IAM (MANSUY *et al.*, 2000)

A disfunção do sistema nervoso parassimpático cardíaco, identificada pela redução na variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e na sensibilidade barorreflexa cardíaca, constitui-se num fator de risco independente em pacientes com ICC pós-IAM e de outras causas (LOMBARDI *et al.*, 1987; FARREL *et al.*, 1992; La ROVERE *et al.*, 2003). Tal redução da variabilidade da FC tem se revelado um preditor de eventos arrítmicos e de morte súbita, melhor que a própria fração de ejeção nos primeiros seis meses após o IAM, (LOMBARDI *et al.*, 1987), sugerindo uma perda do papel protetor do nervo vago no coração com ICC. Tais achados suscitam também a idéia de que estratégias terapêuticas que aumentem a ação vagal sobre o coração poderiam ser benéficas.

Em relação às estratégias terapêuticas não farmacológicas, a prática de exercício físico regular praticado por pacientes pós-IAM, além de melhorar a capacidade funcional e diminuir vários fatores de risco cardíacos, também altera o controle autonômico cardiovascular, levando a um maior predomínio parassimpático, demonstrado experimentalmente em cães (HULL JÚNIOR *et al.*, 1994; BILLMAN *et al.*, 1984). Apesar de existir uma resposta individual bem variável do treinamento físico sobre a função parassimpática, este efeito parassimpaticomimético é considerado um dos mecanismos através dos quais o treinamento físico diminui a morbimortalidade pós-IAM.

Considerando-se as opções farmacológicas, pode-se dizer que as drogas que produzem exacerbação dos efeitos vagais, como por exemplo, os beta-bloqueadores, aumentam de forma evidente e significativa as flutuações dos ciclos cardíacos; e as que abolem os reflexos vagais, como a atropina, produzem imediato efeito inverso (redução da VFC (KLEIGER *et al.*, 1987; PORTER *et al.*, 1990).

A escopolamina, um bloqueador muscarínico, produz uma elevação da atividade vagal, quando administrada em baixas doses, passando a ter efeito predominantemente vagolítico em doses maiores. O uso de escopolamina em baixas doses produziu uma ação vagomimética em pacientes pós IAM com aumento da VFC (DE FERRARI *et al.*, 1993; CASADEI *et al.*, 1993; VYBIRAL *et al.*, 1993).

A atividade parassimpática para o coração e a sensibilidade baroreflexa estão reduzidas em pacientes com insuficiência cardíaca, sendo estas alterações importantes na patogênese e evolução das doenças cardiovasculares e consideradas fatores de risco independentes nestas doenças (MORTARA *et al.*, 1997). A disfunção parassimpática está associada com arritmias ventriculares graves, enquanto a estimulação colinérgica protege contra arritmias ventriculares em animais experimentais (ELIAKIM *et al.*, 1961; WAXMAN *et al.*, 1988)

Outra forma de estimular a ação vagal sobre o coração seria através de drogas com efeitos anticolinesterásicos, que diminuem a degradação da acetilcolina na fenda sináptica aumentando o seu tempo de atividade. Entre as diversas drogas anticolinesterásicas, podemos destacar o brometo de piridostigmina (FURTADO, 1954; STEPHENSON, KOLKA, 1990; ANDRONE *et al.*, 2003). O brometo de piridostigmina é uma droga que inibe reversivelmente a acetilcolinesterase, atuando na transmissão neuromuscular (STEPHENSON, KOLKA, 1990), sendo assim, utilizado no tratamento da Miastenia Gravis. Nos últimos anos esta droga vem sendo usada também como meio profilático contra intoxicações por armas químicas e testada no contexto experimental e clínico por seus efeitos sobre o sistema cardiovascular.

Administração oral de 45mg de brometo de piridostigmina inibiu o aumento da frequência cardíaca em adultos saudáveis submetidos a estress mental (NOBREGA *et al.*,

1999), assim como reduziu a frequência cardíaca e aumentou a razão E/A na avaliação do ecocardiograma de indivíduos saudáveis (PONTES *et al.*, 1998).

Após estimulação do SNC em ratos anestesiados, o brometo de piridostigmina, ao inibir a acetilcolinesterase, aumentou o efeito da acetilcolina diminuindo a demanda cardíaca de oxigênio, sugerindo um papel cardioprotetor do sistema nervoso parassimpático no coração durante os episódios de isquemia (GRABE *et al.*, 1999).

A rápida desaceleração da FC no primeiro minuto após o pico do exercício é regulado primariamente pelo sistema nervoso parassimpático (IMAI *et al.*, 1994; SAVIN *et al.* 1982). Uma atenuação da diminuição da FC no primeiro minuto após o exercício está bem descrita em pacientes com ICC e está associada com risco aumentado de mortalidade em indivíduos com e sem doenças cardiovasculares (COLE *et al.*, 1999; WATANABE *et al.*, 2001). A inibição da acetilcolinesterase com brometo de piridostigmina aumentou a recuperação da FC no primeiro minuto após o exercício, mas não nos três minutos subsequentes, sugerindo uma melhora do tônus parassimpático em pacientes com ICC (ANDRONE *et al.*, 2003). Em adição o Brometo de Piridostigmina melhora a tolerância ao exercício físico e inibe a resposta cronotópica no exercício submáximo em pacientes com história de angina pectoris (CASTRO *et al.*, 2004).

O brometo de piridostigmina, na dose de 30mg de 8 em 8 horas, reduziu a frequência cardíaca média e aumentou a VFC em voluntários saudáveis durante 24 horas de experimento (NOBREGA, 2001). Em indivíduos com ICC, a estimulação colinérgica com o brometo de piridostigmina reduziu as arritmias ventriculares e aumentou a VFC (BEHLING *et al.*, 2003). Em adição, aumentos na VFC e na sensibilidade barreflexa em ratos normais tem sido observados após o tratamento com o brometo de piridostigmina, sem modificações dos parâmetros hemodinâmicos (SOARES *et al.*, 2004)

Por fim, reforçando a idéia dos efeitos farmacológicos benéficos do brometo de piridostigmina, a estimulação elétrica do vago direito em ratos com ICC aumentou a sobrevivência dos animais, através da prevenção da falência da bomba cardíaca e do remodelamento do miocárdio (MEIHU LI MS *et al*, 2004). Entretanto, a estimulação elétrica do nervo vago é um procedimento de difícil execução na prática clínica, por ser uma técnica invasiva e dispendiosa. Assim sendo, ainda que alguns dados já existam na literatura sobre um eventual efeito benéfico do brometo de piridostigmina em pacientes com ICC, o mecanismo subjacente a estes efeitos são poucos conhecidos, de modo que o brometo de piridostigmina por ser uma medicação já de uso clínico que merece nossa atenção.

Levando em consideração que o modelo de ICC após IAM no rato é um modelo amplamente estudado de ICC (PFEFFER *et al*, 1979; PFEFFER *et al*, 1985; FLETCHER *et al.*, 1981; JOHNSTON, MACLEOD, WALKER, 1983; CURTIS, MACLEOD, WALKER, 1987), seria interessante avaliar com maiores detalhes os efeitos da estimulação parassimpática por meio do brometo de piridostigmina sobre as funções barorreflexa, autonômica, elétricas e mecânicas do miocárdio insuficiente em ratos. Nossa hipótese é de que o uso prolongado do brometo de piridostigmina é capaz de melhorar a variabilidade cardiovascular, a depressão barorreflexa e o tônus autonômico neste modelo animal com importantes repercussões sobre as funções elétricas e mecânicas do coração.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar se o uso prolongado do brometo de piridostigmina é capaz de melhorar a variabilidade cardiovascular, a depressão barorreflexa e o tônus autonômico cardíaco, bem como as alterações elétricas e mecânicas do coração de ratos com insuficiência cardíaca decorrente do infarto do miocárdio.

2.2 Objetivos específicos:

1 - Avaliar os efeitos da estimulação vagal prolongada pelo brometo de piridostigmina durante 6 semanas sobre a modulação autonômica cardiovascular por meio da análise espectral da variabilidade cardiovascular.

2 - Investigar os efeitos da estimulação vagal crônica pelo brometo de piridostigmina sobre a sensibilidade barorreflexa cardíaca avaliada por teste farmacológico do barorreflexo com fenilefrina e nitroprussiato de sódio.

3 - Verificar os efeitos do brometo de piridostigmina sobre o o tônus autonômico cardíaco avaliados por meio do bloqueio farmacológico com propranolol e atropina.

4 - Associar as possíveis modificações na regulação autonômica cardiovascular induzidas pela estimulação vagal crônica com a incidência de eventos arrítmicos presentes nos animais cronicamente infartados

5 - Avaliar se o tratamento com o brometo de piridostigmina tem algum efeito sobre a hemodinâmica, bem como sobre a morfologia do ventriculo esquerdo pós-infarto, mediante cateterismo cardíaco e estudo histológica do ventriculo esquerdo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais experimentais

Ratos Wistar machos com 16 semanas de idade (média do peso = 402,05gr, desvio padrão = 46,44) foram empregados em todos os protocolos experimentais do presente estudo. Os animais foram alojados em biotério, com ambiente controlado (temperatura = 23° C, umidade = 40-70%, ciclo claro-escuro = 12h/12h) e tiveram livre acesso à ração e água durante todo o período experimental. Todos os protocolos foram realizados observando-se as normas internacionais contidas no, “GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS” editado por “US NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH publication n°85 –23, revised 1996).

3.2 Indução do infarto do miocárdio

A indução do infarto do miocárdio foi feita segundo técnicas previamente descritas (PFEFFER *et al.*, 1979). Após pesagem em balança digital, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (40 mg/kg, por via intraperitoneal). Após a anestesia foi feito o registro do eletrocardiograma completo (06 derivações frontais e 06 precordiais) usando um eletrocardiógrafo de 06 canais (ER 661 Mikromed Budapst, Hungria). Após o registro do ECG, o animal foi colocado em mesa cirúrgica, posicionado em decúbito dorsal, imobilizado e submetido à tricotomia e anti-sepsia (álcool iodado) da face anterior do tórax.

A seguir o animal foi entubado com uma cânula de polietileno PE 240 (Clay Adams Brand, Polyethylene Tubing, Becton Dickinson, Sparks) e conectado a um ventilador artificial (Animal Ventilator, Columbus Instruments, Columbus, Ohio, USA) (Figura 2).

Uma incisão lateral na pele de aproximadamente 3cm foi realizada no 4º espaço intercostal esquerdo, partindo de medial para lateral, seguindo a borda inferior da costela.



Figura 2: Animal intubado e preparado para indução do IAM ou cirurgia fictícia

A seguir foi feita a divulsão dos músculos peitoral e transverso, procedeu-se à toracotomia ao nível de 4º espaço intercostal para exteriorização rápida do coração por meio da compressão lateral do tórax. O pericárdio foi seccionado e o coração exposto e segurado com uma pinça de ponta grossa a fim de não lesar o miocárdio. A artéria coronária descendente anterior foi identificada e ocluída usando-se fio de sutura (mononylon 6-0), que foi rapidamente passado em torno da artéria 2-3mm abaixo de sua origem. Imediatamente após, o fio de sutura foi apertado, provocando uma completa oclusão da coronária. A seguir o coração foi recolocado na cavidade torácica, o tórax fechado e submetido a uma drenagem do pneumotórax cirúrgico por aspiração a vácuo do conteúdo aéreo do espaço esquerdo por meio de um cateter exteriorizado na incisão cirúrgica. Após a drenagem do pneumotórax, foi realizada uma expansão pulmonar com o ventilador artificial e fechamento da pele.

Cerca de 15 a 20 minutos depois da ligadura coronária, os animais foram submetidos a uma nova sessão de registro completo do ECG, para confirmação do IAM. A confirmação do IAM foi atestada pela verificação no ECG de supra-desnivelamento do segmento ST em pelo menos duas derivações registradas.

Ao final foi feita aplicação intramuscular de anti-inflamatório e antibiótico (Cataflam 50 mg em 0,5 ml e Pentabiótico, 0,3 ml, IM) em todos os animais do presente estudo.

Os animais sobreviventes desta fase (53,6%) foram então alojados em gaiolas para posterior monitorização cardiovascular após 06 semanas. Dois grupos de animais, os quais formaram os grupos controle do experimento, foi submetido à cirurgia fictícia (“sham”), onde o fio de sutura foi passado em torno da artéria descendente anterior, porém não foi apertado, de modo que o IAM não foi provocado nestes grupos.

3.3 Tratamento com Brometo de Piridostigmina.

O brometo de piridostigmina foi diluído na água de beber no mesmo dia do procedimento cirurgico para indução do infarto e da cirurgia fictícia para os grupos infartados tratados e controle, respectivamente, e mantido por 06 semanas com trocas diárias de solução contendo o fármaco.

A concentração final da solução de brometo de piridostigmina oferecida aos animais foi de (0,2mg/ ml). Como o consumo médio de solução ingerida por dia para cada animal foi em torno de 49,36 ml, para a maioria dos animais, a dose diária ingerida de brometo de piridostgmina foi de aproximadamente 10mg/ rato. Levando-se em consideração o peso médio dos ratos em torno de 400gr., a dose diária por peso do animal foi então de aproximadamente 25mg/Kg/dia.

3.4 Grupos experimentais

No presente trabalho quatro grupos experimentais foram estudados:

- Grupo controle veículo (cirurgia fictícia): n=11 (rc03, rc17, rc25, Rc29, rc30, rc31, rc33, rc39, rc46, rc50, rc51).
- Grupo infartado veículo: n=10 (ri04, ri07, ri09, ri11, ri12, ri13, ri18, ri20, ri21, ri22,)
- Grupo controle (cirurgia fictícia) tratado com brometo de piridostigmina: n=13 (rcb03, rcb08, rcb09, rcb32, rcb34, rcb37, rcb39, rcb43, rcb47, rcb60, rcb63, rcb64, rcb81)
- Grupo infartado tratado com brometo de piridostigmina: n=12 (rib05, rib06, rib25, rib29, rib30, rib45, rib46, rib54, rib75, rib83, rib85, rib86).

3.5 Procedimento cirúrgico para implante de eletrodos

Ao final de 06 semanas de tratamento, após anestesia com tiopental sódio (40mg Kg, i. p.), os animais foram submetidos ao implante cirúrgico de um par de eletrodos de aço inoxidável posicionados a cada lado da região dorsal alta para o registro do ECG basal (derivação I) de 30 minutos.

Os eletrodos foram confeccionados empregando-se um conector de 3 pinos derivado de um conector de 40 pinos (modelo BTPS-40). Três fios de aço inoxidável foram soldados ao conector de três pinos (pinos laterais: eletrodos ativos e pino central: eletrodo terra). A extremidade oposta dos fios foram então fixadas no subcutâneo a cada lado da região dorsal alta de modo a permitir o registro da derivação I, enquanto o conector de três pinos foi suturado na região cervical dorsal do animal, de modo a impedir uma eventual remoção acidental.

3.6 Canulação dos vasos femorais.

Após a colocação dos eletrodos, dentro do mesmo tempo anestésico, cânulas de polietileno (PE-10 fundido a uma extensão de PE-50) (Clay Adams Brand, Polyethylene Tubing, Becton Dickinson, Sparks, PE 10 e PE 50), foram implantadas na artéria e veia femoral esquerda para permitir o posterior registro da pressão arterial e a administração de drogas, respectivamente. No dia seguinte à canulação os animais foram submetidos ao protocolo experimental para avaliação da variabilidade cardiovascular, teste do reflexo barorreceptor e o bloqueio autonômico farmacológico.

3.7. Protocolo experimental

Após a canulação dos vasos femorais e implantação de eletrodos de ECG no dia anterior, os animais foram conectados ao sistema de aquisição de dados por computador (Aquadados, Lynx Tecnol. Elletron. Ltda, SP, São Paulo, SP). Os sinais de ECG (DI) e a PA foram adquiridos usando frequência de amostragem de 500 Hz. Após 30 minutos de estabilização, um registro contínuo de 30 minutos de pressão arterial pulsátil e ECG foi realizado para medir os valores basais de pressão arterial e FC, os quais foram processados para posterior avaliação da variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial no domínio do tempo (variância) e no domínio da frequência (análise espectral). Em adição os traçados do ECG foram utilizados para avaliação de eventuais arritmias cardíacas.

Ao final dos 30 minutos de registro basal, o teste do reflexo barorreceptor foi realizado pela injeção intravenosa alternada de 2 µg/ Kg e 4 µg/ Kg de fenilefrina e de 8 µg/ Kg e 16 µg/ Kg de nitroprussiato de sódio, seqüência que foi repetida de forma aleatória para cada animal. As magnitudes da bradicardia reflexa ou da taquicardia reflexa induzidas, respectivamente, pelas respostas pressora da fenilefrina ou depressora

do nitroprussiato de sódio, foram usadas para o cálculo do índice da sensibilidade barorreflexa cardíaca.

No final do protocolo, sulfato de atropina (4 mg/Kg, i.v.) foi administrado por via intravenosa para o bloqueio da ação parassimpática sobre o coração. Em seguida, 15 minutos depois, cloridrato de propranolol (5mg/Kg, i.v.) foi administrado para bloquear o sistema simpático e um registro de mais 15 minutos foi feito. Em metade dos animais, para cada grupo experimental, a ordem de bloqueio autonômico foi invertida, ou seja, propranolol seguida de atropina. Após administradas os agentes bloqueadores autonômicos, foi injetado intravenosamente nitroprussiato (16 µg/ Kg) e fenilefrina (4 µg/ Kg) para testar a eficácia do duplo bloqueio.

O esquema do protocolo experimental está representado pela figura 3 abaixo ilustrada.

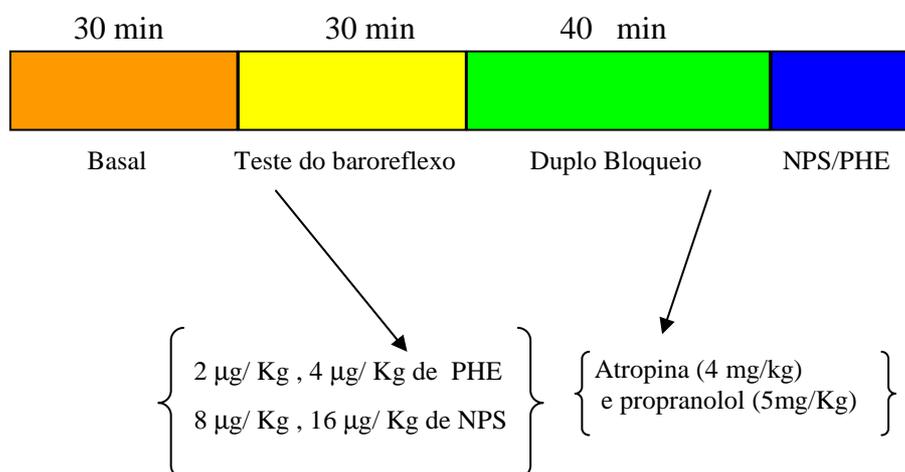


Figura 3: Esquema do protocolo experimental realizado.

3.8 Estudo hemodinâmico

Em seguida à execução do protocolo experimental acima descrito, os animais foram recolocados em suas respectivas gaiolas e deixados em recuperação por mais 24 horas. Passado este período de recuperação, após a metabolização das drogas aplicadas para o teste do bloqueio autonômico, o animal foi reanestesiado com tiopental sódico (40 mg/kg, i.p.), colocado em mesa cirúrgica em decúbito dorsal, e submetido a uma cirurgia para implantação de cânula no ventrículo esquerdo via artéria carótida comum direita. Foi feita uma incisão mediana de 3 cm no pescoço e a carótida comum direita foi exposta. Foi introduzida uma cânula de polietileno PE 50 (Clay Adams Brand, Polyethylene Tubing, Becton Dickinson, Sparks, USA) até o ventrículo esquerdo, que foi conectado a um sistema de aquisição de dados (Aqdados). A pressão ventricular esquerda foi registrada continuamente por pelo menos cinco minutos. A partir do sinal da pressão ventricular esquerda, a pressão diastólica final do VE (PDFVE), a dp/dt_{max} (velocidade máxima de contração) e a dp/dt_{min} (velocidade máxima de relaxamento) foram calculadas, os quais constituíram-se nos parâmetros hemodinâmicos ventriculares avaliados.

3.9 Análise dos dados

Os valores basais médios de FC e de PA sistólica, diastólica e média foram calculados para o período basal de 30 minutos de registro.

As arritmias verificadas no ECG foram analisadas obedecendo às convenções de Lambeth (WALKER *et al.*, 1988). Taquicardia ventricular (TV) foi definida como 4 ou mais extrassístoles ventriculares consecutivas. Fibrilação ventricular (FV) foi definida como um sinal que se altera aleatoriamente tanto em frequência quanto em morfologia.

O número de extrassístoles ventriculares, bem como o número e a duração de cada episódio de TV ou FV foi quantificado por rato e usado com um índice de arritmia de cada animal



Figura 4: Traçado simultâneo de pressão arterial pulsátil (traçado superior) e eletrocardiograma (traçado inferior), evidenciando o surgimento de extrassístoles ventriculares (setas) no ECG.

Para o estudo da variabilidade cardiovascular, os sinais de ECG e PA, continuamente registrados ao longo do protocolo, foram processados por software (Software PRE 24, gentilmente cedido por Eng. Dr. Alberto Porta, Universidade de Milão, Itália) de modo a gerar séries temporais batimento-a-batimento de iRR e PAS. A variância dos valores de iRR e PAS dentro do período basal foi tomada como um índice de variabilidade no domínio do tempo.

A variabilidade do iRR e da PAS foi também avaliada no domínio da frequência empregando-se o método de análise espectral autoregressivo. Os procedimentos teóricos e analíticos estão completamente descritos em publicações prévias (PAGANI *et al.*, 1986; MALLIANI *et al.*, 1991; TASK FORCE, 1996). Brevemente, séries temporais

batimento a batimento de iRR e PAS, coletados durante os 30 minutos de registro basal, foram divididas em segmentos seriados de 200 batimento, sendo que todo segmento sucessivo sobrepunha-se em 50% (100 batimento) no segmento anterior (método de Welch). Usando segmentos estacionários das séries temporais, parâmetros autoregressivos foram estimados através do método de Levinson-Durbin e a ordem do modelo foi escolhida de acordo com o critério de Akaike. Em seguida, sobre cada segmento estacionário individual de 200 batimentos, a decomposição espectral foi realizada mediante uso de software apropriado (software, LA 24, gentilmente cedido pela engenheiro Dr. Alberto Porta, Universidade de Milão, Itália). Este procedimento permite automaticamente quantificar a frequência central e a potência de cada componente espectral relevante em unidades absolutas bem como em unidades normalizadas. O procedimento de normalização, aplicado apenas à variabilidade do iRR, foi realizado pela divisão da potência do componente de baixa frequência (low frequency – LF; 0,20-0,80 Hz) ou de alta frequência (high frequency – HF; 0,80 -0,250 Hz) pela potência espectral total da qual se subtrai a potência da banda de muito baixa frequência (very low frequency – VLF, 0,01-0,20 Hz), multiplicando-se o resultado por 100 (PAGANI *et al.*, 1986; MALLIANI *et al.*, 1991; TASK FORCE, 1996). Os parâmetros espectrais obtidos para cada segmento estacionário individual de 200 batimentos foram avaliados e valores médios resultantes de 30 minutos de registro foram obtidos para cada animal.

As sensibilidades barorreflexas foram calculadas mediante a razão entre as alterações reflexas na FC provocadas por alterações na pressão arterial induzidas pela fenilefrina (vasoconstritor, agonista α 1-adrenérgico) e nitroprussiato de sódio (vasodilatador, doador espontâneo de óxido nítrico). As razões foram tomadas como

estimativas da sensibilidade barorreflexa tanto na bradicardia quanto da taquicardia reflexas (COLEMAN, 1980).

Para o estudo do controle autonômico tônico do coração e o cálculo da frequência intrínseca de marcapasso cardíaco (FIMC) foi realizado o duplo bloqueio autonômico sequencial com atropina (4mg/Kg, i.v.) propranolol (5mg/Kg, i.v.) e para verificar respectivamente o tônus simpático e parassimpático. Atropina e propranolol foram usados respectivamente para bloquear as influências parassimpática e simpática sobre a frequência cardíaca. Após um registro basal de 05 minutos, atropina foi injetada pela via venosa e a frequência cardíaca registrada por 15 minutos para o cálculo do efeito parassimpático. Após os 15 minutos, propranolol foi injetado e a FC foi registrada por mais 15 minutos, para determinação da frequência intrínseca de marcapasso cardíaco. Esta sequência de bloqueio autonômico foi realizada em cerca de metade dos animais de cada grupo experimental. A administração em sequência reversa, ou seja, propranolol seguido de atropina foi realizada na outra metade dos animais de cada grupo com o objetivo de se calcular, à semelhança da sequência anterior, o efeito simpático, e a FIMC. Em adição a partir dos valores de FC e FIMC foi quantificado para cada animal o índice simpático-vagal cardíaco (ISV) foi também calculado como a razão entre a FC basal pela FIMC (GOLDBERGER, 2001). Este índice expressa o balanço autonômico tônico para o coração, onde os valores acima de 1 evidenciam um predomínio do tônus simpático sobre o vagal e valores abaixo de 1 evidenciam um tônus vagal cardíaco predominante (GOLDBERGER, 2001).

A efetividade do bloqueio simpático e parassimpático foi avaliada pela ausência de bradicardia reflexa após a elevação da PA pela injeção de fenilefrina e pela ausência de taquicardia reflexa após a queda da PA pela injeção de NPS, respectivamente.

Na análise hemodinâmica, a partir do sinal da pressão ventricular esquerda coletado, a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) foi manualmente medida nos últimos 10 ciclos cardíacos registrados e o valor médio da PDFVE destes 10 ciclos foi considerado para cada animal. A velocidade máxima de contração (dP/dt max) e a velocidade máxima de relaxamento (dP/dt min) foram calculadas a partir do sinal da pressão ventricular esquerda, usando-se o programa Windaq/CODAS, o qual aplica a primeira derivada do sinal de pressão ventricular esquerda e em seguida detecta os valores dos picos e vales deste registro. Os picos coincidem com a dP/dt máxima enquanto os vales com a dP/dt mínima. Uma média aritmética de todos os valores de dP/dt max e dP/dt min coletados durante os cinco minutos de registro foi calculada.

3.10 Estudo anátomo-patológico

A seguir os animais foram sacrificados por dose excessiva de anestésico Tiopental sódico e o coração foi removido, lavado em solução fisiológica, pesado imediatamente em uma balança de precisão. Foram realizados exames anatomopatológicos nos corações para caracterizar a dimensão do infarto e eventuais alterações histológicas associadas à ingesta do fármaco.

3.11 Processamento histológico

Após manutenção por 24h em solução de formol tamponado a 10%, o coração foi preparado para a determinação do tamanho do infarto, sendo colocado para desidratação em solução com álcool 70%, permanecendo por no mínimo 2 horas, trocado sucessivamente para álcool a 80%, 90% e álcool absoluto de 3 a 4 vezes.

A seguir foi feita a clarificação com álcool a 50% mais xilol a 50% por duas horas. Depois o material foi colocado em xilol puro por duas horas até ficar transparente.

A infiltração foi feita com parafina líquida a 60 graus por um tempo de 90 minutos (MICHALANY, 1980). O material foi incluído em parafina líquida à temperatura ambiente usando formas metálicas . Em cada coração foram feitos três cortes transversais da base para o ápice sendo que a parte superior do corte foi escolhida para visualização após a inclusão. O tecido miocárdico obtido foi corado por hematoxilina-eosina (HE) e Prico Sirius Red (corante específico para colágeno) (MICHALANY, 1980) e utilizado para análise morfométrica do tamanho da cicatriz do infarto e quantificação da fibrose cardíaca.

3.12 Avaliação do tamanho do infarto

A avaliação do tamanho do tecido cicatricial decorrente do infarto foi realizado por Planimetria (os corações foram cortados em três cortes transversais da base para o ápice). Após inclusão, cada lâmina foi digitalizada usando um “Scanner”(Genius ColorPage-Hr6x off line) na resolução de 200 dpi e arquivada em um microcomputador para análise. O aumento utilizado para uma boa visualização das lâminas foi padronizado em 10 vezes.

A análise morfométrica foi feita através do programa Imagen J (Imagem J-NIH) para a avaliação do tamanho do infarto e do grau de hipertrofia miocárdica. A calibração das medidas no programa Imagem J foi feita através de uma régua milimétrica (figura 4).

Os seguintes parâmetros foram medidos para cada corte examinado (figura 5):

- perímetro cardíaco interno (P_i);
- perímetro cardíaco externo (P_e);
- comprimento externo da área de fibrose (F_e);
- comprimento interno da área de fibrose (F_i).

- Os comprimentos interno e externo da fibrose (cicatriz do infarto), o perímetro externo e o perímetro interno foram mensurados separadamente em cada corte da lamina, o resultado das três medidas por lamina foi colocado em uma planilha no programa EXCEL e calculado a média aritmética de cada parâmetro (Pi, Pe, Fe, Fi) por lâmina.

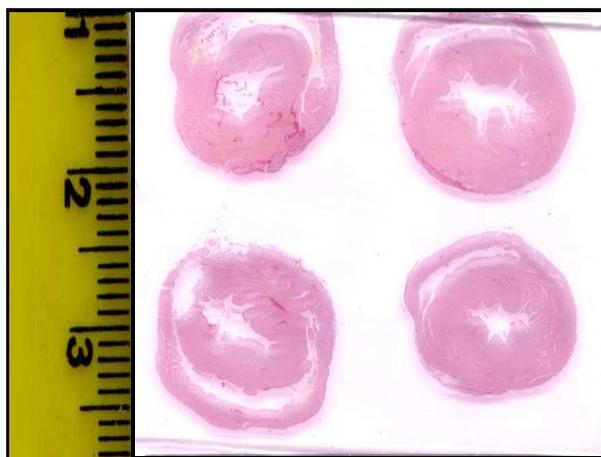


Figura 5: Calibração do sistema de análise de imagem.

A razão entre as médias do comprimento de fibrose pelo perímetro cardíaco definiu o tamanho do infarto em cada superfície do miocárdio (epicárdio e endocárdio), o total do infarto foi expresso em porcentagem (média do endocárdio + média do epicárdio X 100). A transmuralidade foi calculada através da razão entre o tamanho do infarto epicárdico e endocárdico (tamanho do infarto epicárdico / tamanho do infarto endocárdico). (OPTIZ, 1995).

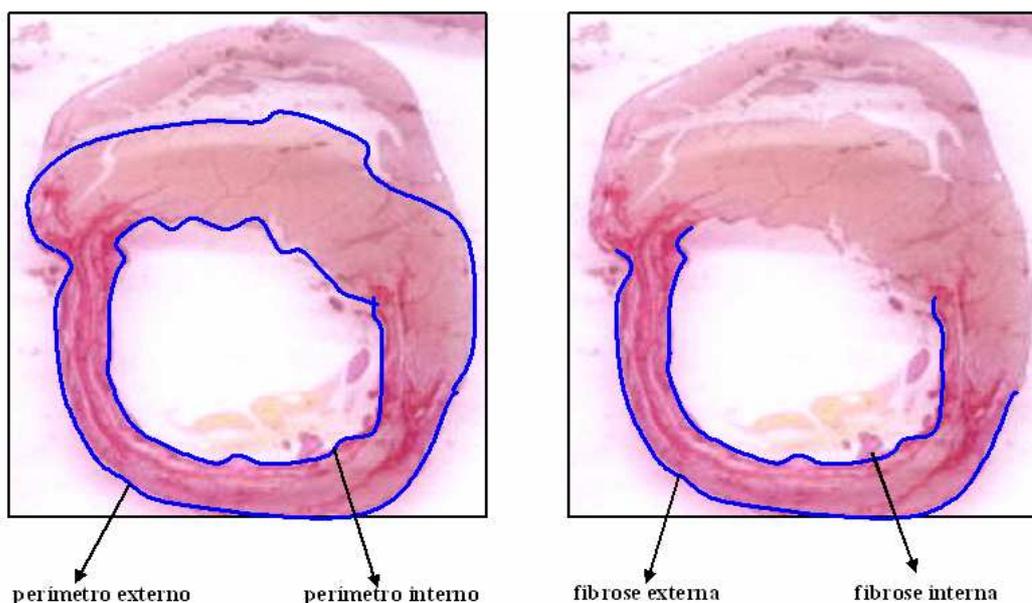


Figura 6: Representação esquemática de como foram feitas as medidas do tamanho do infarto epicárdico e endocárdico.

3.13 Análise estatística

Os resultados foram todos expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Previamente à aplicação dos testes estatísticos apropriados para a comparação entre os quatro grupos experimentais, a normalidade da distribuição amostral e a homogeneidade da variância foram avaliadas pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Bartlett, respectivamente.

A comparação das médias entre os quatro grupos experimentais foi realizada empregando-se o de ANOVA de dois fatores seguido de teste de TUKEY para dados paramétricos ou o teste de Mann-Whitney para os dados não paramétricos.

As diferenças entre as comparações efetuadas foram consideradas estatisticamente significantes quando a probabilidade estatística foi menor que 5% ($p < 0,05$). Todos os testes estatísticos foram realizados empregando-se o software Sigmatat 2.0 (Jandel Scientific Corp., San Rafael, CA, USA).

4 RESULTADOS

No total, 149 animais foram empregados no presente estudo. Destes, 51 foram usados nos grupos controle e infartado não tratados (ingerindo veículo, a água de beber). Destes, quarenta (40) animais foram infartados, sendo que 22 animais morreram nas primeiras 24 horas após a cirurgia de ligadura coronária (taxa de mortalidade aguda de 55,0%). Todos os 18 animais sobreviventes chegaram até o final do período de 06 semanas do estudo. Na execução no procedimento cirúrgico de canulação e implante de eletrodos para ECG, 03 animais morreram subitamente após a anestesia, restando portanto 15 animais que foram submetidos à cirurgia de canulação e ao protocolo experimental. Destes 15 animais, 05 foram descartados por apresentarem tamanho do infarto pequeno (abaixo de 7,54%, o máximo de cicatriz epicárdica encontrado nos animais controles, submetidos à cirurgia fictícia) e sem transmuralidade. Deste modo, o grupo de animais infartados veículo (INF-VE) estudado foi composto por 10 animais, os quais evidenciaram ao final um valor médio de fibrose cicatricial pós-infarto de $37,15 \pm 4,74\%$ da circunferência ventricular esquerda.

Onze animais foram submetidos à cirurgia fictícia para constituir o grupo controle veículo (CON-VE). Nenhum animal deste grupo morreu ao longo de todo o protocolo experimental.

Para formar o grupo infartado tratado com brometo de piridostigmina (INF-PIR) foram usados 85 animais, 45 dos quais morreram nas primeiras 24 horas após a cirurgia de ligadura da arteria coronária (taxa de mortalidade aguda de 52,9%). Todos os 40 animais sobreviventes chegaram até o final do período de 06 semanas de tratamento. Destes 40 animais, 28 foram descartados por apresentarem tamanho do infarto pequeno (abaixo de 7,54%, o máximo de cicatriz epicárdica encontrado nos animais controles, submetidos à

cirurgia fictícia) e sem transmuralidade. Deste modo, o grupo de animais infartados tratados estudado foi composto por 12 animais, os quais evidenciaram ao final um valor médio de fibrose cicatricial pós-infarto de $40,93 \pm 3,34\%$ da circunferência ventricular esquerda.

Para a formar o grupo controle tratado com brometo de piridostigmina (CON-PIR) foram usados 13 animais, os quais foram submetidos à cirurgia fictícia. Nenhum animal deste grupo morreu ao longo de todo o protocolo experimental.

Todos os 46 animais aproveitados no presente estudo, 11 controles não tratados, 13 controles tratados, 10 infartados não tratados e 12 infartados tratados com brometo de piridostigmina, apresentaram comportamento e crescimento aparentemente normais durante as 06 semanas de observação, não havendo diferenças entre eles quanto ao peso corporal final ($450,5 \pm 18,4$ gramas no grupo controle não tratado, $410,0 \pm 15,6$ gramas no grupo controle tratado, $442,9 \pm 12,7$ gramas no grupo infartado não tratado e $390,5 \pm 8,18$ gramas no grupo infartado tratado).

Os valores hemodinâmicos basais médios das pressões arteriais sistólica, diastólica e média, bem como da frequência cardíaca são mostrados na tabela 2 abaixo. Note que os valores de pressão arterial foram menores nos animais infartados quando comparados aos seus respectivos controles. Em adição, os animais infartados apresentaram valores maiores de frequência cardíaca basal em comparação aos seus controles. O tratamento com brometo de piridostigmina não foi capaz de modificar os valores basais tanto da pressão arterial quanto da frequência cardíaca seja nos animais controles quanto nos infartados (tabela 2).

Tabela 2: Valores médios (\pm e.p.m.) dos parâmetros hemodinâmicos basais: pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) e frequência cardíaca coletados em ratos acordados controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR).

	CON-VE (n=11)	CON-PIR (n=13)	INF-VE (n=10)	INF-PIR (n=12)
PAS (mmHg)	132,8 \pm 3,1	132,7 \pm 4,7	115,6 \pm 5,0* ^{&}	107,3 \pm 11,1* ^{&}
PAD (mmHg)	95,3 \pm 3,1	100,9 \pm 1,4	81,1 \pm 4,6* ^{&}	81,3 \pm 11,9 * ^{&}
PAM (mmHg)	107,6 \pm 3,0	111,8 \pm 3,9	92,6 \pm 4,2* ^{&}	90,0 \pm 8,9 * ^{&}
FC (bpm)	323,2 \pm 6,1	322,0 \pm 10,3	347,6 \pm 10,1*	369,1 \pm 11,6* ^{&}

*p<0.05 versus grupo CON-VE; [&]p<0.05 versus grupo CON-PIR

A análise de variabilidade da frequência cardíaca através da decomposição espectral de séries de intervalo RR nos diferentes grupos experimentais está sumarizada na tabela 3 abaixo, a qual mostra os valores médios (\pm e.p.m.) dos parâmetros de variabilidade no domínio do tempo (variância) e no domínio da frequência (análise espectral). Note que os animais com insuficiência cardíaca decorrente do infarto do miocárdio não tratados apresentaram uma tendência de redução do componente LF absoluto e uma redução significativa do componente LF normalizado da variabilidade da frequência cardíaca quando comparado aos controles não tratados (tabela 3).

Tabela 3: Valores médios (\pm e.p.m.) do intervalo RR, da variância e dos componentes espectrais VLF, LF e HF da variabilidade do intervalo RR (iRR) coletados em ratos acordados controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR).

	CON-VE (n=11)	CON-PIR (n=13)	INF-VE (n=10)	INF-PIR (n=12)
iRR (ms)	186,4 \pm 3,5	190,2 \pm 6,3	173,9 \pm 4,9*	163,8 \pm 5,6* &
Variância (ms²)	28,5 \pm 11,0	48,9 \pm 9,7*	26,5 \pm 9,9	28,6 \pm 17,2
VLF (ms²)	12,6 \pm 3,7	15,0 \pm 2,4	8,6 \pm 1,2	6,5 \pm 3,4
LF (ms²)	6,5 \pm 4,3	12,0 \pm 4,7*	1,4 \pm 0,9	13,4 \pm 12,1
LF (nu)	17,7 \pm 3,6	17,9 \pm 1,8	6,1 \pm 1,0 *	11,9 \pm 2,5#
HF (ms²)	8,7 \pm 3,4	20,8 \pm 4,3*	14,6 \pm 7,6	7,7 \pm 1,9
HF (nu)	74,2 \pm 3,4	80,2 \pm 1,9	85,2 \pm 2,8*	77,8 \pm 2,5
LF/HF	0,43 \pm 0,12	0,44 \pm 0,07	0,09 \pm 0,01 *	2,24 \pm 2,01#

iRR = Intervalo RR; VLF = Componente de muito baixa frequência; LF = componente de baixa frequência; LF (nu) = Componente de baixa frequência normalizado; HF = Componente de alta frequência; HF (nu) = Componente de alta frequência normalizado, * P < 0,05 em relação ao grupo CON-VE; # P < 0,05 em relação ao grupo INF-VE; & P < 0,05 em relação ao grupo CON-PIR

O tratamento com brometo de piridostigmina nos animais controles elevou significativamente os valores de variância e os valores absolutos dos componentes espectrais LF e HF, sem modificação nos componentes LF e HF normalizados (tabela 3). O tratamento com brometo de piridostigmina nos animais infartados foi capaz de restabelecer ao normal o componente LF normalizado e a razão LF/HF, quando comparado aos animais infartados não tratados (tabela 3). Perfis espectrais individuais representativos das respostas observadas nos quatro diferentes grupos experimentais estão mostrados na figura 7.

A análise de variabilidade da pressão arterial sistólica através da decomposição espectral de séries de pressão arterial sistólica nos diferentes grupos experimentais está sumarizada na tabela 4 abaixo, a qual mostra os valores médios (\pm e.p.m.) dos parâmetros de variabilidade no domínio do tempo (variância) e no domínio da frequência (análise espectral). Note que os animais infartados não tratados, quando comparados aos seus respectivos controles, mostraram uma significativa redução na variância e no componente LF da variabilidade da pressão arterial sistólica (tabela 4). O tratamento com brometo de piridostigmina nos animais controles, não foi capaz de modificar os componentes espectrais da variabilidade da PAS (tabela 4). Por outro lado, este mesmo tratamento, nos animais infartados tendeu a aumentar os valores médios tanto da variância quanto do componente LF da variabilidade da PAS (tabela 4). Perfis espectrais individuais representativos das respostas observadas nos quatro diferentes grupos experimentais estão mostrados na figura 8.

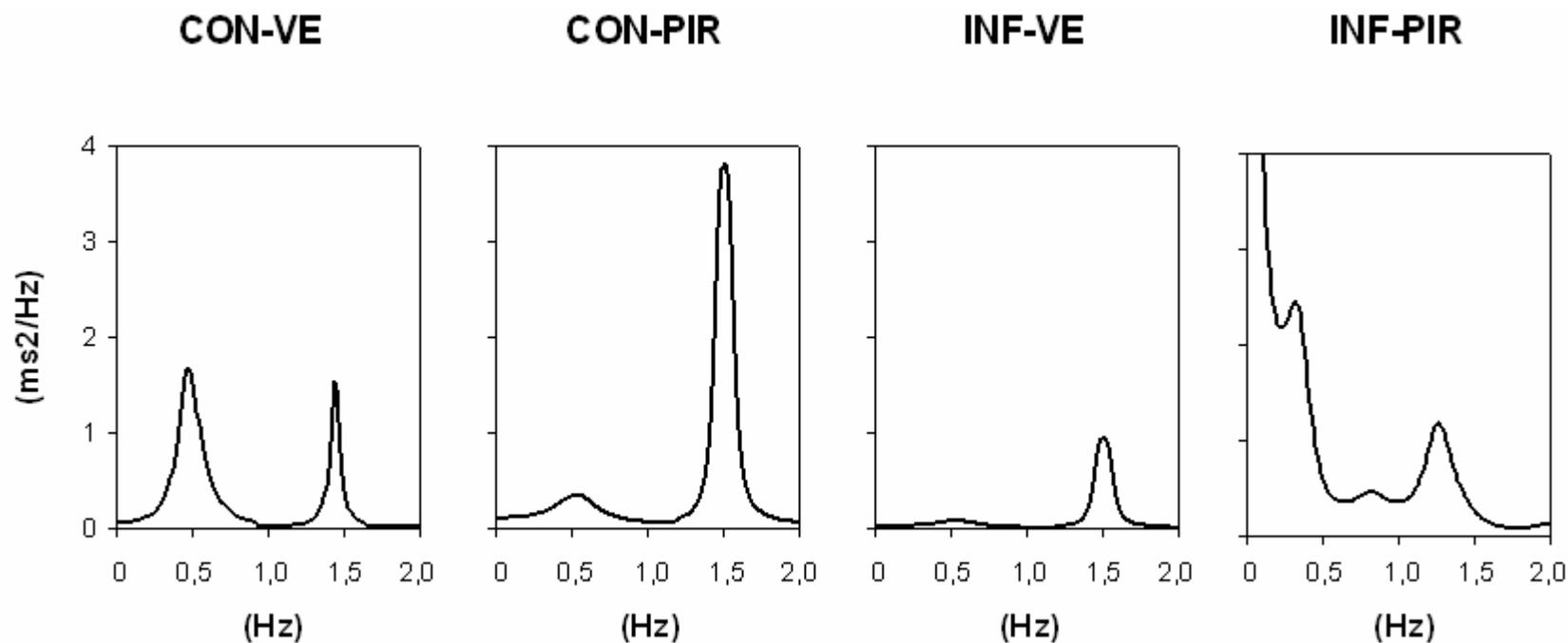


Figura 7: Espectros individuais da variabilidade do intervalo RR de animais representativos dos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). Note o aumento global da variabilidade do iRR no animal representativo do grupo CON-PIR e a redução do componente LF da variabilidade do intervalo RR no grupo INF-VE, bem como a normalização deste parâmetro no animal do grupo INF-PIR.

Tabela 4: Valores médios (\pm e.p.m.) da pressão arterial sistólica (PAS), da variância e dos componentes espectrais VLF, LF e HF da variabilidade da PAS coletados em ratos acordados controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR).

	CON-VE (n=11)	CON-PIR (n=13)	INF-VE (n=10)	INF-PIR (n=12)
PAS(mmHg)	132,8 \pm 3,1	132,7 \pm 4,7	115,6 \pm 5,0* &	107,3 \pm 11,1* &
Variância (mmHg)²	15,4 \pm 2,2	13,6 \pm 2,6	8,9 \pm 1,5 *	16,4 \pm 6,4
VLF(mmHg)²	4,0 \pm 0,6	6,3 \pm 1,0	3,2 \pm 0,7	6,6 \pm 3,2
LF (mmHg)²	9,7 \pm 1,8	5,7 \pm 1,3	3,4 \pm 0,9 *	4,5 \pm 1,6
HF (mmHg)²	1,6 \pm 0,2	1,6 \pm 0,4	2,2 \pm 0,3	5,1 \pm 2,3
LF/HF	7,44 \pm 1,41	7,02 \pm 1,79	1,98 \pm 0,52 *	2,04 \pm 0,59

iRR = Intervalo RR; VLF = Componente de muito baixa frequência; LF = componente de baixa frequência; LF (nu) = Componente de baixa frequência normalizado; HF = Componente de alta frequência; HF (nu) = Componente de alta frequência normalizado, * P < 0,05 em relação ao grupo CON-VE; # P < 0,05 em relação ao grupo INF-VE; & P < 0,05 em relação ao grupo CON-PIR

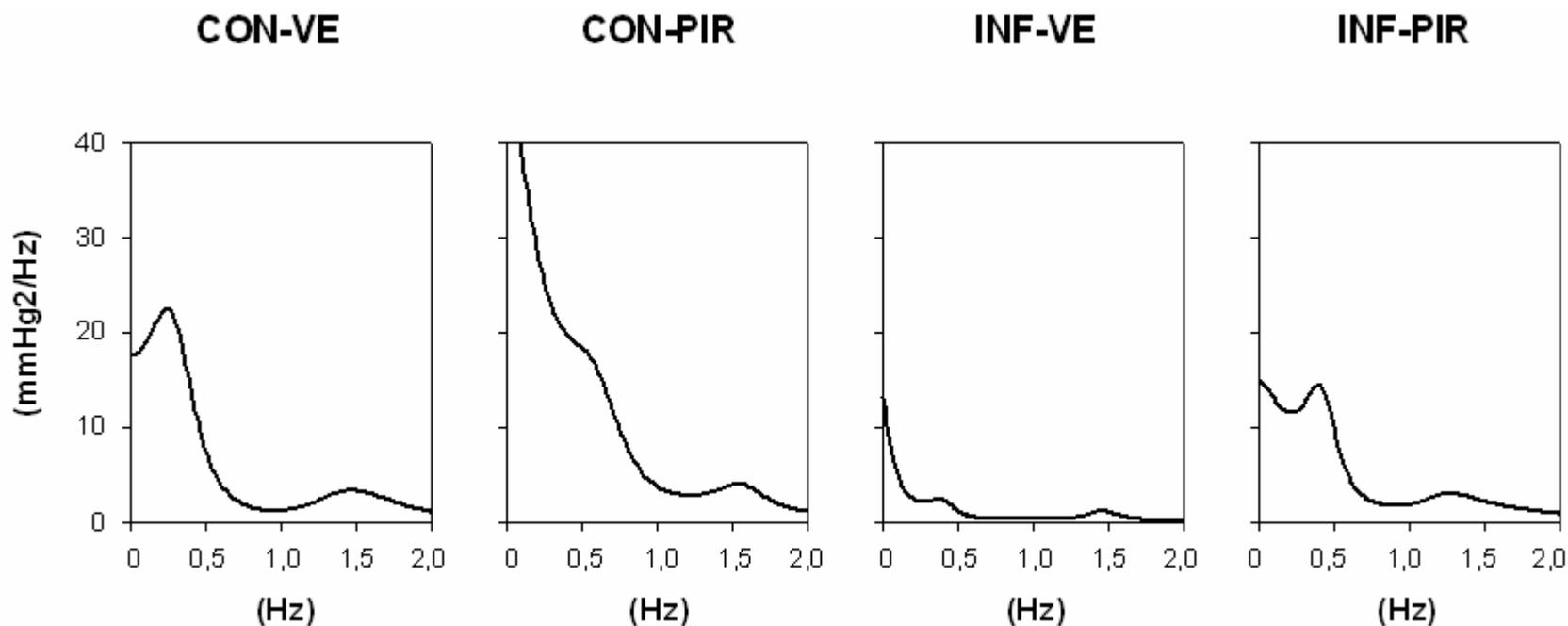


Figura 8: Espectros individuais da variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) de animais representativos dos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). Note a queda da variância e do componente LF no animal infartado veículo (INF-VE) e a normalização destes parâmetros no animal infartado tratado com brometo de peiridostigmina

Ao se avaliar as arritmias cardíacas nos traçados basais de ECG continuamente monitorado em animais acordados, pode-se verificar a presença apenas de extrassístoles ventriculares (ESV) isoladas (figura 9). Elas estiveram presentes em 06 (60%) animais infartados não tratados, em comparação com apenas 01 animal controle (9,09%, $p < 0.05$). Já no grupo de animias infartados tratados com brometo de piridostigmina, apenas 02 animais evidenciaram arritmias do tipo extrassístoles ventriculares (16,67%) em comparação com 04 animais (30,77%) do grupo controle tratado com brometo de piridostigmina ($p =$ não significativo). Ao se comparar a frequência de ocorrências de arritmias do tipo extrassístoles ventriculares entre os animais infartados tratados (60%) versus os animais não tratados (16,67%), uma tendência de redução com nível de significância estatística de $p = 0,074$ foi observada (pela aplicação do teste exato de Fisher).

Ao quantificar-se o número de extra-sístoles ventriculares isoladas ao longo do período de registro basal de 30 minutos, verificou-se uma frequência de extrassístoles ventriculares significativamente maior nos animais infartados não tratados ($20,10 \pm 11,15$ ESV/30min.) em comparação aos animais controles não tratados ($0,18 \pm 0,18$ ESV/30min., $p < 0,05$). O tratamento com brometo de piridostigmina não modificou a contagem de extrassístoles venticulares em animais controles ($0,36 \pm 0,14$ ESV/30min, $p =$ não significativo versus grupo controle não tratado). Já nos animais infartados tratados com o brometo de piridostigmina, a contagem de extrassístoles ventriculares foi de $2,75 \pm 2,13$ ESV/30 min., significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo infartado não tratado com brometo de peiridostigmina. A figura 9 abaixo mostra dois traçados eletrocardiográficos típicos de um animal infartado tratado e de um animal infartado não tratado com brometo de piridostigmina. Note o aspecto aberrante e alargado do complexo QRS característico de extrassístole ventricular no animal infartado não tratado.

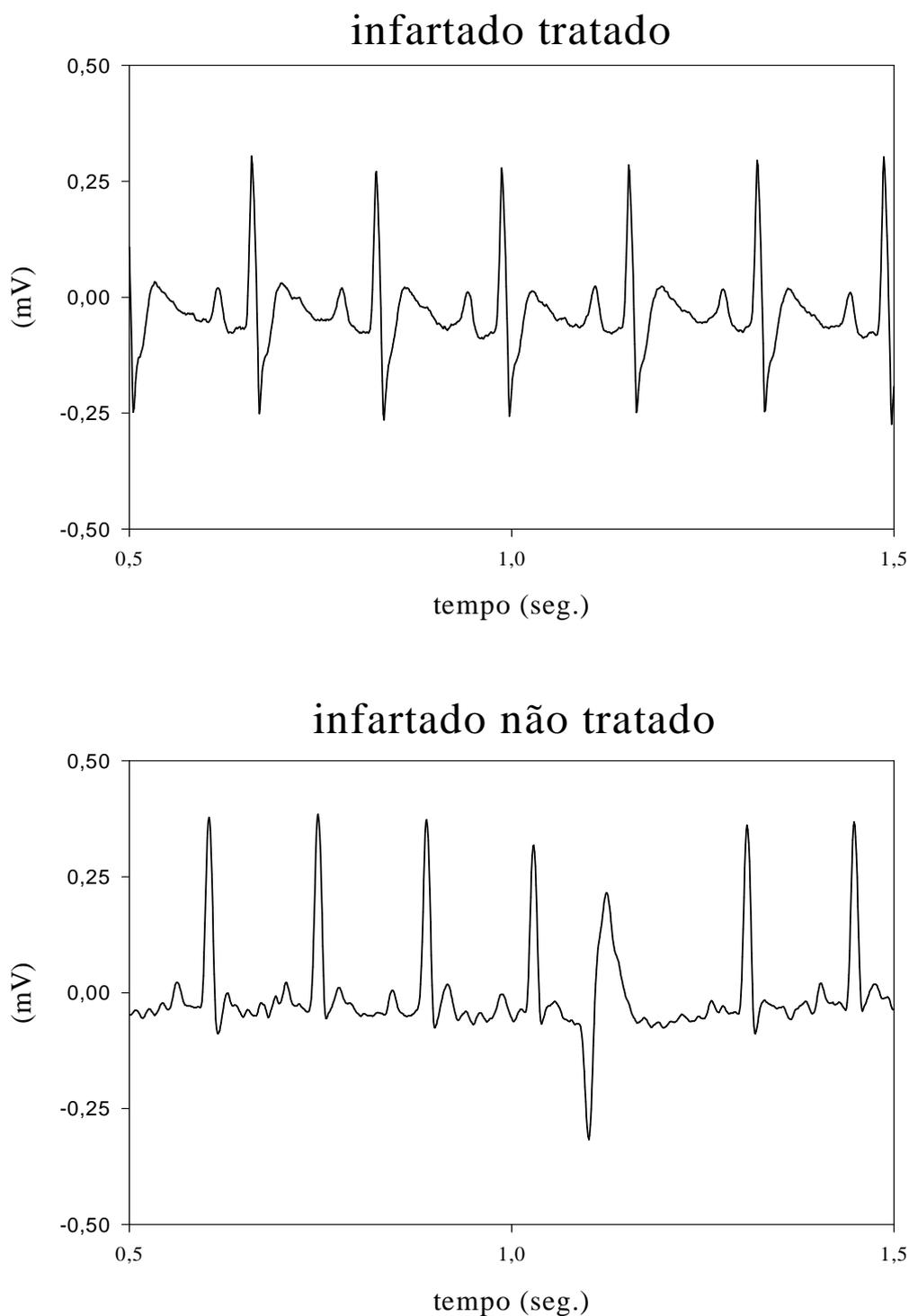


Figura 9: Traçados eletrocardiográficos de dois animais representativos dos grupos infartados tratados ou não com brometo de piridostigmina. Note a extrassístole ventricular isolada no animal infartado não tratado.

As sensibilidades barorreflexas cardíacas, avaliadas pelas respostas de bradicardia e taquicardia reflexas à elevação e redução na pressão arterial após fenilefrina e nitroprussiato de sódio, respectivamente, podem ser observados na tabela 5 e figura 10. Pode-se verificar uma significativa redução da sensibilidade barorreflexa à fenilefrina nos animais com ICC pós-infarto do miocárdio não tratado, quando comparados aos seus respectivos controles. O tratamento com o brometo de piridostigmina elevou a sensibilidade barorreflexa da resposta de bradicardia em ambos os grupos controle (CON-PIR) e infartado (INF-PIR). Em adição, não houve diferença entre os grupos quanto à sensibilidade barorreflexa para a resposta taquicárdica após injeção do nitroprussiato de sódio. Uma tendência de redução da sensibilidade barorreflexa da resposta taquicárdica foi verificada nos animais infartados não tratados quando comparados aos animais controles não tratados ($p = 0,071$).

Tabela 5: Valores médios (\pm e.p.m.) da sensibilidade barorreflexa calculada para as respostas de bradicardia e taquicardia reflexas nos grupos controle (CON) e infartado (INF), tratados ou não (VE) com o brometo de piridostigmina (PIR).

	CON-VE (n=11)	CON-PIR (n=13)	INF-VE (n=10)	INF-PIR (n=12)
Sensibilidade Bradicardia (ms/mmHg)	-1,42 \pm 0,29	-2,26 \pm 0,13*	-0,71 \pm 0,13* &	-2,25 \pm 0,31#
Sensibilidade Taquicardia (ms/mmHg)	-3,25 \pm 0,17	-2,59 \pm 0,14	-1,68 \pm 0,46	-3,53 \pm 1,07

* $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-VE. # $P < 0,05$ em relação ao grupo INF-VE.

& $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-PIR

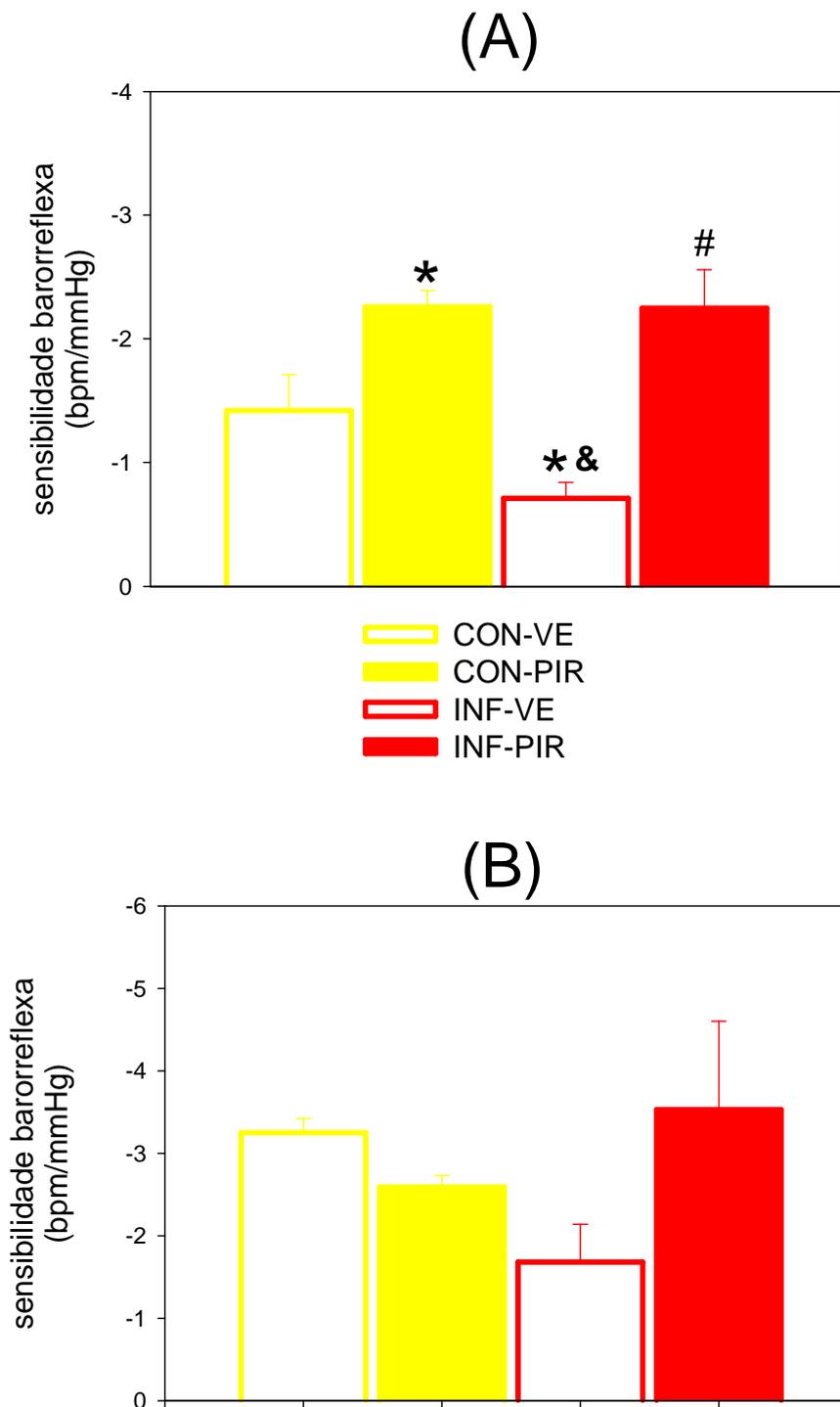


Figura 10: Gráficos de barra representando a sensibilidade barorreflexa cardíaca para as respostas de bradicardia reflexa (A) e taquicardia reflexa (B) nos vários grupos identificados na figura. * $P < 0,05$ versus CON-VE; # $p < 0,05$ versus INF-VE; & $p < 0,05$ versus CON-PIR.

Em relação ao controle autonômico tônico, avaliado pelo bloqueio farmacológico com atropina e propranolol, a tabela 6 mostra os valores basais da FC antes do duplo bloqueio autonômico e os valores da FC intrínseca de marcapasso, após o duplo bloqueio autonômico. Também podem ser evidenciados os valores dos efeitos vagal e simpático, calculados pela diferenças entre as frequências cardíacas após a atropina e o propranolol, respectivamente, em relação aos valores basais de frequência cardíaca. Além disso, foi também estimado o índice simpato-vagal cardíaco tônico (ISV), dado pela razão entre a FC basal e a FC intrínseca de marcapasso, o qual permite uma avaliação do balanço tônico simpático e vagal cardíaco. Pode-se notar uma significativa redução no efeito vagal cardíaco, além de um aumento significativo no índice simpato-vagal cardíaco nos animais infartados não tratados, comparados aos animais controles não tratados (tabela 6). O tratamento com brometo de piridostigmina nos animais infartados tendeu a aumentar o efeito vagal cardíaco, ainda que não significativamente, em comparação aos animais infartados não tratados (tabela 6). Os efeitos do infarto e do tratamento sobre a resposta da FC ao bloqueio farmacológico com propranolol (efeito simpático) não foram significativos. A frequência intrínseca de marcapasso cardíaca (FIMC) não sofreu modificações decorrentes do infarto do miocárdio. Em adição, o tratamento com brometo de piridostigmina aparentemente também não modifica a FIMC, tanto nos animais controles quanto nos infartados (tabela 6). O índice simpato-vagal cardíaco tônico (ISV) foi maior nos animais infartados não tratados em comparação com seus respectivos controles. O tratamento com o brometo de piridostigmina não reduziu o índice simpato-vagal cardíaco nos animais infartados (tabela 6).

Tabela 6: Valores médios (\pm e.p.m.) da frequência cardíaca basal, após atropina e após propranolol administrados em duas seqüências alternadas nos animais controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). Este procedimento permite o cálculo dos efeitos vagal e simpático, bem como da frequência intrínseca de marcapasso cardíaco (FIMC) e do índice simpato-vagal cardíaco tônico (ISV).

	CON-VE	CON-PIR	INF-VE	INF-PIR
<i>Bloqueio Autonômico</i>				
<i>Atropina – Propanolol</i>	(n=6)	(n=5)	(n=4)	(n=5)
FC basal	320,0 \pm 5,3	347,3 \pm 8,1	363,1 \pm 18,5 *	344,9 \pm 12,0
FC após atropina	391 \pm 7,3	438,4 \pm 15,5	389,3 \pm 20,1	397,6 \pm 9,1
Efeito Vagal	71,0 \pm 6,8	91,1 \pm 10,5	26,2 \pm 13,6 *	52,7 \pm 12,7 ^{&}
<i>Bloqueio Autonômico</i>				
<i>Propanolol – Atropina</i>	(n=4)	(n=7)	(n=3)	(n=4)
FC basal	326,0 \pm 17,0	343,5 \pm 11,2	350,8 \pm 19,5*	380,4 \pm 12,1*
FC após propanolol	333,5 \pm 20,7	311,2 \pm 9,4	314,7 \pm 14,1	370,5 \pm 11,9*
Efeito Simpático	7,5 \pm 5,2	-32,3 \pm 8,8	-36,1 \pm 33,1	-15,2 \pm 3,1
FIMC	375,3 \pm 12,2	360,9 \pm 6,6	352,9 \pm 11,5	365,0 \pm 21,2
ISV	0,86 \pm 0,05	0,96 \pm 0,03	1,02 \pm 0,06 *	1,03 \pm 0,05*

FC = Frequência Cardíaca; FIMC = Frequência intrínseca de Marcapasso Cardíaco; ISV = Índice Simpático Vagal; * P < 0,05 em relação ao grupo CON-VE; & p < 0,05 em relação ao grupo CON-PIR.

Os valores medidos durante o estudo hemodinâmico do ventrículo esquerdo podem ser vistos na tabela 7 e na figura 11, onde pode-se observar que a ICC nos ratos infartados não tratados levou a uma significativa elevação da pressão diastólica final do VE ($16,90 \pm 2,65$ mmHg versus $7,71 \pm 1,58$ mmHg nos controles, $p < 0,008$), bem como uma menor velocidade de contração (dP/dt máxima) e relaxamento do VE (dP/dt mínima), quando comparado aos animais controles não tratados, indicando uma insuficiência ventricular esquerda, a qual se ajusta aos dados de morfometria da área fibrótica cicatrial observada nos corações destes animais. O tratamento com brometo de piridostigmina nos animais controles não modificou os parâmetros hemodinâmicos ventriculares dos animais estudados. Nos animais infartados, da mesma forma, o brometo de piridostigmina não modificou a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, a dP/dt máxima e a dP/dt mínima do ventrículo esquerdo (tabela 7, figura 11).

Tabela 7: Valores médios (\pm epm) da PDFVE, dP/dt Max e dP/dt min nos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR).

	CON-VE (n=8)	CON-PIR (n=7)	INF-VE (n=6)	INF-PIR (n=5)
PDFVE(mmHg)	$7,7 \pm 1,6$	$6,0 \pm 1,2$	$16,9 \pm 2,7$ * &	$18,3 \pm 3,7$ * &
dP/dt máxima (mmHg/s)	$8179,8 \pm 599,7$	$8923,5 \pm 1361,3$	$4822,5 \pm 371,1$ *	$5744,0 \pm 1258,6$
dP/dt mínima (mmHg/s)	$-5829,5 \pm 333,1$	$-6543,3 \pm 1161,8$	$-3569,7 \pm 388,6$ *	$-3838,7 \pm 630,6$ *

PDFVE = Pressão Diastólica Final do Ventrículo Esquerdo; DP/dt máxima = Velocidade Máxima de Contração; DP/dt mínima = Velocidade Máxima de Relaxamento; * $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-VE;

& $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-PIR.

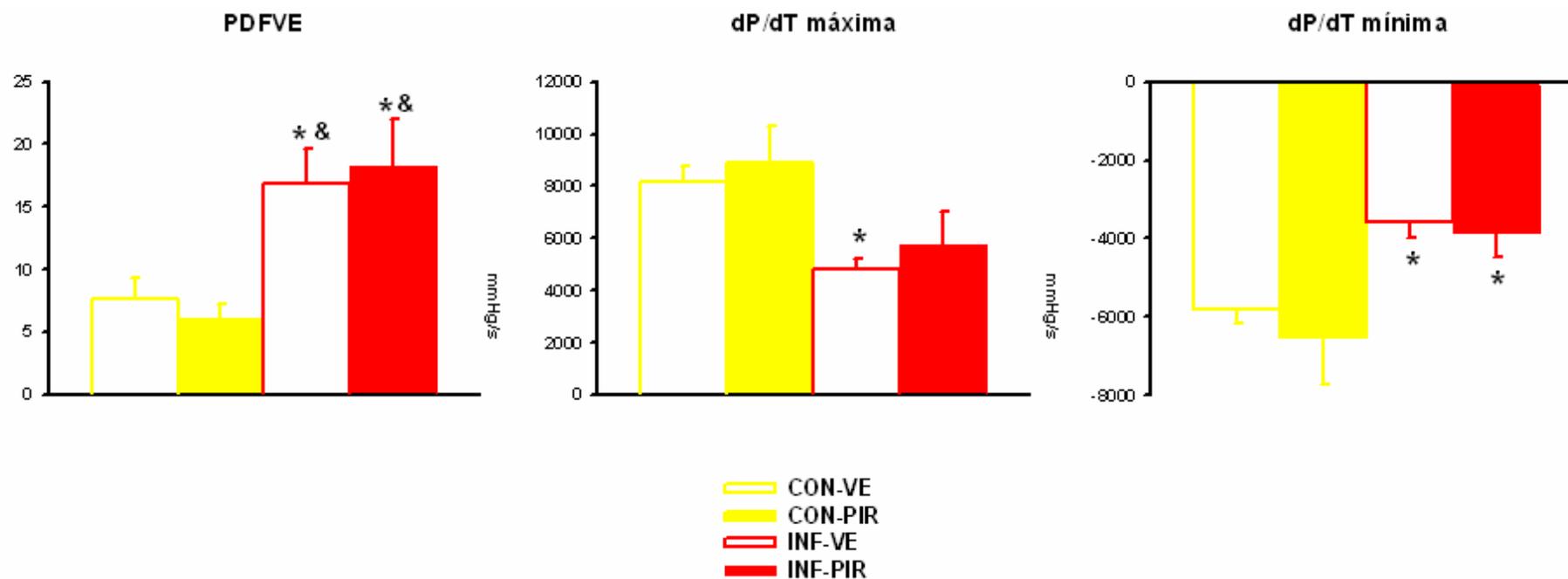


Figura 11: Valores médios (\pm e.p.m.) da PDFVE, dP/dt Max e dP/dt min nos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). (PDFVE = Pressão Diastólica Final do Ventrículo Esquerdo; DP/dt máxima = Velocidade Máxima de Contração; DP/dt mínima = Velocidade Máxima de Relaxamento; * $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-VE; & $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-PIR).

A tabela 8 mostra os valores dos pesos corporais finais, bem como dos pesos absolutos e relativos do coração coletados ao final do protocolo experimental nos quatro grupos experimentais. Note o aumento dos pesos cardíacos absolutos e relativos nos animais infartados tratados com o brometo de piridostigmina em relação aos demais grupos (tabela 8 e figura 12).

Tabela 8: Valores médios (\pm EPM) do peso corporal final e dos pesos absoluto e relativo do coração nos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR).

	CON-VE (n=11)	CON-PIR (n=13)	INF-VE (n=10)	INF-PIR (n=12)
Peso final (g)	454,6 \pm 18,1	410,0 \pm 15,6	442,9 \pm 12,7	390,5 \pm 8,2
Peso cardíaco (g)	1,53 \pm 0,06	1,47 \pm 0,08	1,56 \pm 0,06	1,90 \pm 0,14*#&
Peso cardíaco relativo (mg/g)	3,33 \pm 0,08	3,61 \pm 0,19	3,57 \pm 0,20	4,84 \pm 0,32*#&

* P < 0,05 em relação ao grupo CON-VE. # P < 0,05 em relação ao grupo INF-VE.

& P < 0,05 em relação ao grupo CON-PIR

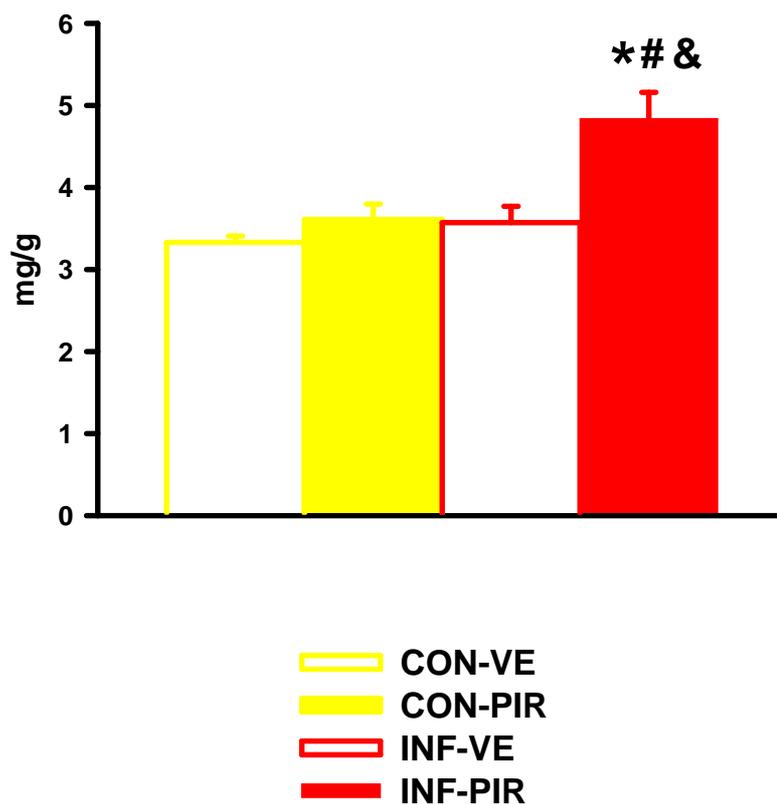


Figura 12: Valores médios (\pm e.p.m.) do peso cardíaco relativo (em mg/g) nos grupos controles (CON) ou infartados (INF) tratados ou não (VE) com brometo de piridostigmina (PIR). (* $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-VE; # $P < 0,05$ em relação ao grupo INF-VE; & $P < 0,05$ em relação ao grupo CON-PIR).

Como descrito anteriormente, os animais infartados não tratados evidenciaram um valor médio final de fibrose cicatricial pós-infarto de $37,15 \pm 4,74\%$ da circunferência ventricular esquerda, enquanto os infartados tratados com brometo de piridostigmina mostraram um valor médio final de fibrose cicatricial pós-infarto de $40,93 \pm 3,34\%$ ($p =$ não significativo). O tamanho da cicatriz pós-infarto quantificado no grupo infartado não tratado foi marcadamente maior que o observado no grupo controle não tratado ($37,15 \pm 4,74\%$ versus $2,51 \pm 0,76\%$, respectivamente, $p < 0,001$). O mesmo foi observado em relação aos animais infartados tratados com brometo de piridostigmina, em que o tamanho de infarto de $40,93 \pm 3,34\%$ foi marcadamente maior que a cicatriz no grupo controle tratado (de $0,39 \pm 0,30\%$, $p < 0,001$). A figura 13 ilustra cortes transversais do coração de quatro animais representativos, um controle não tratado (CON-VE), um controle tratado com brometo de piridostigmina (CON-PIR), um infartado não tratado (INF-VE) e outro infartado tratado (INF-PIR), onde pode ser evidenciado uma área cicatricial considerável acometendo cerca de metade da circunferência do ventrículo esquerdo em ambos os animais infartados. Pode-se evidenciar também a dilatação ventricular esquerda conseqüente ao infarto do miocárdio.

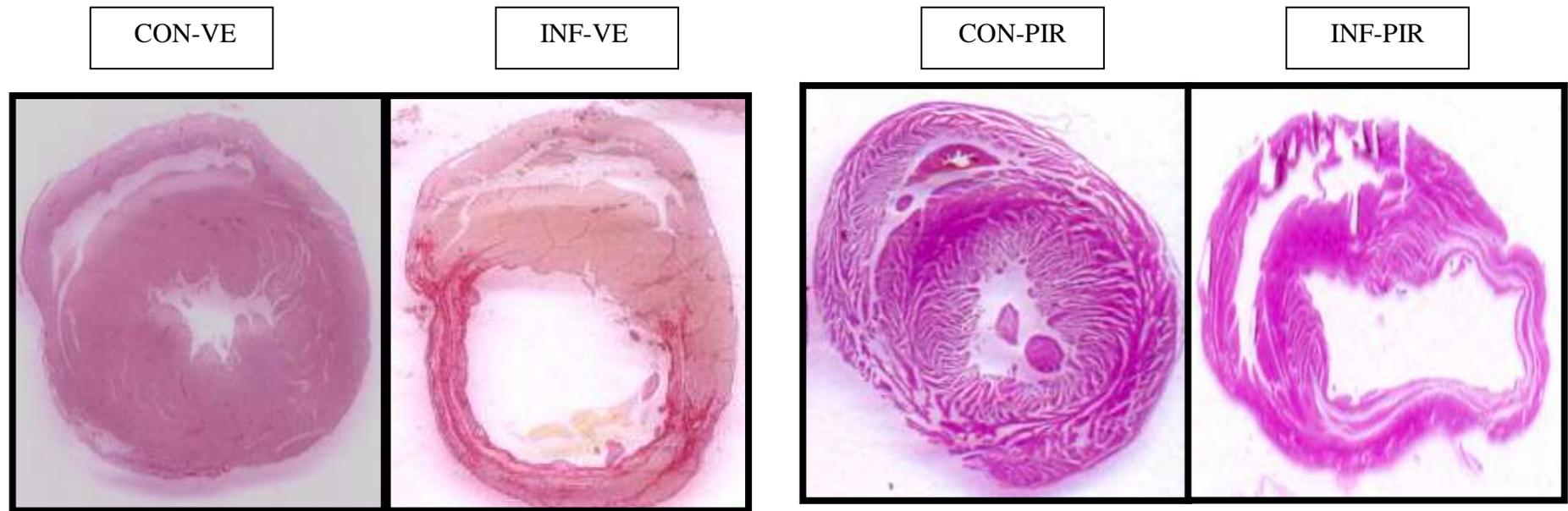


Figura 13: Secção miocárdica ventricular média transversal de um animal controle não tratado (CON-VE), um controle tratado com brometo de piridostigmina (CON-PIR), de um infartado não tratado (INF-VE) e outro infartado tratado (INF-PIR). A grande área vermelha entre as setas indicam a marcação de fibrose pelo picosirius red, indicando o tecido cicatricial pós-infarto (aumento: x 10).

Após a coloração histológica por meio da hematoxilina e eosina das secções transversais dos corações ao nível dos ventrículos, uma avaliação morfológica qualitativa foi efetuada nos quatro grupos estudados. A avaliação histológica foi feita na região do septo interventricular, região diametralmente oposta à região infartada do ventrículo esquerdo, e portanto, sem a provável influência do processo isquêmico, porém suscetível às alterações histo-patológicas associadas ao remodelamento do miocárdio remoto à lesão. A figura 14 mostra as três camadas básicas do ventrículo esquerdo. A primeira delas é a estrutura equivalente à túnica íntima dos vasos, que é o endocárdio (E), uma camada delgada situada no interior do ventrículo. A camada equivalente à túnica média é o miocárdio (M), constituído por músculo cardíaco e os músculos papilares (MP), que são extensões do miocárdio e se projetam para dentro da cavidade do ventrículo esquerdo. São pontos de fixação para as cordas tendíneas nos quais prendem as válvulas ventriculares. A camada equivalente a túnica adventícia é o epicárdio ou pericárdio visceral (P).

A descrição qualitativa dos principais alterações histológicas observadas nos quatro grupos experimentais segue abaixo.



Figura 14: Corte histológico corado por picrossirius red da região do septo interventricular entre os ventrículo esquerdo (VE) e direito (VD), mostrando o pericárdio visceral (P), o miocárdio (M) e os músculos papilares (MP). Aumento de 20X

1-Grupo controle veículo (CON-VE):

No corte longitudinal da figura 15, corte B, as células musculares estriadas cardíacas contêm um ou dois núcleos e um citoplasma que se ramifica para dar um aspecto de uma rede contínua tridimensional. Os núcleos alongados estão localizados principalmente na região central. Delgados fios de tecido conjuntivo correm entre as fibras, juntamente com um extenso suprimento capilar. As fibras musculares cardíacas formam uma rede interconectada, unidas umas às outras por discos intercalares. No corte transversal (C) da figura 15 pode-se ver uma rede capilar em íntima associação com as fibras do miocárdio. Infiltrado inflamatório e degeneração celular estão ausentes.

2-Grupo controle tratado com brometo de piridostigmina (CON-PIR)

As três camadas básicas do ventrículo esquerdo são mostradas na figura 15 (corte D). O endocárdio (E) parece invaginar pra dentro do miocárdio assim como os músculos papilares parecem invaginar para dentro do endocárdio. A área da região intercelular parece aumentada, diminuindo a compactação celular na região do miocárdio (figura 15 , corte D).

No corte longitudinal (figura 15, E), as células musculares estriadas cardíacas contêm um ou dois núcleos e um extenso citoplasma que se ramifica para dar um aspecto de uma rede contínua tridimensional. Os núcleos alongados estão localizados principalmente na região central e há um aumento do citoplasma celular que são vistas através de um abaulamento celular normalmente no centro da fibra cardíaca. Os fios de tecido conjuntivo que correm entre as fibras aparecem mais delgados. Infiltrado inflamatório e degeneração celular estão ausentes. No corte transversal (figura 15, F) pode-se ver um aumento do espaço intercelular e irregularidade nos contornos celulares.

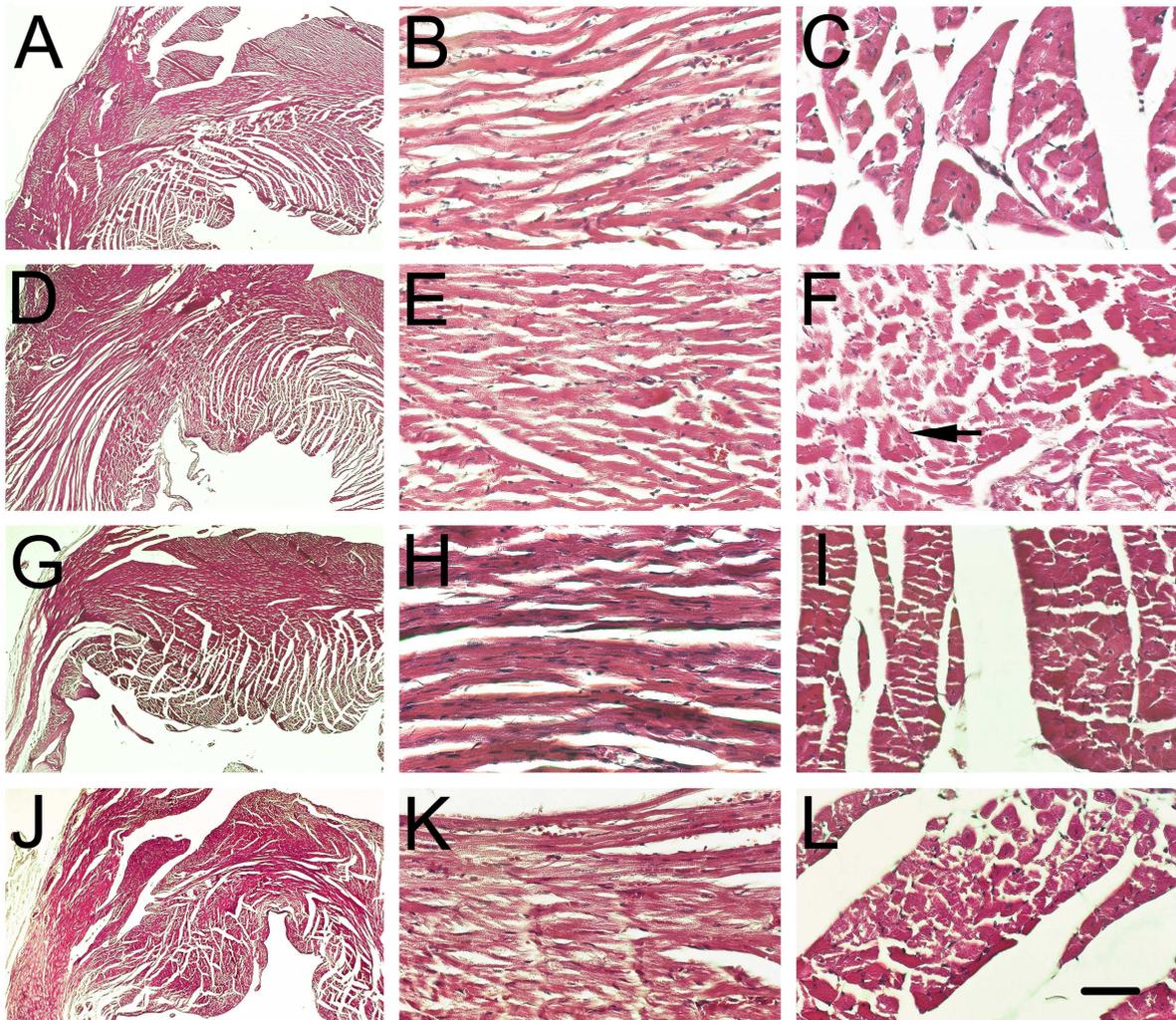


Figura 15: Aspecto morfológico do coração corado por hematoxilina e eosina na região do septo interventricular dos quatro grupos estudados em dois diferentes aumentos. Aumento de 32x: (A): grupo controle veículo, (D): controle tratado, (G): infartado veículo e (J): infartado tratado. Aumento de 40x na região central do septo em cortes longitudinais e transversais, respectivamente: (B,C): grupo controle veículo, (E,F): controle tratado, (H,I): infartado veículo e (K,L): infartado tratado. (A, D, G, J) Barra = 400 μ m; (B, C, E, F, H, I, K, L) Barra = 25 μ m. Seta indica um cardiomiócito ventricular isoado em corte transversal.

3-Grupo infartado veículo (INF-VE)

As três camadas básicas do ventrículo esquerdo (figura 15, corte G), o endocárdio (E), miocárdio (M) e os músculos papilares (MP) se assemelham ao grupo veículo controle, porém mais compactadas dando uma impressão de maior condensação celular na região. Nos cortes longitudinais, as células musculares estriadas cardíacas contêm um ou dois núcleos e um diminuição do citoplasma deixando as fibras mais finas com o deslocamento de alguns núcleos para a periferia e uma visível condensação do citoplasma (figura15, corte H). Há um aumento do espessamentos dos fios de tecido conjuntivo entre as fibras. No corte transversal (figura 15, I) pode-se ver uma nítida condensação do citoplasma, uma diminuição do diâmetro celular , um afinamento das fibras cardíacas com diminuição dos núcleos.

4-Grupo infartado tratado com brometo de piridostigmina (INF-PIR)

Nas três camadas básicas do ventrículo esquerdo, o endocárdio invagina para dentro do miocárdio assim como os músculos papilares invaginam para dentro do endocárdio. A região intercelular parece aumentada com nítidos espaços esbranquiçados dando um aspecto de diminuição da compactação celular na região central do miocárdio septal (figura15, corte J). No corte longitudinal, as células musculares estriadas cardíacas contêm um ou dois núcleos e um extenso citoplasma que chega a abaular em algumas células do corte. Há uma certa irregularidade no contorno celular, dando um aspecto de indefinição no limite de cada célula, além de um aumento do espaço intercelular (figura15, corte K). Os fios de tecido conjuntivo que ocorrem entre as fibras parecem mais delgados. No corte transversal (figura 15, F) pode-se ver um nítido aumento do espaço intercelular, assim como um aumento intracelular. As células apresentam-se maiores com um citoplasma mais abaulado.

5 DISCUSSÃO

O principal propósito do presente estudo foi avaliar os eventuais efeitos da estimulação colinérgica prolongada com o brometo de piridostigmina sobre a função autonômica cardiovascular em ratos com insuficiência cardíaca congestiva decorrente do infarto do miocárdio. Para tal o presente estudo utilizou diferentes ferramentas metodológicas de avaliação do sistema nervoso autônomo cardiovascular, como 1) a análise de variabilidade da frequência cardíaca (intervalo RR) e da pressão arterial (por meio da análise espectral), para se estudar a modulação autonômica cardiovascular; 2) o teste do reflexo barorreceptor cardíaco, para se investigar as respostas autonômicas cardiovasculares reflexas e 3) o bloqueio farmacológico com atropina e propranolol, para se estudar o comportamento tônico do sistema nervoso autônomo cardíaco. Usando o modelo de insuficiência cardíaca pós-infarto do miocárdio em ratos, o presente estudo evidenciou que o tratamento prolongado (06 semanas) com o brometo de piridostigmina foi capaz de restabelecer a modulação LF reduzida da variabilidade da FC e potenciar a sensibilidade barorreflexa cardíaca (via aumento das respostas de bradicardia reflexa à fenilefrina), sem, entretanto, modificar o comportamento tônico autonômico para o coração. Tais modificações foram associadas uma significativa redução de incidência de arritmias cardíacas ventriculares (extrassístoles ventriculares) nos animais infartados tratados com o brometo de piidostigmina. Ainda que tais efeitos pareçam ser benéficos, o tratamentoo prolongado com o brometo de piridostigmina não foi capaz de melhorar a disfunção hemodinâmica ventricular esquerda, bem como as alterações morfológicas observadas nos ratos infartados.

O modelo de insuficiência cardíaca congestiva pós-infarto do miocário em ratos, embora amplamente estudado quanto aos vários aspectos relacionados à fisiopatologia

da insuficiência cardíaca (PFEFFER *et al.*, 1979; 1985; FLETCHER *et al.*, 1981; JOHNSTON, MCLEOAD, WALKER, 1983; CURTIS, MCLEOAD, WALKER, 1987, DECK *et al.*, 1992; DI BONA, SWAIN, 1994; OPTIZ *et al.*, 1995), tem sido muito pouco investigado em relação à variabilidade cardiovascular e controle autonômico. (TEERLINK; CLOZEL, 1993; KRÜGER *et al.*, 1997; 2000, HENZE *et al.*, 2008; TOBALDINI *et al.*, 2009; MOSTARDA *et al.*, 2009).

O estudo da variabilidade cardiovascular em seres humanos portadores de insuficiência cardíaca congestiva, tem revelado o enorme potencial dos parâmetros de variabilidade como marcadores de risco de eventos arrítmicos graves e de mortes cardíacas associadas à insuficiência cardíaca congestiva. (KLEIGER *et al.*, 1987; MORTARA *et al.*, 1994; VAN DE BORNE *et al.*, 1997; SZABO *et al.*, 1997; GALINIER *et al.*, 2000; LA ROVERE *et al.*, 2003; KUCH *et al.*, 2009). Porém, as razões que explicam a reconhecida habilidade destes marcadores de risco, são muito pouco entendidas. Assim sendo, a caracterização das alterações da variabilidade cardiovascular no modelo animal de insuficiência cardíaca congestiva em ratos, seria de grande valor no entendimento dos mecanismos responsáveis pela variabilidade cardiovascular no contexto da insuficiência cardíaca congestiva.

Os principais achados do presente estudo são que a indução experimental de infarto do miocárdio por ligadura da artéria coronária descendente anterior, ao provocar uma lesão e necrose de considerável extensão, leva ao desenvolvimento de um quadro de insuficiência cardíaca congestiva nos animais. Este quadro se caracterizou, após 06 semanas de acompanhamento, por uma taquicardia persistente em condições basais associada a uma significativa redução da pressão arterial sistêmica. Estas alterações nos valores basais de FC e PA foram associadas a alterações significativas nos parâmetros de variabilidade cardiovascular. O tratamento prolongado com o brometo de

piridostigmina não modificou o comportamento da FC e da PA basais, tanto em animais controles quanto em animais infartados. Os achados nos parâmetros basais de FC e PA nos ratos controles tratados estão de acordo com dados obtidos em ratos e camundongos normais tratados com o brometo de piridostigmina (SOARES *et al.*, 2004, JOAQUIM *et al.*, 2004). Os valores basais de frequência cardíaca dos animais infartados tratados ou não com o brometo de piridostigmina foram maiores em relação aos animais controle, indicando um deslocamento do controle autonômico cardíaco em direção a uma preponderância da atividade simpática e/ou uma atenuação da atividade vagal cardíaca ou uma eventual alteração na frequência intrínseca do marcapasso cardíaco (nó sinusal).

Quanto à variabilidade da frequência cardíaca, embora inalterada em valores absolutos, observou-se nos animais infartados não tratados uma alteração na contribuição relativa dos dois componentes espectrais de maior interesse: uma elevação significativa do componente HF e uma redução sensível do componente LF e da relação LF/HF. Quanto à pressão arterial, observou-se nos animais infartados não tratados uma redução significativa da variância e do componente LF da variabilidade da pressão arterial. Ambas as alterações nos animais infartados não tratados foram associadas a uma significativa redução da sensibilidade barorreflexa da resposta de bradicardia à fenilefrina e de uma redução do tônus vagal cardíaco avaliado por meio de bloqueio farmacológico. Estes achados foram semelhantes aos encontrados em alguns trabalhos realizados em seres humanos ((KLEIGER *et al.*, 1987; MORTARA *et al.*, 1994; VAN DE BORNE *et al.*, 1997; SZABO *et al.*, 1997; GALINIER *et al.*, 2000; LA ROVERE *et al.*, 2003; KUCH *et al.*, 2009).

A análise de variabilidade da frequência cardíaca tem se constituído em uma acurada ferramenta de estimação do controle autonômico da frequência cardíaca em seres humanos (KLEIGER *et al.*, 1987; LOMBARDI *et al.*, 1987; SCHWEIZER *et al.*,

1993; MALLIANI *et al.*, 1991; MALLIANI, PAGANI, LOMBARDI, 1994; MONTANO *et al.*, 1994; TASK FORCE, 1996), bem como em cães (RIMOLDI *et al.*, 1990; ADAMSON *et al.*, 1994) e ratos (AKSELROD *et al.*, 1987; ALPER, JACOB, BRODY, 1987; FERRARI *et al.*, 1987; 1996; CERUTTI *et al.*, 1991; MURPHY, SLOAN, MYERS, 1991; RUBINI *et al.*, 1993; BROWN *et al.*, 1994; CERUTTI, BARRES, PAULTRE, 1994; KUWAHARA *et al.*, 1994).

No domínio do tempo, uma redução da variância ou do desvio padrão (a raiz quadrada da variância) dos intervalos RR sucessivos, é indicativa de uma modulação vagal diminuída. (KLEIGER *et al.*, 1987; FARREL *et al.*, 1992). No domínio da frequência, uma potência reduzida do componente HF tem sido associada a uma redução na modulação vagal cardíaca enquanto o componente LF tem sido associado a uma modulação conjunta tanto simpática quanto parassimpática vagal. (AKSELROD *et al.*, 1981; MALLIANI *et al.*, 1991; MALLIANI, PAGANI, LOMBARDI, 1994; MONTANO *et al.*, 1994; TASK FORCE, 1996). Nos animais infartados não tratados com insuficiência cardíaca após 06 semanas, nós não encontramos diferenças significativas quanto aos valores absolutos da variabilidade total (medido como variância), nem nos valores absolutos dos componentes espectrais VLF, LF e HF, embora uma tendência de redução de LF absoluto fosse observada. Uma possível explicação para esta ausência de alterações, pode ser a grande variabilidade inter-individual dos parâmetros espectrais de variabilidade da frequência cardíaca em ratos, um fenômeno descrito na literatura (KUWAHARA *et al.*, 1994).

A correção dos parâmetros espectrais individuais de cada animal pela sua respectiva variância (=variabilidade total), entretanto, evidenciou uma significativa redução do componente LF nos animais infartados não tratados, contribuindo com apenas cerca de 3-4% da variabilidade total do intervalo RR, enquanto nos animais

controle, o componente LF contribuiu com cerca de 11% da variabilidade total. A expressão destes dois parâmetros espectrais foi também medida em unidades normalizadas clássicas, segundo o critério adotado pela Sociedade Européia de Cardiologia e pela Sociedade Norte-Americana de Marcapasso e Eletrofisiologia (TASK FORCE, 1996), no qual o procedimento de normalização envolve o cálculo da contribuição relativa de LF e de HF para variância total subtraída da variabilidade VLF (MALLIANI *et al.*, 1991; TASK FORCE, 1996). Nos animais com insuficiência cardíaca, a normalização acentua ainda mais a redução do componente LF, observado nos animais infartados. Por conta desta redução de LF, o componente HF expresso em unidades normalizadas encontra-se, assim, significativamente aumentado nos animais infartados não tratados.

Estes achados obtidos por nós em ratos infartados não tratados são muito semelhantes aos obtidos em seres humanos com insuficiência cardíaca moderada a grave, em que também o LF, expresso seja em unidades absolutas e/ou normalizadas, encontra-se sensivelmente reduzido. (SAUL *et al.*, 1988; GUZZETTI *et al.*, 1995, 2001, 2002; SZABO *et al.*, 1995; 1997; VAN DE BORNE *et al.*, 1997; NOTARIUS *et al.*, 1999; GALINIER *et al.*, 2000; LA ROVERE *et al.*, 2003, KUCH *et al.*, 2009). Estes resultados aqui descritos, similares aos obtidos por HENZE *et al.* (2008) e MOSTARDA *et al.* (2009) atestam a similaridade entre este modelo do rato e a doença humana. Entretanto, em trabalhos similares publicados por KRÜGER *et al.* (1997) e TOBALDINI *et al.*, 2009, em que ratos foram infartados e a variabilidade da FC foi acompanhada e analisada ao longo da evolução da doença, nenhuma alteração na variabilidade da FC foi observada por meio de análise no domínio do tempo ou da frequência (KRÜGER *et al.*, 1997; TOBALDINI *et al.*, 2009), ainda que TOBALDINI *et al.* (2009), tenham encontrado modificação na variabilidade da FC por meio da

análise simbólica, uma forma de análise não linear. As possíveis razões para as diferenças nos resultados entre o nosso estudo e os de KRÜGER *et al.* (1997) e TOBALDINI *et al.* (2009) não são conhecidas, mas poderiam envolver valores de FC basais relativamente maiores observados naqueles estudos, mesmos nos animais do grupo controle, o que poderia denotar a presença de “stress” decorrente do procedimento cirúrgico ou do próprio registro experimental, o que certamente leva a uma alteração do balanço simpato-vagal cardíaco em condições basais, e dificulta as comparações com os animais infartados, onde o desequilíbrio autonômico detectável por análise espectral seria esperado; ou a diferenças metodológicas na aplicação da análise espectral, ou ainda a diferenças quanto às cepas de ratos empregadas.

Diminuição da variabilidade da frequência cardíaca, tanto no domínio do tempo quanto no domínio da frequência, é uma característica consistente da insuficiência cardíaca (SAUL *et al.*, 1988; KINGWELL *et al.*, 1994; MORTARA *et al.*, 1994; BUTLER; ANDO; FLORAS, 1997; NOTARIUS *et al.*, 1999). Perda da potência espectral tem sido relacionada à severidade da doença, quando avaliada pelas classes funcionais da Associação do Coração de Nova Iorque (“New York Heart Association” – NYHA), embora não haja nenhuma correlação aparente entre a variabilidade da FC e a fração de ejeção ventricular esquerda (KIENZLE *et al.*, 1992; SZABO *et al.*, 1995; ADAMOPOULOS *et al.*, 1992). Na insuficiência cardíaca avançada, a variabilidade da FC é severamente deprimida e o componente LF é virtualmente extinto (SAUL *et al.*, 1988; MORTARA *et al.*, 1994; SZABO *et al.*, 1995; GUZZETTI *et al.*, 1995; VAN DE BORNE *et al.*, 1997; LA ROVERE *et al.*, 2003, KUCH *et al.*, 2009).

Em indivíduos normais, medidas cardiovasculares mostram uma variabilidade de curto prazo que é consistentemente representada por duas frequências oscilatória importantes. O componente HF, em ~0,25 Hz no homem e em ~1,0–1,5 Hz no rato,

oscila em fase com a respiração e o componente LF, em $\sim 0,1\text{Hz}$ no homem e $\sim 0,4\text{Hz}$ no rato, oscila em fase com as ondas vasomotoras de Mayer. (PAGANI *et al.*, 1986; MALLIANI *et al.*, 1991; MALLIANI; PAGANI; LOMBARDI, 1994; VAN DE BORNE *et al.*, 1994; MONTANO *et al.*, 1994; TASK FORCE, 1996). Estas oscilações estão presentes em condições normais e demonstram elevada coerência em registros simultâneos de intervalo RR, pressão arterial e atividade nervosa simpática muscular. (SAUL *et al.*, 1990; MONTANO *et al.*, 1994; PAGANI *et al.*, 1997).

O paradigma tradicional da análise espectral da variabilidade cardiovascular, assegura que atividade simpática aumentada e/ou atividade parassimpática vagal reduzida são acompanhadas por um aumento na predominância relativa da variabilidade LF. (AKSELROD *et al.*, 1981; PAGANI *et al.*, 1986; MALLIANI *et al.*, 1991; PAGANI *et al.*, 1997). Ao contrário, estado de repouso relaxado com conseqüente inibição simpática e tônus vagal elevado se manifesta por uma predominância relativa do componente HF da variabilidade cardiovascular (AKSELROD *et al.*, 1981; PAGANI *et al.*, 1986; MALLIANI *et al.*, 1991; MONTANO *et al.*, 1994; PAGANI *et al.*, 1997). Com a utilização de nitroprusiato de sódio para abaixar a pressão arterial e aumentar as descargas simpáticas, e de fenilefrina usada para elevar a pressão arterial e reflexamente inibir o tônus simpático, este paradigma parece ser verdadeiro para comparações em indivíduos normais dentro de uma mesma sessão de registro. (PAGANI *et al.*, 1997). O uso de unidades normalizadas ou da razão LF/HF provê índices numéricos para seguir as alterações no balanço simpático e vagal cardíacos. (PAGANI *et al.*, 1986; MONTANO *et al.*, 1994; PAGANI *et al.*, 1997).

A insuficiência cardíaca é caracterizada por uma alta atividade simpática dirigida tanto ao coração quanto aos vasos, bem como uma reduzida atividade vagal cardíaca (FERGUSON *et al.*, 1992; KINGWELL *ET AL.*, 1994). Assim, a análise

espectral do intervalo RR, da pressão arterial e da descarga simpática cardíaca e vasomotora, deveria manifestar-se predominantemente com um significativo aumento na potência das oscilações LF.

Entretanto, a maioria dos estudos encontrados na literatura tem revelado que a variabilidade do intervalo RR na insuficiência cardíaca tem, ao contrário, um componente LF e uma razão LF/HF significativamente reduzidos (SAUL *et al.*, 1988; MORTARA *et al.*, 1994; SZABO *et al.*, 1995; GUZZETTI *et al.*, 1995; Van de BORNE *et al.*, 1997; La ROVERE *et al.*, 2003), principalmente numa fase mais avançada da insuficiência cardíaca, com reduções moderadas a grave da função sistólica ventricular. Na insuficiência cardíaca congestiva idiopática ou pós-infarto do miocárdio em estágio inicial ou com leve redução da fração de ejeção, o componente LF pode-se encontrar inalterado (SZABO *et al.*, 1997) ou até mesmo aumentado (GUZZETTI *et al.*, 1995, 2001, 2002). Entretanto, numa fase mais tardia e mais grave da insuficiência cardíaca, um aumento ainda maior da atividade simpática passa a ser associado a uma redução sensível do componente LF da variabilidade da frequência cardíaca (GALINIER *et al.*, 2000; LA ROVERE *et al.*, 2003). Recentemente, GALINIER *et al.* (2000) mostraram que a potência reduzida do componente LF do intervalo RR coletado de registros ECG Holter, independentemente e significativamente, prediziam morte súbita em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva. Em adição, LA ROVERE *et al.* (2003) e mais recentemente KUCH *et al.* (2009), analisando traçados ECG de curta duração ou holter, respectivamente, foram capazes de demonstrar que a potência de LF reduzida (particularmente durante respiração controlada) prediz independentemente morte súbita, presumivelmente arritmica, em paciente com insuficiência cardíaca congestiva. Tomados em conjunto, estes dados mostram o grande valor da potência reduzida do componente LF, como preditivo de risco cardiovascular, fornecendo assim

importante informação prognóstica. Esta informação poderia ser usada na orientação e escolha de modalidades terapêuticas mais adequadas. Os resultados por nós encontrados em ratos com insuficiência cardíaca pós-infarto não tratados são similares aos descritos em seres humanos.

As possíveis razões para o comportamento aparentemente paradoxal da variabilidade LF do intervalo RR na insuficiência cardíaca moderada a severa não são muito bem conhecidas. Uma possível explicação seria a reduzida responsividade do nó sinusal ao estímulo simpático (MALIK, CAMM, 1993; GUZZETTI *et al.*, 1995;). Isto poderia ser decorrente talvez da redução no número de receptores beta-adrenérgicos cardíaco (“downregulation”), conseqüente a uma descarga simpática cardíaca persistentemente alta (NIELSON, VESTAL, 1989; BRISTOW *et al.*, 1991). Como em nosso estudo a resposta cronotrópica beta-adrenérgica cardíaca não foi avaliada nos ratos infartados, esta explicação não pode ser descartada no modelo do rato por nós estudado, embora seja uma explicação pouco provável, já que, como será discutido a seguir, o tônus simpático cardíaco, avaliado por meio de bloqueio farmacológico não se mostrou aumentado em nossos ratos infartados. Além disso, na literatura, a densidade de receptores beta-adrenérgicos cardíacos pode estar preservada (HUANG *et al.*, 1999; PRAHASH *et al.*, 2000), reduzida (SETBI *et al.*, 1997) ou até mesmo aumentada. (VAN VELDHUISEN *et al.*, 1995) no modelo do infarto do miocárdio em ratos.

Uma segunda explicação para a redução do componente LF do intervalo RR na insuficiência cardíaca poderia estar relacionada à perda do comportamento oscilatório da atividade nervosa simpática no estado de hiperatividade simpática vigente na insuficiência cardíaca severa, provavelmente decorrente da saturação de potenciais de ação conduzidos pelas fibras simpáticas ou por uma saturação sináptica ao nível do nó sinusal, o qual perderia a capacidade de manter uma modulação rítmica na faixa de

frequência de LF. (MALIK, CAMM, 1993; MORTARA *et al.*, 1994). Em nosso modelo experimental, porém, o tônus simpático não encontra-se elevado, quando indiretamente medido por bloqueio farmacológico, o que provavelmente enfraquece esta hipótese de explicação da baixa variabilidade LF.

Mais recentemente, Van de Borne *et al.* (1997) e Notarius *et al.* (1999) registraram em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva moderada a severa o intervalo RR e, simultaneamente, a atividade nervosa simpática muscular. Em ambos os trabalhos, a análise espectral das medidas de intervalo RR, bem como da atividade nervosa simpática muscular, mostraram que um componente LF reduzido caracteriza ambas as variabilidades do intervalo RR e da atividade simpática dirigida aos vasos sanguíneos musculares em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva pós-infarto do miocárdio. Um componente LF reduzido ou ausente no intervalo RR, bem como na atividade simpática muscular foi observado em 91% dos casos. (Van de BORNE *et al.*, 1997). Assim, estas anormalidades oscilatórias afetam a saída central do sistema nervoso autônomo em pacientes com insuficiência cardíaca e podem indicar que a ausência de componente LF na variabilidade do intervalo RR não é exclusivamente uma consequência de alterações periféricas na responsividade de órgãos alvo ao estímulo autonômico. (Van de BORNE *et al.*, 1997).

Outro possível mecanismo poderia ser o efeito central da excitação neuro-humoral aumentada na insuficiência cardíaca, onde níveis circulantes excessivamente altos de catecolaminas, angiotensina II e vasopressina poderiam comprometer as funções regulatórias autonômicas em um nível central (SCHRIER, ABRAHAM, 1999). Por fim, não pode-se descartar um possível papel dos mecanismos barorreflexos arteriais, uma vez que os mesmos podem contribuir para a modulação das oscilações LF presentes em ritmos cardiovasculares (HAGBARTH; VALLBO, 1968; DELIUS *et al.*,

1972; MALPAS, NINOMIYA, 1992; SLEIGHT *et al.*, 1995). Um prejuízo na regulação circulatória barorreflexa, bem documentado na insuficiência cardíaca (SLEIGHT *et al.*, 1995; FERGUSON; ABBODD; MARK, 1984; FERGUSON *et al.*, 1992; CASADEI *et al.*, 1996), poderia, assim, ser uma possível explicação para a redução de LF na variabilidade do intervalo RR. A variabilidade da frequência cardíaca na banda LF é mediada em parte pelo parassimpático vagal. Assim, a redução do componente LF poderia estar relacionada à retirada parassimpática vagal, possivelmente devido a uma sensibilidade barorreflexa vagal cardíaca deprimida. Como a sensibilidade barorreflexa vagal cardíaca está atenuada em nossos animais infartados não tratados, isto reforça a idéia de que o barorreflexo atenuado pode estar contribuindo significativamente para a redução do componente LF do intervalo RR no modelo de insuficiência cardíaca pós-infarto do miocárdio no rato. Como a resposta barorreflexa à fenilefrina é mediada principalmente pelo parassimpático vagal, é possível que a atenuação da variabilidade LF do intervalo RR seja principalmente conseqüente a uma perda da modulação LF da atividade nervosa vagal. Embora poucos sejam os relatos de análise espectral da atividade nervosa vagal, um componente LF está presente na atividade nervosa vagal e sofre modificações dependentes do barorreflexo à semelhança do sistema nervoso simpático (MALLIANI *et al.*, 1991; DIAS DA SILVA, dados não publicados). A grande semelhança entre o perfil espectral da variabilidade do intervalo RR na insuficiência cardíaca grave e aquele observado durante o bloqueio vagal progressivo com atropina (AKSELROD *et al.*, 1981), reforça a idéia de que a perda de LF pode ser devido à perda do componente LF vagalmente mediado.

Em nossos animais com insuficiência cardíaca não tratados, o componente HF da variabilidade do intervalo RR não sofreu modificações significativas quando expresso em unidades absolutas. Em conseqüência à redução da variabilidade LF, o

componente HF expresso em unidades normalizadas, sofreu uma significativa elevação, indicando uma certa preponderância do mesmo sobre o componente LF em ratos com insuficiência cardíaca. Assim, parece haver uma certa preservação da modulação respiratória do intervalo RR na insuficiência cardíaca, em concordância com achado prévios da literatura em seres humanos e em animais experimentais. (MALLIANI, PAGANI, LOMBARDI, 1994; ECKBERG; NERHED; WALLIN, 1985; DELIUS *et al.*, 1972; SAUL *et al.*, 1990; SEALS; SUWARNO; DEMPSEY, 1990; PORTER *et al.*, 1990).

O tratamento com o brometo de piridostigmina nos animias controles provocou uma sensível elevação tanto na variabilidade global (expresso pela variância aumentada) quanto nos componentes LF e HF absolutos da variabilidade da frequência cardíaca, indicando uma ação estimulatória da droga sobre a modulação fásica da atividade vagal cardíaca, o que seria esperado para uma droga que aumenta a biodisponibilidade sináptica de acetilcolina no sistema nervoso periférico, incluindo o parassimpático (FURTADO, 1954). Nossos achados foram similares aos encontrados por SOARES *et al* (2004). O esperado aumento no componente HF da variabilidade da FC é facilmente explicado tendo em vista que este componente é completamente dependente de uma modulação vagal cardíaca associada à respiração (MALLIANI *et al.*, 1991). Entretanto, um aumento no componente LF, comumente descrito como um marcador da modulação simpática cardíaca parece ser um tanto paradoxal. Entretanto, como acima descrito, a variabilidade da frequência cardíaca na banda LF é mediada em parte pelo parassimpático vagal (AKSELROD *et al.*, 1981; MALLIANI *et al.*, 1991). Assim, o aumento do componente LF poderia estar relacionado ao aumento da ação parassimpática vagal decorrente do bloqueio da acetilcolinesterase na fenda sináptica parassimpática cardíaca, possivelmente associado em adição a um aumento na

sensibilidade barorreflexa vagal cardíaca, como demonstrado por nossos dados. Como a sensibilidade barorreflexa vagal cardíaca está aumentada em nossos animais controles tratados com a piridostigmina, isto reforça a idéia de que o barorreflexo aumentado pode estar contribuindo significativamente para a elevação do componente LF do intervalo RR nos animais controles. Como a resposta barorreflexa à fenilefrina é mediada principalmente pelo parassimpático vagal, é possível que o aumento da variabilidade LF do intervalo RR seja principalmente conseqüente a um aumento da modulação LF da atividade nervosa vagal mediada pelo barorreflexo, também potenciado.

Ainda que o aumento global da variabilidade da frequência cardíaca não tenha sido observado nos ratos infartados tratados com o brometo de piridostigmina, um significativo aumento no componente LF foi observado nestes animais, o que pode sugerir um aumento da modulação vagal na faixa LF, provavelmente decorrente, como descrito acima, de um aumento no ganho do barorreflexo vagal cardíaco, o qual foi também verificado nos animais infartados tratados com a piridostigmina, o qual constitui-se num dado inédito e bastante relevante, se considerarmos que a redução de LF da variabilidade da FC tem sido considerada um marcador de risco de morte súbita independente e potente em pacientes portadores de insuficiência cardíaca congestiva (LA ROVERE *et al.*, 2003; KUCH *et al.*, 2009).

Em nosso modelo de insuficiência cardíaca pós-infarto do miocárdio em ratos não tratados, observamos uma significativa redução da sensibilidade barorreflexa para a resposta de bradicardia com resposta de taquicardia reflexa preservada. Estes achados são similares aos encontrados na doença em seres humanos e animais experimentais. (FERGUSON; ABBOD; MARK, 1984; DECK *et al.*, 1992; CHEN *et al.*, 1992; ECKBERG, SLEIGHT, 1992; FERGUSON *et al.*, 1992; SLEIGHT *et al.*, 1995;

CASADEI *et al.*, 1996; VAN DE BORNE *et al.*, 1997; KRÜGER *et al.*, 1997, 2000, HENZE *et al.*, 2008; MOSTARDA *et al.*, 2009).

Ainda que as células marcapasso do nó sinusal sejam influenciadas por ambas as divisões simpática e parassimpática do sistema nervoso autônomo, a regulação batimento-a-batimento da frequência cardíaca é principalmente controlada pelo nervo vago, devido à sua resposta de transdução de sinal mais rápida (SELLER, 1991; ECKBERG; SLEIGHT, 1992). Tem sido postulado que o desequilíbrio autonômico observado nas alterações do controle barorreflexo instantâneo da frequência cardíaca após o infarto do miocárdio, é devido principalmente à redução na atividade vagal reflexa. Esta conclusão é reforçada pelos nossos achados de ausência de alteração na resposta de taquicardia reflexa, a qual parece depender principalmente de influências simpáticas sobre a sensibilidade barorreflexa. Assim, pode-se concluir que as influências simpáticas reflexas sobre a sensibilidade barorreflexa cardíaca parecem inalteradas em ratos com infarto do miocárdio. Entretanto, como a sensibilidade barorreflexa foi medida apenas após alterações rápidas da pressão arterial (provocadas por administração em bolo de fenilefrina e nitroprussiato de sódio) e não após uma infusão em rampa prolongada das drogas vasoativas, a influência simpática sobre a sensibilidade barorreflexa pode ter sido apenas parcialmente avaliada. (COLEMAN, 1980). Taquicardia reflexa atenuada tem sido descrita em ratos com insuficiência cardíaca mais severa após 42 dias do infarto (DECK *et al.*, 1992).

As possíveis causas da redução na sensibilidade barorreflexa à resposta de bradicardia, característica da insuficiência cardíaca, não estão totalmente esclarecidas. Anormalidades nos aferentes baroreceptores (DI BONA; SAWIN, 1994), hiperatividade central e periférica do sistema renina-angiotensina (FELDER *et al.*, 2001; FRANCIS *et al.*, 2001), excitação simpática cardíaca aumentada (MIRCOLI *et al.*, 2002), ativação de

nervos aferentes cardíacos (MALLIANI, MONTANO, 2002) e de quimiorreceptores centrais e/ou periféricos (KARA, NARCIEWICZ, SOMERS, 2003) e redução da atividade parasimpaticática vagal dirigida ao coração podem todos estar envolvidos na gênese do barorreflexo impedido na insuficiência cardíaca congestiva.

O papel de nervos barorreceptores arteriais versus cardíacos neste modelo merece destaque e necessita de investigações adicionais. Estudos com cães insuficientes cardíacos, decorrentes de estimulação ventricular rápida revelaram que a depressão barorreflexa estava relacionada a uma disfunção multifocal nos terminais aferentes barorreceptores arteriais e/ou cardíaco e na integração nervosa central do reflexo. (CHEN, 1992; THAMES, 1993). Um aumento na atividade simpática aferente cardíaca é capaz de inibir a atividade nervosa eferente vagal dirigida ao nó sino-atrial (SCHWARTZ *et al.*, 1973). Desnervação autonômica parcial induzida pelo infarto dentro do ventrículo pode de maneira similar aumentar o tráfego nervoso simpático para o coração (MALLIANI, RECORDATI, SCHWARTZ, 1973; ZIPES, 1990).

Por fim, uma outra possibilidade a ser considerada é o papel da estimulação quimiorreceptora no contexto da insuficiência cardíaca congestiva. Sabe-se que os quimiorreceptores periféricos são estimulados durante uma insuficiência cardíaca moderada a grave (KARA, NARCIEWICZ, SOMERS, 2003). Ao mesmo tempo, é muito bem descrita a interação inibitória existente entre as vias quimiorreceptoras e barorreceptoras, provavelmente situada na primeira estação sináptica em nível bulbar, o núcleo do trato solitário (BOSCAN, PICKERING, PATON, 2002). Durante a hiperexcitação quimiorreceptora provocada por uma hipoxemia e/ou queda na perfusão dos corpos aórticos ou carotídeos, além de uma resposta de hiperventilação e estimulação simpática vasomotora, observa-se também uma redução sensível na resposta barorreflexa cardíaca e arterial. (BOSCAN, PICKERING, PATON, 2002). Como na

insuficiência cardíaca, por uma provável má perfusão dos quimiorreceptores, uma excitação aumentada dos mesmos se verifica, é possível que a depressão barorreflexa possa ser ao menos parcialmente dependente da ação dos quimiorreceptores. Entretanto, no modelo do rato com insuficiência cardíaca decorrente do infarto do miocárdio, esta hipótese ainda não foi testada.

O comportamento da variabilidade da frequência cardíaca, mais especificamente a redução do componente LF associado à redução da sensibilidade barorreflexa se mostra muito semelhante ao que ocorre nos animais com desnervação sino-aórtica após 24 horas ou mais do procedimento experimental (CERUTTI *et al.*, 1991, CERUTTI, BARRES, PAULTRE, 1994; FERRARI *et al.*, 1987; 1996). Neste modelo, a interrupção cirúrgica dos aferentes barorreceptores arteriais, com uma esperada redução dramática da sensibilidade barorreceptora, está associada a uma taquicardia inicial acompanhada de uma sensível redução no componente LF e uma preservação do componente HF da variabilidade da frequência cardíaca, indicando um papel dos barorreceptores arteriais na gênese das oscilações LF da frequência cardíaca (CERUTTI *et al.*, 1991, CERUTTI, BARRES, PAULTRE, 1994; FERRARI *et al.*, 1987; 1996). Os barorreceptores arteriais, ao perceberem oscilações da pressão arterial na faixa de LF, as ondas de Mayer, acabam por induzir oscilações coerentes e em fase na mesma faixa de frequência nos nervos autonômicos simpático e parassimpático que controlam o coração, assim levando ao surgimento de oscilações LF na frequência cardíaca (BROWN *et al.*, 1994). A forte correlação encontrada entre a redução de LF e a depressão da sensibilidade barorreflexa em nossos ratos com insuficiência cardíaca reforça a idéia de que as alterações na variabilidade da frequência cardíaca estão intimamente associadas com a depressão do controle barorreflexo cardíaco (SLEIGHT *et al.*, 1995).

Os dados obtidos na avaliação da função autonômica tônica empregando bloqueadores farmacológicos em nossos animais infartados não tratados parecem evidenciar uma atenuação do tônus vagal cardíaco. O aumento observado na frequência cardíaca após atropina (efeito vagal) foi significativamente maior nos animais controle não tratados que nos animais com insuficiência cardíaca não tratados, indicando nestes animais uma perda da ação vagal sobre o nó sinusal. Por outro lado, a variação de frequência cardíaca após propranolol em relação ao basal (efeito simpático) não foi diferente entre os dois grupos de animais não tratados. Estes resultados são similares a estudos anteriores (KRÜGER *et al.*, 1997, 2000) e indicam que no modelo de insuficiência cardíaca moderada após infarto do miocárdio em rato, ocorre uma perda do tônus parassimpático vagal sobre o coração, permanecendo intacta a ação tônica simpática dirigida ao nó sinusal. Esta redução da ação tônica vagal cardíaca também explica o significativo aumento no índice simpático-vagal cardíaco observado nos animais infartados, bem como a taquicardia de base observada nos animais infartados com insuficiência cardíaca não tratados. A frequência cardíaca medida após o duplo bloqueio farmacológico seqüencial com atropina e propranolol (ou vice-versa), a frequência intrínseca de marcapasso cardíaco, não foi diferente entre os grupos, indicando que após seis semanas de infarto do miocárdio, a insuficiência cardíaca desenvolvida não foi suficiente para alterar as propriedades eletrofisiológicas do automatismo natural do nó sinusal, responsável pela geração do ritmo cardíaco.

A análise conjunta de todos os parâmetros coletados, relativos ao controle autonômico da frequência cardíaca, permite a conclusão de que, na insuficiência cardíaca moderada após infarto do miocárdio no rato, observa-se uma redução no funcionamento da inervação vagal cardíaca tanto em nível tônico quanto em nível fásico modulado pelo barorreflexo, com repercussões sobre a modulação oscilatória LF.

Curiosamente, neste modelo, a redução do tônus vagal cardíaco não trouxe repercussões sobre as oscilações HF da variabilidade da frequência cardíaca, considerada um marcador sensível de atividade vagal cardíaca associada à arritmia sinusal respiratória (GOLDBERGER *et al.*, 2001; NEFF *et al.*, 2003). Quando expressa em unidades relativas à variabilidade total, a potência de HF permaneceu inalterada, sugerindo que em determinadas situações, como na insuficiência cardíaca congestiva pós-infarto do miocárdio em ratos, o componente HF pode não se correlacionar inteiramente com a atividade vagal.

Os neurônios pré-ganglionares parassimpáticos vagais cardíacos tem seus corpos celulares localizados principalmente no núcleo ambíguo situado na região ventral lateral do bulbo raquidiano (NEFF *et al.*, 2003). Juntamente com o simpático, estes neurônios controlam o ritmo cardíaco e possuem atividade de disparo intermitente, fásica, modulada fundamentalmente por duas vias sinápticas: a) a via barorreflexa e b) a via modulada pela respiração. A via barorreflexa é constituída pelos aferentes barorreceptores arteriais periféricos que fazem sinapse no núcleo do trato solitário com neurônios excitatórios que se projetam para o núcleo ambíguo. A via modulada pela respiração é constituída por neurônios da rede respiratória central bem como por neurônios sensoriais mecanorreceptores pulmonares que se projetam para o núcleo ambíguo (MENDELOWITZ, 1999). O controle barorreflexo da atividade vagal está implicado ao menos parcialmente na gênese do componente LF, enquanto o controle respiratório da atividade vagal está implicado na geração do componente HF (arritmia sinusal respiratória) da variabilidade da frequência cardíaca. Em nosso modelo de insuficiência cardíaca moderada no rato, apenas o primeiro componente mostrou-se significativamente afetado, muito provavelmente como consequência da depressão da

sensibilidade barorreflexa, modificada em nível periférico e/ou central. (DI BONA; SAWIN, 1994).

O tratamento com o brometo de piridostigmina nos animais controles provocou um aumento da sensibilidade barorreflexa para as respostas de bradicardia reflexa associadas à administração de fenilefrina, indicando que a estimulação colinérgica, está agindo em algum ponto da via do barorreflexo vagal, aumentando a sensibilidade do mesmo. Como acima mencionado, tal ou tais sítios não podem ser identificados no presente trabalho e estudos adicionais fazem-se necessários para melhor esclarecer este aspecto. Entretanto, este achado confirma o obtido anteriormente por SOARES *et al.* (2004), o qual também observou um aumento do ganho do barorreflexo vagal cardíaco em ratos normais tratados com o brometo de piridostigmina. Tal efeito não se restringiu apenas aos animais controles, mas também foi observado nos animais infartados tratados, onde uma normalização do barorreflexo vagal cardíaco para a bradicardia reflexa foi também observado. Tal achado é extremamente relevante, pois vários relatos da literatura indicam o depressão barorreflexa associada à insuficiência cardíaca congestiva como um potente e independente preditor de risco de morte súbita (ECKBERG, SLEIGHT, 1992; FERGUSON *et al.*, 1992; SLEIGHT *et al.*, 1995; CASADEI *et al.*, 1996; VAN DE BORNE *et al.*, 1997, LA ROVERE *et al.*, 2003).

A análise da variabilidade da pressão arterial revelou uma sensível redução da variabilidade total (variância) e do componente oscilatório LF nos animais infartados não tratados. O componente LF da variabilidade da pressão arterial coincide com as ondas lentas da pressão arterial, as ondas de Mayer, e tem sido postulado como um marcador indireto da atividade simpática vasomotora periférica modulada pela alça barorreflexa arterial. (CERUTTI *et al.*, 1991). Uma redução na atividade simpática vasomotora, uma redução na resposta vascular periférica ao neurotransmissor do

simpático, uma saturação nas descargas do nervo simpático periférico com perda de ação modulatória ou uma perda da oscilação LF na atividade simpática conseqüente a uma redução na sensibilidade barorreflexa, poderia estar implicada na redução das flutuações LF observadas na pressão arterial sistêmica. Como uma redução sensível na sensibilidade barorreflexa cardíaca foi observada neste modelo, é possível que esta mesma redução seja observada para o controle barorreflexo simpático vasomotor, assim explicando ao menos parcialmente a redução do componente LF da variabilidade da pressão arterial. Entretanto, nenhuma das outras explicações acima propostas podem ser descartadas pelos nossos resultados. Este comportamento das oscilações LF da pressão arterial é muito semelhante ao comportamento destas mesmas oscilações em animais submetidos à desnervação sino-aórtica crônica (CERUTTI; BARRES; PAULTRE, 1994) e indicam que o barorreflexo arterial pode estar implicado na gênese das oscilações LF ou ondas de Mayer da pressão arterial. (BROWN *et al.*, 1994; CERUTTI; BARRES; PAULTRE, 1994). Curiosamente, ao contrário do que foi observado em animais com desnervação sino-aórtica, a variância ou variabilidade total também sofreu uma marcada redução. Numa situação de depressão da atividade barorreceptora, como a observada durante a desnervação sino-aórtica experimental, o esperado seria um grande aumento na variabilidade total da pressão arterial, uma vez que um importante mecanismo atenuador de oscilações da pressão arterial foi perdido (CERUTTI *et al.*, 1991). A redução de variabilidade total (variância) da pressão arterial em ratos com insuficiência cardíaca pós-infarto do miocárdio, assim, aparentemente, contraria os achados habituais esperados durante uma marcada redução da sensibilidade barorreflexa. Estes resultados são concordantes com achados prévios da literatura obtidos de pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, nos quais a variabilidade

total da pressão arterial medida a curto ou a longo prazo (24 horas) encontra-se reduzida. (CARUANA *et al.*, 1988; GUZZETTI *et al.*, 1995; GILES *et al.*, 2001).

TEERLINK e CLOZEL (1993), ao avaliarem por telemetria a variabilidade circadiana da pressão arterial, quantificando o desvio padrão (raiz quadrada da variância), também encontraram resultados parecidos em ratos com insuficiência cardíaca devido ao infarto do miocárdio, confirmando nossos achados.

As razões pelas quais esta redução de variabilidade total estaria acontecendo são desconhecidas. É possível que a hiper-ativação mantida do sistema renina-angiotensina e/ou da vasopressina, os quais parecem estar implicados na gênese de oscilações de muito baixa frequência, possa contribuir para a reduzida variabilidade da PA na insuficiência cardíaca congestiva (GILES *et al.*, 2001).

O tratamento com o brometo de piridostigmina não afetou a variabilidade da pressão arterial nos ratos controles, o que confirma os achados de SOARES *et al.* (2004), em ratos, e de JOAQUIM *et al.* (2004), em camundongos. Nos animais infartados, o tratamento com a piridostigmina tendeu a reverter a variância e o componente LF reduzidos observados após 06 semanas do infarto.

A severidade da disfunção ventricular esquerda induzida pela ligadura experimental da artéria coronária esquerda foi avaliada no presente projeto tanto por meio de medidas hemodinâmicas quanto pela avaliação morfométrica do tamanho do tecido cicatricial decorrente do infarto. Em todos os animais infartados não tratados, a pressão diastólica final do VE (PDFVE), um dos índices mais sensíveis de função ventricular esquerda (PFEFFER *et al.*, 1979), foi cerca de duas vezes maior do que a encontrada nos animais controle. Em dados encontrados na literatura, PDFVE da ordem de 10-15 mmHg em ratos tem sido associada a tamanhos de infarto de cerca de 30-45% (PFEFFER *et al.*, 1979, DI BONA; SAWIN 1994, KRUGER *et al.*, 1997). O tamanho

do tecido cicatricial por nós encontrado nos animais infartados não tratados, cerca de 37% da circunferência do VE, foi associado a uma PDFVE de cerca de 17mmHg, concordantes com dados da literatura. O tecido cicatricial decorrente do infarto do miocárdio acometeu preponderantemente a parede livre do VE, sem afetar septo ou parede livre do ventrículo direito, um padrão de infarto similar ao descrito amplamente na literatura (PFEFFER *et al.*, 1979; DI BONA; SAWIN 1994). A variância inter-individual da PDFVE foi baixa em todos os animais controle, assim como nos animais infartados, indicando não somente uma alta reprodutibilidade da técnica usada para a medida da PDFVE, mas também uma grande homogeneidade com respeito à disfunção ventricular esquerda dentro do grupo infartado. Além da elevação da PDFVE, reduções significativas da dP/dt máxima e da dP/dt mínima também foram observadas nos animais infartados não tratados, as quais sugerem um comprometimento simultâneo tanto da função contrátil sistólica quanto da capacidade de relaxamento ventricular diastólica, respectivamente. Ambos os achados estão em concordância com investigações prévias da literatura, e confirmam a reprodutibilidade do modelo desenvolvido, confirmando o desenvolvimento de insuficiência cardíaca congestiva nos animais infartados. O nível de severidade da insuficiência cardíaca foi considerada moderada, uma vez que sinais de insuficiência cardíaca grave e descompensada não foram encontrados nos animais do presente estudo. Em outras palavras, os animais não apresentaram elevação considerável da frequência cardíaca basal, apresentaram uma hipotensão arterial considerada leve (cerca de 15 mmHg menor que o controle), não tiveram um aumento significativo do peso corporal total nem da relação peso cardíaco/peso corporal e não evidenciaram a presença de derrame pleural e/ou de ascite, parâmetros estes associados a um grau severo de insuficiência cardíaca congestiva. (KRÜGER *et al.*, 1997). Em síntese, estas observações claramente demonstram a indução de disfunção ventricular esquerda

moderada associada com insuficiência cardíaca compensada após 06 semanas da indução do infarto do miocárdio em ratos não tratados.

O brometo de piridostigmina não apresentou nenhum efeito hemodinâmico ventricular esquerdo tanto nos ratos controles quanto nos ratos infartados. Uma vez que o bloqueio da acetilcolinesterase pelo brometo de piridostigmina resulta em aumento da acetilcolina na fenda sináptica e a acetilcolina, via receptores muscarínicos e inibição da adenilato-ciclase exerce efeitos inotrópicos negativos, poder-se-ia esperar uma redução na contratilidade miocárdica, a qual entretanto não foi observada nem nos ratos controles e nem nos ratos infartados. Nestes animais e, em especial nos ratos infartados tratados, esta falta de efeito hemodinâmico da piridostigmina pode refletir uma incapacidade da mesma de aumentar a acetilcolina nos ventrículos, uma vez que os ventrículos são pobremente inervados por fibras vagais pós-ganglionares colinérgicas. Estes achados evidenciam que o tratamento com o brometo de piridostigmina muito provavelmente não provoca nenhum efeito inotrópico negativo nos ventrículos, efeito este que, se presente, poderia contra-indicar o uso do brometo de piridostigmina no contexto da ICC, a qual já é caracterizada por uma contratilidade ventricular reduzida. Para o nosso conhecimento, este é o único estudo na literatura em os efeitos mecânicos ventriculares foram estudados na vigência da estimulação colinérgica prolongada com a piridostigmina.

Os efeitos do brometo de piridostigmina sobre os parâmetros morfológicos parecem ser discretos visto que à histologia nenhuma alteração mais marcante foi observada nos animais controles tratados em comparação com os animais controles não tratados. Já em relação aos animais infartados, um aumento do peso cardíaco foi observado nos animais tratados com o brometo de piridostigmina, sugerindo uma hipertrofia cardíaca mais acentuada. Em adição, na histologia qualitativa, a

piridostigmina parece estar reduzindo o grau de fibrose na zona remota ao infarto (septo inter-ventricular), sugerindo que talvez a hipertrofia observada nos ratos infartados tratados esteja se comportando mais como uma hipertrofia fisiológica que patológica. Estudos adicionais são necessários para esclarecer estes importantes aspectos.

Extrassístoles ventriculares foram observadas em 60% dos animais infartados não tratados contra apenas 9% nos animais controles não tratados. Nos animais infartados tratados com a piridostigmina, apenas 16,7% deles apresentaram arritmias cardíacas ventriculares. Além disso, o número de extrassístoles observado nos animais infartados não tratados durante o período de registro foi maior que o observado nos animais controles não tratados. Embora a quantificação de eventos arrítmicos tenha sido realizada num período de registro muito curto (apenas 30 minutos), estes resultados confirmam dados prévios da literatura, os quais evidenciam uma maior incidência de arritmias cardíacas (extrassístoles ventriculares) em ratos com insuficiência cardíaca induzida por infarto do miocárdio experimental (CURTIS, MCLEOAD, WALKER, 1987). Vários estudos realizados em seres humanos com insuficiência cardíaca congestiva pós-infarto do miocárdio também demonstraram uma incidência aumentada de eventos arrítmicos como extrassístoles ventriculares e taquiarritmias potencialmente fatais como a taquicardia ventricular paroxística e a fibrilação ventricular, as quais podem levar à morte súbita em pacientes com insuficiência cardíaca (BIGGER *et al.*, 1977; PANTRIDGE, WEBB, ADGEY, 1981; ZEHENDER *et al.*, 1991; WIT, JANSE, 1992). LA ROVERE *et al.* (2003) descreveram uma contagem horária de extrassístoles ventriculares maior que 83/horas, quantificada a partir de registros Holter, como um eficiente marcador de risco para morte súbita em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva decorrentes de cardiomiopatia dilatada.

As possíveis causas dos eventos arrítmicos associados à insuficiência cardíaca após o infarto do miocárdio envolvem alterações na excitabilidade do miocárdio doente,

surgimento de áreas com tempos de repolarização heterogêneos, formação de circuitos de re-entrada, formação de focos ectópicos associados à fibrose cicatricial do infarto e possivelmente às alterações autonômicas verificadas na fisiopatologia da insuficiência cardíaca (BIGGER *et al.*, 1977; PANTRIDGE, WEBB, ADGEY, 1981; ZEHENDER *et al.*, 1991; WIT, JANSE, 1992). Em seres humanos, uma forte correlação é verificada entre a performance mecânica do ventrículo, expressa como fração de ejeção avaliada por ecocardiografia, e a incidência aumentada de extrassístoles e eventos arrítmicos potencialmente fatais, sugerindo um papel para a hipertrofia, remodelamento e dilatação ventriculares na gênese destes eventos (ZEHENDER *et al.*, 1991; WIT, JANSE, 1992). Em relação ao papel do sistema nervoso autônomo na gênese de arritmias cardíacas, os animais infartados que apresentaram o maior número de extrasístoles ventriculares foram também os que apresentaram um maior número de anormalidades no controle da função autonômica cardiovascular. Este achado é muito semelhante ao encontrado em seres humanos com insuficiência cardíaca (LA ROVERE *et al.*, 2003). A redução de componente LF da variabilidade da frequência cardíaca, provavelmente decorrente da perda da modulação vagal cardíaca mediada pelo barorreflexo, de algum modo leva a uma redução do limiar arrítmico no coração insuficiente pós-infarto do miocárdio. Dados da literatura obtidos tanto de animais experimentais quanto de seres humanos parecem indicar que a ação vagal em nível ventricular exerceria um papel protetor no coração evitando o desenvolvimento de arritmias cardíacas potencialmente fatais. Contrariamente, perda de controle vagal cardíaco tônico e/ou fásico estaria associado à elevação na incidência de eventos arrítmicos cardíacos e morte súbita (CERATTI, SCHWARTZ, 1991).

O tratamento com o brometo de piridostigmina nos ratos infartados foi eficiente em reduzir a incidência de arritmias cardíacas ventriculares, reforçando a idéia de que a depressão vagal da insuficiência cardíaca congestiva, de fato, contribui para a gênese de

arritmias por vezes fatais e sugerindo que a piridostigmina poderia ser eficiente dentro de um contexto clínico, como uma nova arma terapêutica dentro do arsenal de tratamento da ICC. De fato, BEHLING *et al.* (2004) demonstraram um efeito similar em pacientes com ICC após o uso agudo de brometo de piridostigmina. Em adição, ZHENG *et al.* (2005) mostraram um efeito similar em ratos infartados submetidos a um regime de estimulação elétrica vagal persistente.

Apesar de todos estes achados reforçarem um potencial uso benéfico do brometo de piridostigmina no tratamento das alterações autonômicas e elétricas associadas à insuficiência cardíaca congestiva pós-infarto do miocárdio, estudos adicionais fazem-se necessários para um real entendimento do mecanismo de ação deste fármaco.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, os dados obtidos na presente investigação, ao avaliar o efeito da estimulação colinérgica prolongada com o brometo de piridostigmina sobre a regulação autonômica cardiovascular no modelo de insuficiência cardíaca pós-infarto do miocárdio em ratos, evidenciaram que o tratamento prolongado (06 semanas) com o brometo de piridostigmina foi capaz de aumentar a modulação LF da variabilidade da frequência cardíaca e potenciar a sensibilidade barorreflexa cardíaca (via aumento das respostas de bradicardia reflexa à fenilefrina), sem, entretanto, modificar o comportamento tônico autonômico para o coração nos ratos infartados. Tais modificações foram associadas a uma significativa redução de incidência de arritmias cardíacas ventriculares (extrassístoles ventriculares) nos animais infartados tratados com o brometo de piridostigmina. Tais efeitos benéficos do tratamento prolongado com o brometo de piridostigmina não foram associados a alterações significativas da hemodinâmica ventricular esquerda nos ratos infartados. Tais efeitos do brometo de piridostigmina poderiam ser benéficos se aplicados dentro de um contexto clínico em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva pós-infarto do miocárdio.

7 REFERÊNCIAS

ADAMOPOULOS, S.; PIEPOLI, M.; McCANCE, A. *et al.* Comparison of different methods for assessing sympathovagal balance in chronic congestive heart failure secondary to coronary artery disease. **Am. J. Cardiol.**, v. 70, p. 1576-82, 1992.

ADAMSON, P. B.; HUANG, M. H.; VANOLI, E.; FOREMAN, R. D.; SCHWARTZ, P. J.; HULL Jr, S.S. Unexpected interaction between β -adrenergic blockade and heart rate variability before and after myocardial infarction. **Circulation**, v. 90, p. 976-82, 1994.

AKSELROD S, GORDON D, UBEL FA, SHANNON DC, BERGER AC, COHEN RJ. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **Science**. v. 213, p. 220-222, 1981.

AKSELROD, S.; ELIASH, S.; OZ, O.; COHEN, S. Hemodynamic regulation in SHR: investigation by spectral analysis. **Am. J. Physiol.**, v. 253, n. 1, Pt. 2, p. H176-83, 1987.

ALPER, R. H.; JACOB, H. J.; BRODY, M. J. Regulation of arterial pressure lability in rats with chronic sinoaortic deafferentation. **Am. J. Physiol.**, v. 253, n. 2, Pt. 2, p. H466-74, 1987.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Heart and stroke facts**: statistical supplement. Dallas: AHA, 1996. 23 p.

ANDRONE, A S; HRYNIEWICZ, K; GOLDSMITH, R; ARWADY, A; KATZ; S D. Acetylcholinesterase inhibition with pyridostigmine improves heart rate recovery after maximal exercise in patients with chronic heart failure. **Heart**, n.89, p. 854-858, 2003.

BIGGER JR, J. T.; DRESDALE, R. J.; HEISSEN BUTTEL, R. H.; WELD, F. M.; WIT, A. L. Ventricular arrhythmias in ischemic heart disease: mechanism, prevalence, significance, and management. **Prog. Card. Dis.**, v. 19, n. 4, p. 255-300, 1977.

BILLMAN GE, SCHWARTZ PJ, STONE HL. The effects of daily exercise on susceptibility to sudden cardiac death. **Circulation**, v.69, p. 1182-1189, 1984.

BOSCAN P, PICKERING AE, PATON JF. The nucleus of the solitary tract: an integrating station for nociceptive and cardiorespiratory afferents. **Exp Physiol**. v. 87, p.259-266, 2002.

BRISTOW, M. R.; ANDRESON, F. L.; PORT, D. J.; SKER, I. L.; HERSHBERGER, R. E. Differences in beta-adrenergic neuroeffector mechanisms in ischemic versus idiopathic dilated cardiomyopathy. **Circulation**, v. 84, p. 1024-39, 1991.

BROWN, D. R.; BROWN, L. V.; PATWARDHAN, A.; RANDALL, D. C. Sympathetic activity and blood pressure are tightly coupled at 0.4 Hz in conscious rats. **Am. J. Physiol.**, v. 267, p. R1378-84, 1994.

BUTLER, G. C.; ANDO, S.; FLORAS, J. S. Fractal component of variability of heart rate and systolic blood pressure in congestive heart failure. **Clin. Sci.**, v. 92, p. 543-50, 1997.

CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J; HAIBARA, A.S; Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens**, n.8, p.30-40, 2001.

CARUANA, M. P.; LAHIRI, A.; CASHMAN, P. M.; ALTMAN, D. G.; RAFTERY, E. B. effects of chronic congestive heart failure secondary to coronary arterial disease on the circadian rhythm of blood pressure na heart rate. **Am. J. Cardiol.**, v. 62, n.10, Pt 1, p. 755-9, 1988.

CARVALHO, Antônio Carlos de Camargo. Infarto agudo do miocárdio. In: BORGES, Durval Rosa; ROTHSCCHILD, Hanna A. **Atualização terapêutica**. Seção 2. 20. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001. p. 73.

CASADEI B; PIPILIS A; SESSA F; CONWAY J; SLEIGHT P. Low doses of scopolamine increase cardiac vagal tone in the acute fase of myocardial infarction. **Circulation**, v. 88, p. 353-357, 1993.

CASADEI, B.; CONWAY, J.; FORFAR, C.; SLEIGHT, P. Effect of low doses of scopolamine on RR interval variability, baroreflex sensitivity, and exercise performance in patients with chronic heart failure. **Br. Heart. J.**, v. 75, p. 274-80, 1996.

CASADEI, B; PIPILIS, A; SESSA, F; CONWAY, J; SLEIGHT, P. Low doses of scopolamine increase cardiac vagal tone in the acute phase of myocardial infarction. **Circulation**, n. 88, p. 353-357, 1993.

CASTRO, C. L. B. de; NÓBREGA, A. C. L. de; ARAÚJO, C. G. S. de. Testes autonômicos cardiovasculares: uma revisão crítica: parte I. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 59, n. 1, p. 75-85, 1992a.

CASTRO, C. L. B. de; NÓBREGA, A. C. L. de; ARAÚJO, C. G. S. de. Testes autonômicos cardiovasculares: uma revisão crítica: parte II. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 59, n. 2, p. 151-8, 1992b.

CASTRO, R R T; PORPHIRIO, G; Serra, S M; NO´BREGA, A C L. Cholinergic stimulation with pyridostigmine protects against exercise induced myocardial ischaemia. **Heart** , n. 90, p.119-1123, 2004.

CERATI, D. R.; SCHWARTZ, P. J. Single cardiac vagal fiber activity, acute myocardial ischemia, and risk for sudden death. *Circ. Res.*, v. 69, p. 1389-401, 1991.

CERUTTI, C.; BARRES, C.; PAULTRE C. Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities rats: assesment by spectral analysis. **Am. J. Physiol.**, v. 266, n. 5, Pt. 2, p. H1993-2000, 1994.

CERUTTI, C.; GUSTIN, M. P.; PAULTRE, C. Z.; LO, M.; JULIEN, C.; VINCENT, M.; SASSARD, J. Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach. **Am. J. Physiol.**, v. 261, n. 4, Pt. 2, p. H1292-9, 1991.

CHEN, J. S.; WANG, W.; CORNISH, K. G.; ZUCKER, I. H. Baro and ventricular reflexes in conscious dogs subjected to chronic tachycardia. **Am. J. Physiol.**, v. 263, p. H1084-9, 1992..

- CLAUSSEN, JP. Circulatory adjustments to dynamic exercise and effect of physical training in normal subjects and in patients with coronary disease. **Prog Cardiovasc Dis** 1976; v.18, p. 459-95, 1976
- COLE, CR; BLACKSTONE, EH; PASHKOW, FJ; *et al.* Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. **N Engl J Med**, n. 341, p.1351-1357, 1999.
- COLEMAN, T. G. Arterial baroreflex control of heart rate in the conscious rat. **Am. J. Physiol**, v. 238, p. H515-20, 1980.
- CORREIA FILHO, Dalmo. **Avaliação clínico-funcional, bioquímica e imunológica do sistema nervoso autônomo em residentes em área endêmica da doença de Chagas.** 2000. 195 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical)-Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2000.
- CURTIS, M. J.; MACLEAOD, B. A.; WALKER, M. J. Models for the study of arrhythmias in myocardial ischaemia and infarction: the use of the rat. **J. Mol. Cell. Cardiol**, v. 19, n. 4, p. 399-419, 1987. Review.
- DE FERRARI, GM; SALVATI P; GROSSONI M; *et al.* - Pharmacologic modulation of the autonomic nervous system in the prevention of sudden cardiac death. **J Am Coll Cardiol**, n.22, p. 286-290, 1993.
- DECK, C. C.; RAYA, T. E.; GABALLA, M. A.; GOLDMAN, S. Baroreflex control of heart rate in rats with heart failure after myocardial infarction: effects of captopril. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 263, p. 1424-31, 1992.
- DELIUS, W.; HAGBARTH, K.-E.; HONGELL, A.; WALLIN, B. G. General characteristics of sympathetic activity in human muscle nerves. **Acta Physiol. Scand.**, v. 84, p. 65-81, 1972.
- DI BONA, G. F.; SAWIN, L. L. Reflex regulation of renal nerve activity in cardiac failure. **Am. J. Physiol.**, v. 266, p. R27-39, 1994.
- ECKBERG, D. L.; NERHED, C.; VALLIN, B. G. Respiratory modulation of muscle sympathetic and vagal cardiac outflow in man. **J. Physiol. Lond.**, v. 365, p. 181-96, 1985.
- ECKBERG, D. L.; SLEIGHT, P. Human baroreflexes in health and disease. In: BOYD, C. A. R.; BOYD, A. G.; BROWN, G.; FINK, G.; GILLESPIE, J. S.; KIDD, C.; MICHELL, C. C. **Monographs of the Physiological Society.** Oxford, UK: Clarendon, 1992. v. 43. P. 78-95.
- ELIAKIM, M; BELLET, S; TAWIL, E; MULLER, O. Effect of vagal stimulation and acetylcholine on the ventricle. Studies in dogs with complete atrioventricular block. **Circ Res**, n.9, p. 1372-1379, 1961.
- FARREL, T. G.; ODEMUYIWA, O.; BASHIR, Y.; CRIPPS, T. R.; MALIK, M.; WARD, D. E.; CAMM, A. J. Prognostic value of baroreflex sensitivity testing after acute myocardial infarction. **Br. Heart J.**, v. 67, p. 129-37, 1992.

- FELDER RB, FRANCIS J, WEISS RM, ZHANG ZH, WEI SG, JOHNSON AK. Neurohumoral regulation in ischemia-induced heart failure. Role of the forebrain. **Ann N Y Acad Sci.** v.940, p. 444-453, 2001.
- FERGUSON, D. W.; ABOUD, F. M.; MARK, A. L. Selective impairment of baroreflex-mediated vasoconstrictor responses in patients with ventricular dysfunction. *Circulation*, v. 69, p. 451-60, 1984.
- FERGUSON, D. W.; BERG, W. J.; ROACH, P. J.; OREN, R. M.; MARK, A. L. Effects of heart failure on baroreflex control of sympathetic neural activity. **Am. J. Cardiol.**, v. 69, p. 523-31, 1992.
- FERGUSON, JJ. ISIS- IV study (Forth International Study of Infarct Survival). Meeting Highlights. **Circulation**, v. 89, p. 547-547, 1994.
- FERRARI, A. U.; DAFFONCHIO, A.; ALBERGATI, F.; MANCIA, G. Inverse relationship between heart rate and blood pressure variability in rats. **Hypertension**, v. 10, n. 5, p. 533-7, 1987.
- FERRARI, A. U.; FRANZELLI, C.; DAFFONCHIO, A.; PERLINI, S.; DIRIENZO, M. Sympathovagal interplay in the control of overall blood pressure variability in unanesthetized rats. *Am. J. Physiol.*, v. 270, n. 6, Pt. 2, p. H2143-8, 1996.
- FLETCHER, P. J. *et al.* Left ventricular diastolic pressure volume relations in rats with healed myocardial infarction: effects on systolic function. **Circ. Res.**, v. 49, n. 3, p. 618-26, 1981.
- FRANCIS J, WEISS RM, WEI SG, JOHNSON AK, FELDER RB. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.**, v. 281, p. R1734-R1745, 2001.
- FURTADO D. A new drug, pyridostigmine, in therapy of myasthenia. **J Med (Oporto)**. 1954 Apr 17;23(586):953-9.
- GALINIER, M.; PATHAK, A.; FOURCADE, J., *et al.* Depressed low frequency power of heart rate variability as na independent predictor of sudden death in chronic heart failure. **Eur. Heart J.**, v. 21, p. 475-82, 2000.
- GILES, T. D.; KERUT, E. K.; ROFFIDAL, L. E.; JONES, R.; GIVEN, M. B.; HUTCHINSON, H.; TRESZNEWSKY, The influence of dose of angiotensin I-converting enzyme inhibitor on systolic blood pressure variability in heart failure: a substudy of the Assesment of Treatment with Lisinopril and Survival in heart failure (ATLAS) trial. **Blood Press Monit.**, v. 6, n. 2, p. 81-4, 2001.
- GOLDBERGER JJ, CHALLAPALLI S, TUNG R, PARKER MA, KADISH AH. Relationship of heart rate variability to parasympathetic effect. **Circulation**, v. 103, p. 1977-1983, 2001.

GRABE, Guimarães A; ALVES, LM; TIBIRIÇÁ, E; NÓBREGA, ACL. Pyridostigmine blunts increases in myocardial oxygen demand elicited by the stimulation of the central nervous system in anesthetized rats. **Clinical Autonomic Research**, n. 9.p. 83-89, 1999.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Unidade II. O coração. **Tratado de fisiologia médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 97-142

GUZZETTI, S. *et al.* Heart rate variability in chronic heart failure. **Auton. Neurosci.**, v. 90, n. 1-2, p. 102-5, 2001. Review.

GUZZETTI, S. *et al.* Low frequency spectral component of heart rate variability and myocardial beta-adrenoceptor density after acute myocardial infarction. **Basic Res. Cardiol.**, v. 97, n. 1, p. 97-104, 2002.

GUZZETTI, S.; COGLIATI, C.; TURIEL, M.; CREMA, C.; LOMBARDI, F.; MALLIANI, A. Sympathetic predominance followed by functional denervation in the progression of chronic heart failure. **Eur. Heart J.**, v. 16, n. 8, p. 1100-7, 1995.

HAGBARTH, K. E.; VALLBO, A. B. Pulse and respiratory grouping of sympathetic impulses in human muscle nerves. **Acta Physiol. Scand.**, v. 74, p. 96-108, 1968.

HATTORI Y, ATSUSHI S, HIROAKI F, TOYAMA J. Effects of cilazapril on ventricular arrhythmia in patients with congestive heart failure. **Clin Ther.** v. 19, p. 481-486, 1997.

HENZE M, HART D, SAMAREL A, BARAKAT J, ECKERT L, SCROGIN K. Persistent alterations in heart rate variability, baroreflex sensitivity, and anxiety-like behaviors during development of heart failure in the rat. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 2008;295(1):H29-H38.

HUANG, B.; WANG, S.; QIN, D. *et al.* Diminished basal phosphorylation level of phospholamban in the postinfarction remodeled rat ventricle: role of beta-adrenergic pathway, G₁ protein, phosphodiesterase, and phosphatases. **Circ. Res.**, v. 85, p. 848-55, 1999.

HULL JÚNIOR, SS; VANOLI E, ADAMSON PB *et al.* Exercise training confers anticipatory protection from sudden death during acute myocardial ischemia. **Circulation**, v.89, p.548-552, 1994.

IMAI, K; SATO, H; HORI, M;, *et al.* Vagally mediated heart rate recovery after exercise is accelerated in athletes but blunted in patients with chronic heart failure. **J Am Coll Cardiol**, n. 24, p.1529-1535, 1994.

JESSUP M., BROZENA S. Medical Progress: **Heart failure**. **N. Engl. J. Med.**, v. 348, p. 2007-2018, 2003.

JESUS, Paulo César. **Considerações metodológicas e caracterização de procedimentos implicados nas análises temporal e espectral da variabilidade da frequência cardíaca, para avaliação clínica do controle autônomo do coração**. 1996. 232 Dissertação (Mestrado em Clínica médica)-Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília (DF), 1996.

JOAQUIM LF, FARAH VM, BERNATOVA I, FAZAN R JR, GRUBBS R, MORRIS M. Enhanced heart rate variability and baroreflex index after stress and cholinesterase inhibition in mice. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 2004; 287(1):H251-H257.

JOHNSTON, K. M.; MACLEOD, B. A.; WALKER, M. J. Responses to ligation of a coronary artery in conscious rats and the actions of antiarrhythmics. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 61, n. 11, p. 1340-53, 1983.

JUNQUEIRA JR, LF; SOARES, JD. Impaired autonomic control of heart interval changes to Valsalva manoeuvre in Chagas' disease without overt manifestation. *Autonomic neuroscience: Basic and Clinical*, n. 97, p.59-67, 2002.

JUNQUEIRA JÚNIOR, L. F. Disfunção autonômica cardíaca. In: PORTO, C. C. (Ed.). **Doenças do coração: prevenção e tratamento.** Brasília (DF): UNB, 1998. p. 306-11.

KARA T, NARKIEWICZ K, SOMERS VK. Chemoreflexes--physiology and clinical implications. **Acta Physiol Scand.** v. 177, p. 377-384, 2003.

KIENZLE, M. G.; FERGUSON, D. W.; BIRKETT, C.; MYERS, G. A.; BERG, W. J.; MARIANO, D. J. Clinical, hemodynamic and sympathetic neural correlates of heart rate variability in congestive heart failure. **Am. J. Cardiol.**, v. 69, p. 761-7, 1992.

KINGWELL, B. A.; THOMPSON, J. M.; KAYE, D. M.; McPHERSON, G. A.; JENNINGS, G. L.; ESLER, M. D. Heart rate spectral analysis, cardiac noropinephrine spillover, and muscle sympathetic nerve activity during human sympathetic nervous activation and failure. **Circulation**, v. 90, p. 234-240, 1994.

KIRCHHOFF, M; DAVIDSEN, M; BRONNUM-HANSEN, B; SCHNACK, H; ERIKSEN, LS; MADSEN, M. Incidence of myocardial infarction in the Danish MONICA population 1982-1991. **Int J Epidemiol**, 1999; n.28, p.211-2188, 1999.

KLEIGER, R. E.; MILLER, J. P.; BIGGER JR, J. T.; MOSS, A., J.; MULTICENTER POST-INFARCTION RESEARCH GROUP. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. **Am. J. Cardiol.**, v. 59, n. 4, p. 256-62, 1987.

KRÜGER, C.; KALENKA, A.; HAUNSTETTER, A.; SCHWEIZER, M.; MAIER, C.; RÜHLE, U.; EHMKE, H.; KÜBLER, W.; HAASS, M. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in conscious rats with myocardial infarction. **Am. J. Physiol.**, v. 273, n. 5, Pt 2, p. H2240-7, 1997.

KRÜGER, C.; LANDERER, V.; ZUGCK, C.; EHMKE, H.; KUBLER, W.; HAASS, M. The bradycardic agent zatebradine enhances baroreflex sensitivity and heart rate variability in rats early after myocardial infarction. **Cardiovasc. Res.**, v. 45, n. 4, p. 900-12, 2000.

- KUCH M, JANISZEWSKI M, MAMCARZ A, CUDNOCH-JEDRZEJEWSKA A, DŁUZNIEWSKI M. Major adverse cardiac event predictors in survivors of myocardial infarction with asymptomatic left ventricular dysfunction or chronic heart failure. **Med Sci Monit.** 2009; 15(6):PH40-PH48.
- KUWAHARA, M.; YAYOU, K.; ISHII, K.; HASHIMOTO, S.; TSUBONE, H.; SUGANO, S. Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. **J. Electrocardiol.**, v. 27, n. 4, p. 333-7, 1994.
- LA ROVERE, M. T.; PINNA, G. D.; MAESTRI, R.; MORTARA, A.; CAPOMOLLA, S.; FEBO, O.; FERRARI, R.; FRANCHINI, M.; GNEMMI, M.; OPASICH, C.; RICCARDI, P. G.; TRAVERSI, E.; COBELLI, F. Short-term heart rate variability strongly predicts sudden cardiac death in chronic heart failure patients. **Circulation**, v. 107, p. 565-70, 2003.
- LEVY D., KENCHIAIAH S., LARSON M. G., BENJAMIN E. J., KUPKA M. J., HO K. K.L., MURABITO J. M., VASAN R. S. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. **N Engl J Med**, v. 347, p. 1397-1402, 2002.
- LOMBARDI, F.; SANDRONE, G.; PERNPRUNER, S.; SALA, R.; GARIMOLDI M.; CERUTTI, S.; BASELLI, G.; PAGANI, M.; MALLIANI, A. Heart rate variability as an index of sympathovagal interaction after acute myocardial infarction. **Am. J. Cardiol.**, v. 60, p. 1239-45, 1987.
- LOTUFO, PA. Mortalidade precoce por doenças do coração no Brasil. Comparação com outros países. **Arq Bras Cardiol**, n.70, p.321-325, 1998.
- LÖWEL, H.; DOBSON, A.; KEIL, U.; HERMAN, B.; HOBBS, M. S. T.; STEWART, A.; ARSTILA, M.; MIETTINEN, H.; MUSTANIEMI, H.; TUOMILEHTO, J. Endothelial function, coronary blood flow, coronary artery disease syndromes: Coronary heart disease case fatality in four countries: a community study. **Circulation**, v. 88, p. 2524-2531, 1993.
- MADY, Charles. Remodelagem, remodelação e remodelamento. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo: FMUSP, v. 66, n. 2, p. 51, 1996.
- MALIK, M.; CAMM, A. J. Components of heart rate variability: what they really mean and what we really measure. **Am. J. Cardiol.**, v. 72, p. 821-2, 1993.
- MALLIANI A, MONTANO N. Emerging excitatory role of cardiovascular sympathetic afferents in pathophysiological conditions. **Hypertension**. v. 39, p. 63-68, 2002.
- MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F. Power spectrum analysis of heart rate variability: a tool to explore neural regulatory mechanisms. **Br. Heart J.**, v. 71, p. 1-2, 1994. Editorial.
- MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; CERUTTI, S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation**, v. 84, p. 482-92, 1991. Research Advances Series.
- MALLIANI, A.; RECORDATI G.; SCHWARTZ, P. J. Nervous activity of afferent cardiac sympathetic fibres with atrial and ventricular endings. **J. Physiol. (Lond.)**, v. 229, p. 457-69, 1973.

MALPAS, S. C.; ; NINOMIYA, I. The amplitude and periodicity of synchronized renal sympathetic nerve discharges in anesthetized cats: differential effect of baroreceptor activity. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v. 40, p. 189-98, 1992.

MANCIA; GRASSI. Arterial baroreflex and other cardiovascular reflexes in hypertension, In: **Text book of Hypertension**, edit by J.D. Swales, Ed. Black Well Scientific publication, p. 11-21, 1994.

MANSUR, A. de P.; MATTAR, A. P. L.; ROLIM, A. L.; YOSH, F. R.; MARIN, J. F. G.; CÉSAR, L. A. M.; RAMIRES, J. A. F.. Distribuição dos fatores de risco em pais e irmãos de pacientes com doença arterial coronariana precoce. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 80, n. 6, p. 579-81, 2003.

MANSUY, P.; MOUGENOT, N.; RAMIREZ-GIL, J. F.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; RAILLECOVE, F.; KOMAJDA, M.; LECHAT, P. Effects of prolonged propranolol treatment on left ventricular remodeling and oxidative stress after myocardial infarction in rats. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 35, n. 5, p. 806-13, 2000.

MAXWELL, Miles P.; HEARSE, David J.; YELLON, Derek M. Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. **Cardiovasc. Res.**, v. 21, n. 10, p. 737-46, 1987.

MEIHUA LI, MS; ZHENG, Can; SATO, Takayuki; KAWADA; Toru; SUGIMACHI, Masaru; SUMAGAWA, Kenji. Vagal Nerve Stimulation Markedly Improves Long-Term Survival After Chronic. **Heart**, 2004.[Failure in Rats American Heart Association, Inc.]

MENDELOWITZ D. Advances in Parasympathetic Control of Heart Rate and Cardiac Function. **News Physiol Sci.** 1999 Aug;14:155-161.

MICHALANY, J. Técnicas histológicas em anatomia patológica, com instrução para o cirurgião, enfermeira e citotécnico. **São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1980.**

MIGLIARO ER, CONTRERAS P. Heart Rate Variability: Short-Term Studies are as Useful as Holter to Differentiate Diabetic Patients from Healthy Subjects. **Ann Noninvasive Electrocardiol.** v. 8, p. 313-320, 2003.

MIRCOLI, L.; FEDELE, L.; BENETTI, M.; BOLLA, G. B.; RADAELLI, A.; PERLINI, S.; FERRARI, A. U. Preservation of the baroreceptor heart rate reflex by chemical sympathectomy in experimental heart failure. **Circulation**, v. 106, n. 7, p. 866-72, 2002.

MONTANO, N.; RUSCONE, T. G.; PORTA, A.; LOMBARDI, F.; PAGANI, M.; MALLIANI, A. Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. **Circulation**, v. 90, p. 1826-31, 1994.

MORTARA, A.; La ROVERE, M. T.; SIGNORINI, M. G.; PANTALEO, P.; PINNA, G.; MARTINELLI, L.; CECONI, C.; CERUTTI, S.; TAVAZZI, L. Can power spectral analysis of heart rate variability identify a high risk subgroup of congestive heart failure patients with excessive sympathetic activation? A pilot study before and after heart transplantation. **Br. Heart J.**, v. 71, p. 422-30, 1994.

- MORTARA, A.; LA ROVERE, M.T; PINNA, G.D; PRPA, A; MAESTRI, R; FEBO, O; POZZOLI, M; OPASICH, C; TAVAZZI, L; 1997. Arterial baroreflex modulation of heart rate in chronic heart failure: clinical and hemodynamic correlates and prognostic implications. **Circulation**, n.96, p. 3450-3458, 1997.
- MOSTARDA C, RODRIGUES B, VANE M, MOREIRA ED, ROSA KT, MORAES-SILVA IC, LACCHINI S, CASARINI DE, DE ANGELIS K, IRIGOYEN MC. Autonomic impairment after myocardial infarction: role in cardiac remodeling and mortality. **Clin Exp Pharmacol Physiol**. 2009 Oct 29.
- MURPHY, C. A.; SLOAN, R. P.; MYERS, M. M. Pharmacologic responses and spectral analyses of spontaneous fluctuations in heart rate and blood pressure in SHR rats. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v. 36, n. 3, p. 237-50, 1991.
- NEFF RA, WANG J, BAXI S, EVANS C, MENDELOWITZ D. Respiratory sinus arrhythmia: endogenous activation of nicotinic receptors mediates respiratory modulation of brainstem cardioinhibitory parasympathetic neurons. **Circ Res.** , v. 93, p. 565-572, 2003.
- NIELSON, C. P.; VESTAL, R. E. α -Adrenoreceptors and aging. In: AMERY, A.; STAESSEN, J. (Ed.). **Handbook of hypertension**. New York: Elsevier, 1989. cap. 12. p. 51-62.
- NOBREGA ACL; CARVALHO ACG; BASTOS BG. Resting and reflex heart rate response during cholinergic stimulation with pyridostigmine in humans. **Brasilian J. Med Biol. Res.**, n. 29, p. 1461-1465, 1996.
- NOBREGA ACL; CARVALHO ACG; SANTOS KB; SOARES PPS. Pyridostigmine blunts the cardiac response to mental stress. **Clin Auton Res.**, n.9, p.91-97, 1999.
- NÓBREGA, ACL; DOS REIS, AF; MORAES, RS; BASTOS. BG; FERLIN, EL; RIBEIRO, JP. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigmine in healthy subjects. **Clin Auton Res**, n. 11, p. 11-17, 2001.
- NOTARIUS, C. F.; BUTLER, G. C.; ANDO, S.-I.; POLLARD, M. J.; SENN, B. L.; FLORAS, J. S. Dissociation between microneurographic and heart rate variability estimates of sympathetic tone in normal subjects and patients with heart failure. **Clin. Sci.**, v. 96, p. 557-65, 1999.
- OPTIZ, C. F.; MITCHELL, G. F.; PFEFFER, M. A.; PFEFFER, J. M. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat: continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats. **Circulation**, v. 92, n. 2, p. 253-61, 1995.
- PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; GUZZETTI, S.; RIMOLDI, O.; FURLAN, R.; PIZZINELLI, P.; SANDRONE, G.; MALFATTO, G.; DELL'ORTO, S.; PICCALUGA, E.; TURIEL, M.; BASELLI, G.; CERUTTI, S.; MALLIANI, A. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. **Circ. Res.**, v. 59, p. 178-3, 1986.
- PAGANI, M.; MONTANO, N.; PORTA, A.; MALLIANI, A.; ABBOUD, F. M.; BIRKETT, C.; SOMERS, V. K. Relationship between spectral components of

cardiovascular variabilities and direct measures of muscle sympathetic nerve activity in humans. **Circulation**, v. 95, p. 1441-8, 1997.

PANTRIDGE, J. F.; WEBB, S. W.; ADGEY, A. A. Arrhythmias in the first hours of acute myocardial infarction. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, v. 23, n. 4, p. 265-78, 1981. Review.

PFEFFER, M. A. *et al.* Survival after a experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. **Circulation**, v. 72, n. 2, p. 406-11, 1985. Laboratory Investigation. Myocardial infarction.

PFEFFER, M. A.; PFEFFER, J. M.; FISHBEIN, M. C.; FLETCHER, P. J.; SPADARO, J.; KLONER, R. A.; BRAUNWALD, E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. **Circ. Res.**, v. 44, n. 4, p. 503-12, 1979.

PONTES PV; BASTOS BG; MESQUITA ET; NOBREGA ACL. Cholinergic stimulation with pyridostigmine echocardiography analysis in health subjects. **J Am Coll Cardiol**, n. 31, p. 433, 1998.

PORTER, T. R.; ECKBERG, D. L.; FRITSCH, J. M.; REA, R. F.; BEIGHTOL, L. A. SCHMEDTJE, J. F.; MOHANTY, P. K. Autonomic pathophysiology in heart failure patients: sympathetic-cholinergic interrelations. **J. Clin. Invest.**, v. 85, p. 1362-71, 1990.

PRAHASH, A. J. C.; GUPTA, S., G.; ANAND, I. S. Myocyte response to β -adrenergic stimulation is preserved in the noninfarcted myocardium of globally dysfunctional rat hearts after myocardial infarction. **Circulation**, v. 102, p. 1840-6, 2000.

REIS AF; MORAES, RS; BASTOS; BG; FERLIN, E; RIBEIRO, JP; NÓBREGA, ACL. Heart rate variability during cholinergic stimulation with pyridostigmine in healthy subjects. **J Am Coll Cardiol**, 1998B; 31(suppl. C): 407C.

RIMOLDI, O.; PIERINI, S.; FERRARI, A.; CERUTTI, S.; PAGANI, M.; MALLIANI, A. Analysis of short term oscillations of RR and arterial pressure in conscious dogs. **Am. J. Physiol.**, v. 258, p. H967-76, 1990.

ROSAMOND, WD; CHAMBLESS, LE; FOLSOM, AR; COOPER, LS; CONWILL, DE; CLEGG L, *et al.* Trends in the incidence of myocardial infarction and in mortality due to coronary heart disease, 1987 to 1994. **N Engl J Med**, n.339, p.861-867, 1998.

RUBINI, R.; PORTA, A.; BASELLI, G.; CERUTTI, S.; PARO, M. Power spectrum analysis of cardiovascular variability monitored by telemetry in conscious unrestrained rats. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v. 45, n. 3, p. 181-90, 1993.

SAUL, J. P.; ARAI, Y.; BERGER, R. D.; LILLY, L. S.; COLUCCI, W. S.; COHEN, R. J. Assesment of autonomic regulation in chronic congestive heart failure by spectral analysis. **Am. J. Cardiol.**, v. 61, p. 1292-9, 1988.

SAUL, J. P.; REA, R. F.; ECKBERG, D. L.; BERGER, R. D.; COHEN, R. J. Heart rate and muscle sympathetic nerve variability during reflex changes of autonomic activity. **Am. J. Physiol.**, v. 258, p. h713-21, 1990.

SAVIN, WM; DAVIDSON, DM; HASKELL; WL. Autonomic contribution to heart rate recovery from exercise in humans. **J Appl Physiol**, n. 53, p. 1572-1575, 1982.

SCHRIER R. W., ABRAHAM W. T. Mechanisms of Disease: Hormones and Hemodynamics in heart failure. **N. Engl. J. Med.**, v. 341, p. 577-585, 1999.

SCHWARTZ, P. J.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; MALLIANI, A.; BROWN, A. M. A cardiocardiac sympathovagal reflex in the cat. **Circ. Res.**, v. 32, p. 215-20, 1973.

SCHWEIZER, M. W. F.; BRACHMANN, J.; KIRCHNER, U.; WALTER-SACK, I.; DICKHAUS, H.; METZE, C.; KÜBLER, W. Heart rate variability in time and frequency domains: effects of gallopamil, nifedipine, and metoprolol compared with placebo. **Br. Heart J.**, v. 70, p. 252-58, 1993.

SEALS, D. R.; SUWARNO, N. O.; DEMPSEY, J. A. Influence of lung volume on sympathetic nerve discharge in normal humans. **Circ. Res.**, v. 167, p. 130-41, 1990.

SELLER, H. Central baroreceptor pathways. In: PERSON, P. B.; KIRCHHEIM (Ed.). **Baroreceptor reflexes**. Berlim: springer-Verlag, 1991. p. 45-74.

SETBI, R.; DHALLA, K. S.; BEAMISH, R. E. *et al.* Differential changes in left and right ventricular adenylyl cyclase activities in congestive heart failure. **Am. J. Physiol.**, v. 272, p. H884-93, 1997.

SLEIGHT, P.; La ROVERE, M. T.; MORTARA, A. *et al.* Physiology and pathophysiology of heart rate and blood pressure variability in humans: is power spectral analysis largely an index of baroreflex gain? **Clin. Sci.**, v. 88, p. 103-9, 1995.

SOARES PP, DA NÓBREGA AC, USHIZIMA MR, IRIGOYEN MC. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. **Auton Neurosci**. 2004;113(1-2):24-31.

SOARES, Pedro Paulo da Silva; NO´BREGAB, Antonio Claudio Lucas da; USHIZIMAC; Mauro Roberto; IRIGOYE, Maria Claudia Costa. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, n. 113, p.24-31, 2004.

STEPHENSON LA; KOLKA MA. Acetylcholinesterase inhibitor, pyridostigmine bromide, reduces skin blood flow in humans. **Am J Physiol**, n. 258, p. 951-957, 1990. [Regulatory Integrative Comp. Physiol. 27].

SZABO, B. M.; Van VELDHUISEN, D. J.; BROUWER, J.; HAAKSMA, J.; LIE, K. I. Relation between severity of disease and impairment of heart rate variability parameters in patients with chronic congestive heart failure secondary to coronary artery disease. **Am. J. Cardiol.**, v. 76, p. 713-6, 1995.

SZABO, B. M.; Van VELDHUISEN, D. J.; Van der VEER, N., *et al.* Prognostic value of heart rate variability in chronic congestive heart failure secondary to idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy. **Am. J. Cardio.**, v. 79, p. 978-80, 1997.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY; THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY. Guidelines: heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. **Eur. Heart J.**, v. 17, p. 354-381, 1996.

TEERLINK, J. R.; CLOZEL, J. P. Hemodynamic variability and circadian rhythm in rats with heart failure: role of locomotor activity. **Am. J. Physiol.**, v. 264, n. 6, Pt. 2, p. H2111-8, 1993.

THAMES, M. D.; KINUGAWA, T.; SMITH, M. L.; DIBNER-DUNLAP, M. E. Abnormalities of baroreflex control in heart failure. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 22, suppl. A: 56A-60, 1993.

TOBALDINI E, PORTA A, WEI SG, ZHANG ZH, FRANCIS J, CASALI KR, WEISS RM, FELDER RB, MONTANO N. Symbolic analysis detects alterations of cardiac autonomic modulation in congestive heart failure rats. **Auton Neurosci.** 2009;150(1-2):21-26.

VAN DE BORNE, P.; MONTANO, N.; PAGANI, M.; OREN, R.; SOMERS, V. K. Absence of low-frequency variability of sympathetic nerve activity in severe heart failure. **Circulation**, v. 95, n. 6, p. 1449-54, 1997.

VAN DE BORNE, P.; NGUYEN, H.; BISTON, P.; LINKOWSKI, P.; DEGAUTE, J. P. Effects of wake and sleep stages to the 24-hour autonomic control of blood pressure and heart rate in recumbent men. **Am. J. Physiol.**, v. 266, p. H548-54, 1994.

VAN VELDHUISEN, D. J.; BRODDE, O. E.; Van GILST, W. H. *et al.* Relation between myocardial beta-adrenoceptor density and hemodynamic and neuro-humoral changes in a rat model of chronic myocardial infarction: effects of ibopamine and captopril. **Cardiovasc. Res.**, v. 30, p. 386-93, 1995.

VYBIRAL, T; GLASER, DH; MORRIS, G; HESS, KR; YANG, K.; FRANCIS, M; PRATT, C. Effect of low dose of scopolamine in heart rate variability in acute myocardial infarction. **JACC**, n.22, p.1320-1326, 1993.

WALKER MJ, CURTIS MJ, HEARSE DJ, CAMPBELL RW, JANSE MJ, YELLON DM, COBBE SM, COKER SJ, HARNESS JB, HARRON DW, *et al.* The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia infarction, and reperfusion. **Cardiovasc Res**, v. 22, p. 447-455, 1988.

WATANABE, J; THAMILARASAN, M; BLACKSTONE, EH; *et al.* Heart rate recovery immediately after treadmill exercise and left ventricular systolic dysfunction as predictors of mortality: the case of stress echocardiography. **Circulation**, n.104, p.1911-1916, 2001.

WAXMAN, MB; CUPPS, CL; CAMERON, DA. Modulation of an cardioventricular rhythm by vagal tone. **J Am Coll Cardiol**, n.11, p. 1052-1060, 1988.

WIT, A. L.; JANSE, M. J. Ventricular arrhythmias in the acute phase of myocardial ischemia and infarction. In: **The ventricular arrhythmias of ischemia and infarction: electrophysiological mechanisms.** New York: Futura Publishing, 1993. p. 174-260.

ZEHENDER, M. *et al.* Time course and interrelation of reperfusion-induced ST changes and ventricular arrhythmias in acute myocardial infarction. **Am. J. Cardiol.**, v. 68, n. 11, p. 1138-42, 1991.

ZHENG C, LI M, INAGAKI M, KAWADA T, SUNAGAWA K, SUGI MACHIM. Vagal stimulation markedly suppresses arrhythmias in conscious rats with chronic heart failure after myocardial infarction **Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.** 2005;7(1):7072-7075

ZIPES, D. Influence of myocardial ischemia and infarction on autonomic innervation of heart. **Circulation**, v. 82, n. 4, p. 1095-105, 1990.

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](#)