

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Papel dos Barorreceptores na Regulação Neural da  
Pressão Arterial em Camundongos.

*Fernanda Luciano Rodrigues*

RIBEIRÃO PRETO

2010

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Fernanda Luciano Rodrigues

Papel dos Barorreceptores na Regulação Neural da  
Pressão Arterial em Camundongos.

Tese apresentada ao Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutora em Fisiologia.

**Orientador: Prof. Dr. Rubens Fazan Junior**

RIBEIRÃO PRETO  
2010

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE  
TRABALHO, POR MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE  
ESTUDO OU PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.**

### **FICHA CATALOGRÁFICA**

Rodrigues, Fernanda Luciano  
Papel dos Barorreceptores na Regulação Neural da Pressão  
Arterial em Camundongos. Ribeirão Preto, 2010.  
99 p.: Il.; 30 cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina  
de Ribeirão Preto – FMRP/USP – Área de Concentração: Fisiologia  
Orientador: Fazan Junior, Rubens

1. Barorreflexo. 2. Camundongos. 3. DSA. 4. Variabilidade

**FERNANDA LUCIANO RODRIGUES**

**PAPEL DOS BARORRECEPTORES NA REGULAÇÃO  
NEURAL DA PRESSÃO ARTERIAL EM  
CAMUNDONGOS.**

Tese apresentada ao Departamento de Fisiologia da  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da  
Universidade de São Paulo, para obtenção do título de  
Doutora em Fisiologia.

Ribeirão Preto, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2010.

**BANCA EXAMINADORA**

**Docente:** \_\_\_\_\_

**Instituição:** \_\_\_\_\_

**Assinatura:** \_\_\_\_\_

**Docente:** \_\_\_\_\_

**Instituição:** \_\_\_\_\_

**Assinatura:** \_\_\_\_\_

**Docente:** \_\_\_\_\_

**Instituição:** \_\_\_\_\_

**Assinatura:** \_\_\_\_\_

**Docente:** \_\_\_\_\_

**Instituição:** \_\_\_\_\_

**Assinatura:** \_\_\_\_\_

**Docente:** \_\_\_\_\_

**Instituição:** \_\_\_\_\_

**Assinatura:** \_\_\_\_\_

## *Dedico este trabalho:*

- ***À minha mãe Maria Christina,***

Por sempre estar ao meu lado, incentivando a realização deste trabalho, por me impedir de desistir no meio do caminho e por ter aberto mão de tantas coisas para que não me faltasse nada agora e no futuro.

- ***Ao meu irmão Gustavo,***

Pela paciência nas ocasiões em que fui intolerante e egoísta e por me amar sempre, incondicionalmente.

- ***Ao meu companheiro Matheus,***

Por estar ao meu lado, independente das minhas atitudes e das palavras duras, por impedir que eu desistisse no meio do caminho e por lutar até o fim para que meus sonhos se realizassem.

- ***Ao meu avô Luciano (in memorian),***

Por sempre ter sido minha fonte de inspiração, apesar do pouco tempo que convivemos juntos. Gostaria que estivesse aqui para aplaudir de pé a minha vitória. Mas sei que olha por mim todos os dias. Amo-te!

- ***Às minhas amigas, Alessandra e Kelly,***

Pelos momentos de descontração, pelo amor incondicional e por me mostrarem que não podemos desistir frente às dificuldades. Amigas para toda vida!

# AGRADECIMENTOS

*Meus mais sinceros agradecimentos:*

- Ao meu orientador, Prof. Dr. Rubens Fazan Junior, por ter me recebido em seu laboratório, pelo apoio científico e emocional durante todos estes anos e por sempre me incentivar a ser uma grande pesquisadora.
- Ao Prof. Dr. Hélio Cesar Salgado, pelos ensinamentos e por toda atenção que sempre me deu.
- Ao Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pela grande contribuição científica, por ter me auxiliado com a análise de dados deste estudo e por aceitar me receber em seu laboratório para realização do meu pós-doutorado.
- Ao técnico de laboratório e grande amigo Mauro de Oliveira, pelo grande auxílio na preparação cirúrgica dos animais utilizados neste trabalho e pela imensa amizade e companheirismo durante todo tempo em que estive no laboratório. Sem o seu trabalho este estudo não teria sido concluído. Obrigado por tudo!
- Ao técnico de laboratório Jaci A. Castania pela amizade e apoio durante a realização deste trabalho, pelos momentos de descontração e pelo carinho com que sempre me tratou.
- Aos técnicos de laboratório Carlos Alberto Aguiar e Leni G. H. Bonagamba, pelo apoio profissional e pessoal durante o desenvolvimento deste trabalho.
- Aos meus companheiros de pós-graduação, Daniel Penteado, Renata, Daniel Zoccal, Érika, Marina, João Paulo, Gabriela, Carlos Eduardo, Fernanda

Machado, Davi, João Fernando, Márcio, Mateus e todos que não citei aqui, mas fazem parte do meu dia a dia no Departamento.

- Aos funcionários da secretaria do Departamento de Fisiologia, Cláudia, Elisa, Fernandinho e Carlos, pelo excelente trabalho e por todo auxílio que sempre me deram.
- Aos bioteristas Léo e Eduardo, pelo cuidado com os animais de experimentação e pela amizade e bom humor com que sempre me trataram.
- Aos amigos Luis Gustavo e Mariana, pelos momentos de diversão nos intervalos da redação deste trabalho e pela presença constante em minha vida, nos bons e maus momentos. Amo vocês!
- Às minhas amigas Soninha e Neusa, pelo exemplo de vida, pelo amor incondicional aos animais, sempre lutando contra tudo e contra todos.
- Aos amigos Reginaldo e Gastón Alonso, maridos das minhas irmãs Alessandra e Kelly, pela amizade, companheirismo, momentos de descontração e por sempre terem me recebido com tanto carinho em suas casas. Amigos para toda vida.
- À minha amiga Luciana Cláudia, pelos ótimos momentos que passamos juntas, pelas confidências trocadas, pelos passeios maravilhosos e pelas inúmeras risadas que demos juntas.
- A todos aqueles que por ventura esqueci-me de citar aqui, mas que fazem parte da minha vida e estarão sempre em meu coração.



“A imaginação é mais importante que o conhecimento. Conhecimento auxilia por fora, mas só o amor socorre por dentro. Conhecimento vem, mas a sabedoria tarda.”

**ALBERT EINSTEIN**

## RESUMO

O presente estudo avaliou o papel dos barorreceptores arteriais (aórticos e carotídeos) na regulação da pressão arterial (PA) e intervalo de pulso (IP) em camundongos acordados. Cinco dias antes dos experimentos, camundongos C57Bl foram submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA) ou desnervação seletiva dos barorreceptores do arco aórtico (Ao-X) ou seio carotídeo (Ca-X), e receberam cânulas na artéria femoral e veia jugular. Após registro basal da PA, os camundongos receberam fenilefrina e bloqueadores de receptores autonômicos (metil atropina ou propranolol), para avaliação do tono autonômico cardíaco. A variabilidade da PA e do IP foram avaliadas no domínio do tempo, por cálculos estatísticos, e da frequência, por análise espectral (FFT), com espectros quantificados nas bandas de LF (0,25-1,0 Hz) e HF (1,0-5,0 Hz). O barorreflexo espontâneo foi avaliado por meio da técnica da seqüência. A PA e sua variabilidade total foram maiores nos animais submetidos à DSA, Ao-X ou Ca-X. O IP não diferiu entre os grupos, porém sua variabilidade total foi menor após a DSA. Atropina não alterou o IP dos camundongos desnervados (total ou parcialmente), mas causou taquicardia nos intactos. A bradicardia após propranolol foi maior nos animais submetidos à DSA, Ao-X ou Ca-X. O aumento na variabilidade total da PA foi acompanhado de um significativo aumento no LF e HF dos espectros da PA sistólica dos camundongos submetidos à DSA, Ao-X e Ca-X. Por outro lado, o LF e o HF da variabilidade do IP foram reduzidos após a DSA, Ao-X ou Ca-X, embora essa queda tenha sido menor nos camundongos submetidos à desnervação parcial (Ao-X ou Ca-X). O número de seqüências barorreflexas não foi alterado pela DSA, embora o ganho destas seqüências tenha sido reduzido após a remoção das aferências barorreceptoras. O duplo bloqueio de receptores autonômicos reduziu drasticamente

o número de seqüências PA/IP, tanto nos camundongos intactos como nos submetidos à DSA. Os resultados demonstraram que a presença de ambos os conjuntos de barorreceptores é necessária para manter a PA em níveis normais. Além disso, ambos os conjuntos de barorreceptores parecem ser igualmente importantes na regulação do tono autonômico cardíaco em camundongos. A análise espectral demonstrou um importante papel dos barorreceptores arteriais nas oscilações de LF do IP. O número de seqüências PA/IP antes e após o duplo bloqueio autonômico sugere que 5 dias após a DSA, os camundongos ainda apresentam variações no IP, que são dirigidas pela PA e mediadas pelo sistema nervoso autônomo.

## ABSTRACT

This study evaluated the role of arterial baroreceptors on arterial pressure (AP) and pulse interval (PI) regulation in mice. Male C57BL mice were submitted to sinoaortic (SAD), aortic (Ao-X) or carotid sinus (Ca-X) denervation, implanted with catheters into femoral artery and jugular vein and allowed to recover for 5 days. After basal recording of AP, mice received phenylephrine, to determine the efficacy of SAD, followed by cardiac autonomic receptor blockers methyl atropine or propranolol. AP and PI variability were evaluated in time domain (statistical approaches) and in frequency domain by spectral analysis (FFT) with the spectra quantified in low (LF: 0.25-1 Hz) and high frequency (HF: 1-5 Hz) bands. Moreover spontaneous baroreflex was evaluated by sequence analysis of spontaneous variability of AP/PI. AP and AP variability were markedly higher after SAD, Ao-X or Ca-X, as compared to intact mice. PI was similar among groups, while PI variability was lower after SAD. Atropine did not change PI after total or partial denervation while elicited tachycardia in control mice. The bradycardia caused by propranolol was marked higher after SAD, Ao-X or Ca-X, as compared to intact mice. The increase in overall variability of AP was accompanied by a marked increase in LF and HF power of AP spectra after baroreceptor denervation. LF and HF power of PI spectra were reduced by SAD as well as by Ao-X and Ca-X. The number of AP/PI sequences was similar between SAD and intact mice. Nevertheless, the gain of AP/PI sequences was remarkably impaired by SAD. Double autonomic blockade significantly reduced the number of AP/PI sequences in intact and SAD mice. These findings showed that SAD, as well as partially denervated mice, were slightly hypertensive with remarkable increased of AP variability and cardiac sympathetic tone. Both sets of baroreceptors seem to be equally important in autonomic regulation of cardiovascular system in

mice. Spectral analysis showed an important contribution of baroreflex in the power of LF oscillations of PI spectra. Number of AP/PI sequences (sequence analysis) before and after double autonomic blockade strongly suggests that after 5 days of SAD, mice does have pressure driven changes in PI, mediated by autonomic nervous system.

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Ao-X	desnervação aórtica
BEI	baroreflex effectiveness index
bpm	batimentos por minuto
Ca-X	desnervação carotídea
cols	colaboradores
DSA	desnervação sino-aórtica
EPM	erro padrão da média
FC	frequência cardíaca
FFT	fast Fourier transform
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
g	grama
HF	high frequency
Hz	hertz
IP	intervalo de pulso
iv	intravenoso
kg	quilograma
kHz	quilohertz
LF	low frequency
mg	miligrama
min	minuto
mL	mililitro
mmHg	milímetros de mercúrio
μg	micrograma
ms	milisegundos
n <sup>o</sup>	número

p	probabilidade
PA	pressão arterial
PAD	pressão arterial diastólica
PAM	pressão arterial média
PAS	pressão arterial sistólica
RMSSD	square root of the mean of the sum of the square of differences
R-R	intervalo R-R
s	segundos
SAP	systolic arterial pressure
Seq	seqüências
SDNN	standard deviation of successive normal values
un	unidades normalizadas
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
VLF	very low frequency

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
- Variabilidade da PA e FC e Modulação Autonômica Cardiovascular .....	19
- Barorreceptores Arteriais e Variabilidade da FC .....	22
- Técnica da Seqüência para Estudo do Ganho do Barorreflexo .....	24
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
<b>3. MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
- Animais .....	30
- Preparo dos cateteres vasculares .....	30
- Procedimentos cirúrgicos .....	30
- Grupos experimentais .....	31
- Protocolo experimental .....	32
- Análise de dados.....	33
- Análise estatística .....	34
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
- Teste da Efetividade da DSA .....	37
- Parâmetros Basais e Variabilidade no Domínio do Tempo.....	39
- Análise Espectral da Variabilidade da PA e FC .....	43
- Tono Autonômico Cardíaco.....	48
- Estudo do Barorreflexo Espontâneo .....	51
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>56</b>
- Papel do Barorreflexo na Modulação Autonômica Cardiovascular .....	68
- Estudo do Barorreflexo Espontâneo pela Técnica da Seqüência .....	72
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>80</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>82</b>

**ARTIGO**



## *1. INTRODUÇÃO*

---

A pressão arterial (PA) deve ser continuamente mantida dentro de estreitos limites de variabilidade, a fim de que todos os órgãos e tecidos sejam idealmente perfundidos. Essa manutenção é feita por meio de vários mecanismos que, de certa forma, são inter-relacionados. Dentre esses, a regulação neural (autônoma) da circulação desempenha um papel fundamental, especialmente para os ajustes rápidos da PA [Salgado e cols 2004].

O mecanismo neural de controle da PA mais estudado, e provavelmente o mais importante, é o barorreflexo arterial. O barorreflexo arterial é o principal responsável pela regulação momento a momento da PA. Ele exerce importante papel na regulação da frequência cardíaca (FC), débito cardíaco, contratilidade miocárdica, vasomotricidade e distribuição regional de fluxo sanguíneo.

O barorreflexo tem sua origem em mecanorreceptores constituídos de terminações nervosas livres, as quais se situam na adventícia dos grandes vasos torácicos e cervicais, agrupados na curvatura da aorta e no seio carotídeo [Guyton 1986]. As aferências barorreceptoras originadas nos seios carotídeos trafegam através nervo do seio carotídeo (nervo de Hering), que se une ao glossofaríngeo (IX par craniano) para alcançar o sistema nervoso central [Ciriello e cols 1981, Seiders e Stuesse 1984]. As aferências barorreceptoras do arco aórtico trafegam no nervo depressor aórtico (nervo de Cyon) que se junta ao vago (X par craniano) para alcançar o sistema nervoso central [Ciriello 1983, Higgins e cols 1984]. A eferência deste reflexo por sua vez, é constituída pelo sistema nervoso autônomo, simpático e parassimpático [Cyon e Ludwig 1866].

Quando a PA se eleva, ocorre um aumento na atividade dos barorreceptores, inibindo, reflexamente, a atividade simpática para o coração e os vasos. A essa redução na atividade simpática associa-se um aumento da atividade parassimpática

(vagal), que pode ser observada, facilmente, por uma nítida bradicardia. A redução da atividade simpática, e aumento da atividade vagal, tendem a produzir uma redução da resistência periférica total e do débito cardíaco, determinando assim, a volta da PA aos níveis normais. Por outro lado, quedas súbitas na PA diminuem a atividade dos barorreceptores, fazendo com que haja, reflexamente, desinibição da atividade simpática, associada à inibição vagal, o que promove um aumento na resistência periférica e no débito cardíaco, determinando o retorno da PA aos níveis normais [Salgado e cols 2004].

A importância do barorreflexo no controle da PA tem sido bastante estudada, tanto em nível clínico, como experimental. Uma das abordagens para avaliação da importância dos barorreceptores é a desnervação sino aórtica (DSA), onde as aferências do barorreflexo são destruídas cirurgicamente. Inicialmente, estudos realizados em animais submetidos à DSA, sugeriam que os mesmos se tornavam hipertensos, sendo então descrita a chamada “hipertensão neurogênica” [Krieger, 1964, Ferrario e cols 1969, Ito e Scher 1981]. Porém, estudos posteriores mostraram que esta hipertensão era apenas um artefato associado a respostas a estímulos ambientais, em animais que não possuíam um mecanismo para prevenir alterações bruscas na PA [Cowley e cols 1973, Norman e cols 1981, Webb e cols 1986]. O estudo clássico de Cowley e colaboradores [1973] estabeleceu que, quando medidas da PA eram feitas continuamente, em cães com DSA, a PA dos mesmos era apenas 10 mmHg maior do que a observada nos animais intactos. Todavia, alguns estudos utilizando técnicas similares para medir a PA demonstraram que ratos submetidos à DSA crônica são ligeiramente hipertensos [Alexander e cols 1980].

Independente dos níveis de PA após a DSA, todos os estudos indicam que a variabilidade da PA está exageradamente aumentada após a remoção das aferências barorreceptoras [Krieger 1964, Trindade e Krieger 1984, Alper e cols 1987]. A remoção ou a destruição das aferências dos barorreceptores, em condições experimentais ou patológicas, produz um desbalanço no controle reflexo cardiovascular que resulta na incapacidade em manter a PA dentro de uma estreita faixa de variação, induzindo uma exagerada variabilidade desta [Cowley e cols 1973, Trindade e Krieger 1984]. De fato, vários estudos têm demonstrado um aumento marcante na variabilidade da PA após a DSA em ratos [Buchholz e cols 1986, Alper e cols 1987, Shan e cols 2004], gatos [Di Rienzo e cols 1991] e cães [Cowley e cols 1980].

A contribuição relativa dos barorreceptores aórticos e carotídeos na regulação da PA também tem sido avaliada em diferentes modelos experimentais [Kumada e cols 1970, Edis 1971, Guo e cols 1982, Ludbrook e Ventura 1996, Thrasher e Shifflett 2001]. Para isso, a desnervação seletiva dos barorreceptores da aorta ou do seio carotídeo é comumente empregada. Ito e Scher [1978, 1979] demonstraram, em cães acordados submetidos à desnervação seletiva (aórtica ou carotídea), que as respostas reflexas da FC a elevações na PA são reduzidas, em maior extensão, pela ausência dos barorreceptores aórticos do que pela desnervação carotídea, sugerindo que os barorreceptores aórticos são mais efetivos no controle reflexo da FC. Por outro lado, Guo e colaboradores [1982] demonstraram que os barorreceptores aórticos e carotídeos contribuem igualmente para o controle barorreflexo da FC em coelhos. Ainda, estudos sobre a participação dos barorreceptores aórticos e carotídeos no controle da variabilidade da PA em ratos têm demonstrado que a desnervação aórtica promove um grande aumento da

variabilidade da PA [Fink e cols 1981, Dent e cols 1982] enquanto que, a desnervação carotídea, praticamente não altera essa variabilidade [Ito e Scher, 1978, O' Leary e Scher, 1988].

Recentes progressos na genética molecular têm possibilitado a criação de modificações genéticas bem definidas dentro dos sistemas orgânicos. Por razões metodológicas, a maioria dos modelos de animais geneticamente manipulados é gerada em camundongos, fazendo com que o uso dessa espécie em estudos de mecanismos fisiológicos e fisiopatológicos, esteja aumentando vertiginosamente [Gassmann e Hennet 1998, James e cols 1998, Gu e cols 2008]. Em relação ao sistema cardiovascular, recentes estudos envolvendo modelos de camundongos geneticamente alterados têm sido de grande importância para a avaliação dos efeitos de mutações gênicas específicas sobre fenótipos, mecanismos eletrofisiológicos e moleculares envolvidos na regulação do sistema cardiovascular [Mansier e cols 1996, Jumrussirikul e cols 1998, Uechi e cols 1998, Wickman e cols 1998, Stauss e cols 1999, Chen e cols 2005, Tank e cols 2007].

Entretanto, embora exista uma relativa facilidade na obtenção de manipulações genéticas em camundongos, o pequeno porte físico desses animais dificulta, sobremaneira, a sua utilização em estudos que dependam de sua instrumentação cirúrgica. Assim, muito do conhecimento obtido em animais de experimentação como o rato ou outras espécies maiores, ainda não se encontra disponível em camundongos normais ou geneticamente manipulados.

### *Variabilidade da PA e FC e Modulação Autonômica Cardiovascular*

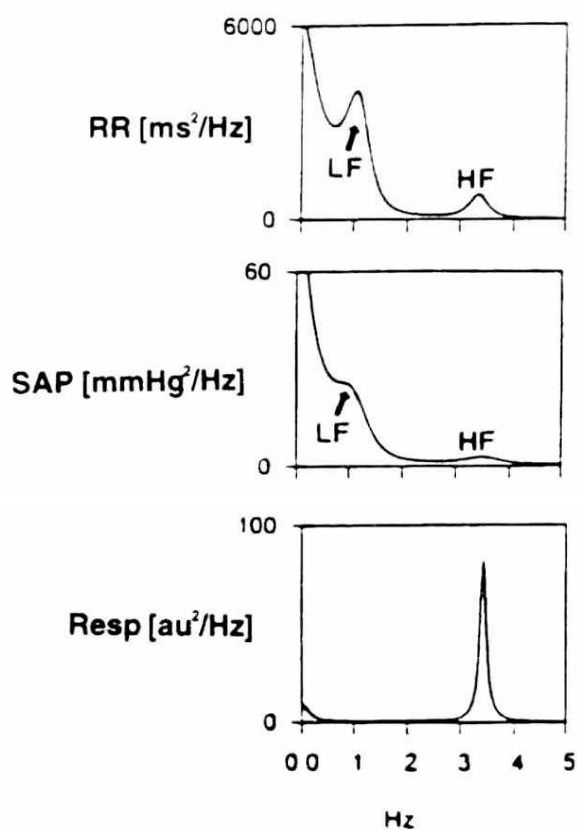
É conhecido que os parâmetros cardiovasculares, como a PA e FC, possuem certa variabilidade espontânea.

Avaliações da variabilidade da PA, FC e da sensibilidade barorreflexa têm ganhado muita importância, uma vez que as mesmas refletem a modulação autonômica sobre o coração [Malliani e cols 1991, Somers e Abboud 1994]. Em seres humanos, reduções na variabilidade da FC e na sensibilidade do barorreflexo arterial são preditoras de risco de morbidade e mortalidade em várias doenças cardiovasculares, como: infarto agudo do miocárdio [Kleiger e cols 1987, La Rovere e Schwartz 1997], insuficiência cardíaca [Binkley e cols 1991], hipertensão arterial [Guzzetti e cols 1991], entre outras. Ainda, o aumento na variabilidade da PA está associado a lesões em órgãos alvo e aumento do risco cardiovascular [Parati e cols 1987a, Zanchetti e Mancia 1987, Mancia e cols 1994]. A análise da variabilidade cardiovascular tem permitido quantificar, com relativa acuidade, a participação da modulação simpática e parassimpática sobre a atividade cardíaca e vasomotora, em condições fisiológicas e fisiopatológicas [Malliani e cols 1991, Task Force 1996, Mésangeau e cols, 2000].

Em especial, o estudo da variabilidade cardiovascular no domínio da frequência (análise espectral) revela a existência de oscilações na variabilidade da FC e da PA, caracterizadas por frequências distintas (figura 1):

(1) uma oscilação associada à respiração, conhecida como oscilação de alta frequência (HF: high frequency), que na PA, reflete os efeitos mecânicos diretos da respiração e, na FC, é modulada pelo sistema nervoso parassimpático e gerada pela respiração (2) uma oscilação mais lenta, conhecida como oscilação de baixa frequência (LF: low frequency), na PA, associada à modulação simpática vasomotora. Assim como na PA, a FC também apresenta oscilações de LF associadas à modulação simpática do coração, entretanto, existem evidências de que o parassimpático e o barorreflexo também contribuam para a gênese dessas

oscilações e (3) uma oscilação muito lenta, conhecida como oscilação de muito baixa frequência (VLF: very low frequency) cuja origem não é completamente conhecida. Existem evidências de que fatores humorais, como sistema renina-angiotensina, peptídeo natriurético atrial, entre outros, além de fatores físicos, como temperatura, estejam envolvidos na gênese dessas oscilações, tanto na PA como na FC [Pagani e cols 1986, Malliani e cols 1991, Task Force 1996].



**Figura 1:** Espectros ilustrativos do intervalo RR (painel superior), pressão arterial sistólica (SAP, painel intermediário) e da atividade respiratória (painel inferior), mostrando os componentes oscilatórios principais (LF e HF), encontrados na FC e na PA (modificado de Montano e cols. *Circulation* 98: 1394-1399, 1998).

O estudo da variabilidade cardiovascular em camundongos geneticamente alterados abre uma nova perspectiva de investigação dos eventuais aspectos genéticos relacionados ao controle autonômico cardiovascular, e as alterações autonômicas associadas a uma série de doenças cardiovasculares.

Estudos recentes em camundongos normais têm revelado a existência de componentes oscilatórios na variabilidade da FC e da PA, similares aos observados em humanos e em outras espécies animais, entretanto, em frequências distintas: (1) um entre 1,5 e 4 Hz (HF), relacionado à respiração, (2) um componente entre 0,3 e 1,5 Hz (LF), possivelmente associado à modulação simpática cardiovascular e (3) componente com frequência menor que 0,3 Hz (VLF) [Gehrmann e cols 2000, Janssen e cols 2000, Fazan Jr e cols 2005].

#### *Importância dos Barorreceptores Arteriais na Gênese da Variabilidade da FC:*

Estudos em seres humanos e em animais de experimentação têm mostrado que as oscilações na faixa de LF nos espectros da PA e da FC são acopladas entre si, sendo que as oscilações da PA precedem as da FC [Pagani e cols 1986, Malliani e cols 1991]. A redução da sensibilidade barorreflexa, observada em várias condições fisiopatológicas humanas e especialmente na DSA, desacopla as oscilações de LF da FC daquelas observadas na PA, além de reduzir a potência das oscilações de LF da FC [Cerutti e cols 1994, Bertram e cols 1998]. Tais observações indicam um importante papel do barorreflexo na modulação das oscilações de LF da FC. Assim, diversos estudos propõem o uso da análise espectral cruzada, entre PA e FC, como uma ferramenta para a avaliação da sensibilidade do barorreflexo espontâneo [deBoer e cols 1987, Pagani e cols 1988]. A função de transferência entre as oscilações de LF da PA e FC, tem sido usada como ferramenta para



avaliação do ganho do barorreflexo cardíaco espontâneo, tanto em humanos, quanto em animais de experimentação. Oscilações da PA e da FC em frequências altas (HF) não são desacopladas pela redução da sensibilidade do barorreflexo, ou pela completa desnervação dos mesmos [Cerutti e cols 1994], o que sugere que, na faixa de HF, a análise espectral cruzada entre PA e FC não deve ser usada para o cálculo do ganho do barorreflexo.

Em camundongos, a importância do barorreflexo na regulação da PA pode ser avaliada pelo grande aumento na variabilidade da PA após a DSA experimental [Fazan Jr e cols 2005, Martinka e cols, 2005]. É conhecido o fato de que, a habilidade do barorreflexo em regular as oscilações da PA varia, dependendo da frequência em que essas oscilações ocorrem [Fazan Jr e cols 2005, Julien 2006]. A frequência das bandas onde as oscilações da PA e FC ocorrem em camundongos, já foi previamente investigada [Uechi e cols 1998, Janssen e cols 2000, Just e cols 2000, Fazan Jr e cols 2005, Baudrie e cols 2007]. Recentemente, a magnitude da função de transferência entre as oscilações da PA e FC tem sido utilizada como índice de sensibilidade do barorreflexo espontâneo em camundongos acordados [Head e cols 2004, Gross e cols 2005, Adams e cols 2006].

Embora o perfil espectral das oscilações cardiovasculares de camundongos seja similar ao de outras espécies, a modulação barorreceptora da variabilidade cardiovascular e, em especial, das oscilações na faixa de LF foram pouco estudadas nessa espécie. Além disso, não está completamente esclarecido, em camundongos, se a relação entre as oscilações de LF da FC e da PA pode ser considerada um bom índice de sensibilidade barorreflexa espontânea.

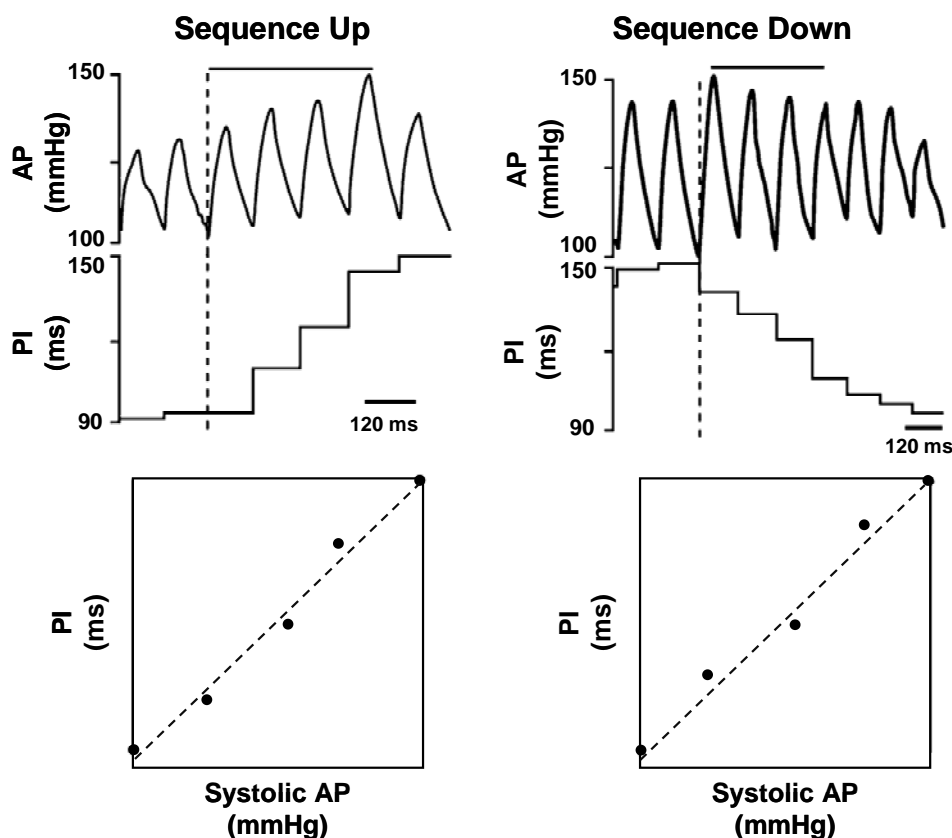
O pequeno porte destes animais dificulta, sobremaneira, a determinação da sensibilidade barorreflexa através de métodos tradicionalmente usados em animais

maiores (múltiplas injeções intravenosas de agentes vasoativos). Assim, a determinação da sensibilidade barorreflexa espontânea, e das modulações simpática e parassimpática cardiovasculares, mediante o emprego da análise espectral, será de grande valia no estudo dos mecanismos do controle reflexo cardiovascular, tanto em camundongos normais, quanto naqueles geneticamente alterados (futuros estudos).

#### *Técnica da Seqüência para Estudo do Barorreflexo Espontâneo:*

A análise espectral cruzada tem sido comumente utilizada para estudar o barorreflexo espontâneo em diferentes espécies, incluindo camundongos [Robbe e cols 1987, Janssen e cols 2000, Laude e cols 2004, Chen e cols 2005, Adams e cols 2006]. Outra metodologia, que vem sendo utilizada para avaliar o barorreflexo espontâneo, é a técnica da seqüência [Bertinieri e cols 1985, Laude e cols 2008].

A técnica da seqüência foi primeiramente descrita por Di Rienzo e colaboradores [1985] e consiste na busca, em séries temporais de PA sistólica e intervalo R-R (ou IP), de seqüências espontâneas onde ocorram consecutivos aumentos ou quedas na PA sistólica, com alterações paralelas no intervalo R-R, sugerindo respostas barorreflexas [Laude e cols 2008]. Uma regressão linear entre a PA sistólica e o intervalo R-R é então calculada, para cada seqüência encontrada, e o coeficiente angular desta regressão utilizado como índice de sensibilidade do barorreflexo espontâneo (figura 2) [Hughson e cols 1993, Iellamo e cols 1996].



**Figura 2:** Traçados representativos de uma seqüência “up” (painel esquerdo), onde a PA está subindo, e uma seqüência “down” (painel direito), onde a PA está caindo. Abaixo dos traçados da PA, estão representados os traçados de IP correspondentes. Os gráficos abaixo dos traçados representam o cálculo da regressão linear obtida entre o IP e a PA sistólica (Modificado de Lu e cols. *Neuron* 64: 885-897, 2009).

A completa descrição deste método foi feita posteriormente em gatos anestesiados [Bertinieri e cols 1988], onde foi descrita a duração das seqüências e os parâmetros ideais para obtenção dos melhores preditores do ganho do barorreflexo. Com base nesta descrição, a técnica da seqüência foi adaptada para utilização em outras espécies como ratos [Moffitt e cols 2005, Stauss e cols 2006] e humanos [Parati e cols 2000, Laude e cols 2004].

Recentemente, a técnica da seqüência tem sido comumente utilizada para estudo do barorreflexo em camundongos acordados, com o uso de diferentes

parâmetros (duração das seqüências, limiar para alterações na PA e IP, limiar para o coeficiente de correlação entre as alterações na PA e IP, retardo entre os valores de PA e IP) [Gross e cols 2002, Chen e cols 2005, Martinka e cols 2005, Adams e cols 2006, Zhang e cols 2006].

Embora a técnica da seqüência venha sendo exaustivamente utilizada para estimar o ganho do barorreflexo em camundongos, em especial em estudos que avaliam o efeito de genes específicos ou diferentes tratamentos sobre a sensibilidade do barorreflexo, até onde sabemos, não existem relatos na literatura, da utilização desta técnica em camundongos submetidos à DSA.

Os valores derivados dos recentes procedimentos para estimativa do ganho do barorreflexo espontâneo têm sido sistematicamente comparados aos valores obtidos com as técnicas tradicionais, que induzem, farmacologicamente, alterações na PA e os resultados são conflitantes [Pitzalis e cols 1998, Lipman e cols 2003, Laude e cols 2004, Parati e cols 2004, Moffitt e cols 2005].

## *2. OBJETIVOS*

---

O objetivo geral do presente estudo foi examinar, em camundongos, o papel dos barorreceptores aórticos e carotídeos sobre a regulação da PA e do IP.

Para tanto, utilizamos camundongos acordados, submetidos à desnervação sino-aórtica, assim como à desnervação seletiva dos barorreceptores localizados no arco aórtico ou seio carotídeo.

Avaliamos também a influência do barorreflexo sobre a modulação simpática e parassimpática da FC e variabilidade da FC.

### *3. MÉTODOS*

---

### Animais:

Foram utilizados camundongos machos, adultos, da linhagem C57Bl/6J, pesando em torno de 30 g, adquiridos do Biotério da Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP (CEMIB) ou do Biotério Central do Campus da USP de Ribeirão Preto. Os camundongos foram levados ao Biotério do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, onde permaneceram em estantes ventiladas (Modelo 9902-001, Alesco, SP), sob temperatura controlada de  $21 \pm 1$  °C, ciclo claro/escuro de 12 h e com livre acesso à água e ração.

### Preparo dos cateteres vasculares:

Cateteres destinados à artéria femoral direita foram confeccionados com tubos de Micro-Renathane (MRE-025, diâmetro externo 0,64 mm e interno 0,30 mm, Braintree Scientific), esticados em ar quente. Os cateteres destinados à veia jugular direita foram confeccionados com tubos de polietileno PE-10 (diâmetro externo 0,61 mm e interno 0,28 mm, Clay-Adams), inseridos em tubos de polietileno com maior diâmetro (PE-50, diâmetro externo 0,96 mm e interno 0,58 mm, Clay-Adams).

### Procedimentos Cirúrgicos:

Os camundongos foram anestesiados com uma mistura de ketamina e xilazina (85 µg/g e 10 µg/g, respectivamente), subcutaneamente, e mantidos sob temperatura controlada.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados em condições assépticas, sob visão de um microscópio cirúrgico (DF Vasconcelos modelo MCM 5, São Paulo). A DSA foi realizada segundo a técnica descrita por Krieger [1964], adaptada para o camundongo. Cada animal foi colocado na posição supina e



submetido a uma cervicotomia, expondo a bifurcação das carótidas. O gânglio cervical superior e o nervo laríngeo superior foram visualizados, isolados e removidos. A adventícia e o tecido conectivo associado à região do seio carotídeo foram dissecados, incluindo as carótidas adjacentes interna, externa, e artéria occipital. Após este procedimento ter sido realizado bilateralmente, as incisões foram suturadas. Camundongos controles (intactos) foram submetidos à desnervação fictícia, envolvendo a exposição da bifurcação das carótidas, sem lesar as inervações. A efetividade da DSA foi confirmada pela ausência de respostas reflexas da FC a aumentos na PA, induzidos por infusões em rampa de fenilefrina (1 mg/mL). A desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos (Ao-X) foi realizada através da visualização, isolamento e remoção do gânglio cervical superior e do nervo laríngeo superior, mantendo região do seio carotídeo intacta. Na desnervação carotídea (Ca-X), a camada adventícia e o tecido conectivo associado à região do seio carotídeo foram dissecados e removidos, sem a retirada do gânglio cervical superior e do nervo laríngeo recorrente.

No mesmo ato cirúrgico da desnervação (total, parcial ou fictícia), os camundongos receberam cateteres na artéria femoral e veia jugular direita, para registro da PA e administração de drogas, respectivamente. Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram deixados em recuperação em gaiolas individuais, com livre acesso a água e ração, no laboratório onde foram realizados os experimentos.

#### Grupos Experimentais:

1. Intactos: camundongos submetidos à desnervação fictícia (n=27);
2. DSA: camundongos submetidos à completa remoção das aferências dos barorreceptores (n=25);

3. Ao-X: camundongos submetidos à desnervação dos barorreceptores aórticos (n=14);
4. Ca-X: camundongos submetidos à desnervação dos barorreceptores carotídeos (n=13).

Protocolo Experimental:

Todos os experimentos foram realizados 5 dias após a realização dos procedimentos cirúrgicos, em camundongos acordados, movendo-se livremente em gaiolas individuais. No dia dos experimentos, o cateter arterial foi conectado a um transdutor de pressão (DPT-100; Deltran<sup>®</sup>, Utah Medical Products Inc, EUA.) e a PA foi continuamente amostrada (4 kHz), usando um computador IBM equipado com uma interface analógico-digital (Di220; Dataq, Akron, Ohio, EUA). O cateter venoso foi conectado a uma seringa de micro-volumes (0-100 µL, Hamilton Company, Reno, Nevada), por meio de uma extensão de polietileno PE-10 e a mesma conectada a uma bomba de infusão (Orion, Sage<sup>®</sup>, modelo M361). A temperatura dentro da sala de registro foi mantida entre 22 e 24° C.

Após um registro basal durante 30 minutos, a PA foi elevada em rampa (30-40 mmHg em 15-20 s) pela infusão intravenosa de fenilefrina (1 mg/mL, 0,003 mL/min). Quando necessário, a velocidade de infusão de fenilefrina foi ajustada para que a rampa de subida da PA fosse semelhante em todos os camundongos estudados.

Vinte a 30 minutos após a infusão de fenilefrina, com a PA e FC de volta aos níveis basais, os camundongos receberam metil-atropina (2 µg/g, iv) e propranolol (4 µg/g, iv), separados por um intervalo de 15 minutos. Esses bloqueadores de receptores autonômicos foram administrados na ordem inversa, ou seja, propranolol,

seguido de metil atropina, em diferentes grupos de camundongos. O registro da PA foi mantido por 15 minutos após o uso de ambos os bloqueadores autonômicos (duplo bloqueio de receptores autonômicos).

#### Análise dos Dados:

Os registros da PA foram analisados por um programa computacional que detecta pontos de inflexão em sinais periódicos (Advanced CODAS, Dataq Instruments, OH, EUA). Foram então geradas séries temporais da PA sistólica, batimento a batimento. Séries temporais de intervalo de pulso (IP) também foram calculadas, pelos intervalos entre consecutivos valores de pressão diastólica. Todas as séries temporais foram obtidas para cada período do experimento, ou seja, basal e após administração dos bloqueadores autonômicos.

Para cada período de registro, foram calculados índices de variabilidade da PA e IP no domínio do tempo. A variabilidade da PA foi quantificada por meio do desvio padrão de valores sucessivos de PA (SDNN). A variabilidade do IP foi quantificada pelo SDNN e pela raiz quadrada da média da soma dos quadrados das diferenças entre sucessivos valores de IP (RMSSD).

A variabilidade da PA e IP também foi estudada no domínio da freqüência, por meio da análise espectral. Para cada período de registro (basal e após bloqueadores autonômicos), as séries temporais da PA sistólica e IP foram interpoladas em 10 Hz e divididas em segmentos contínuos de 512 batimentos, sobrepostos em 50%. Cada segmento foi submetido a um janelamento do tipo Hanning e a análise espectral pela transformada rápida de Fourier (FFT), utilizando o programa computacional *Cardioseries*, desenvolvido por Daniel Penteado Martins, pós-graduando do nosso laboratório. Os componentes oscilatórios encontrados foram quantificados em faixas

de baixa (LF: 0,25 a 1,0 Hz) e alta frequência (HF: 1,0 a 5,0 Hz) [Gerhmann e cols 2000, Janssen e cols 2000, Fazan Jr e cols 2005].

O ganho do barorreflexo espontâneo foi estimado, nos camundongos intactos e submetidos à DSA, antes e após o duplo bloqueio autonômico, por meio da técnica da seqüência, utilizando o programa computacional Hemolab V.10.2, disponível para uso gratuito (<http://www.haraldstauss.com/HemoLab/HemoLab.php>). Esse programa procura, automaticamente, séries, com pelo menos 4 batimentos consecutivos, onde a PA sistólica e o IP estão aumentando ou diminuindo. Um atraso de 3 batimentos entre a PA e o IP foi aplicado às séries para procura das seqüências [Laude e cols 2008, 2009]. Uma regressão linear, entre a PA sistólica e o IP é calculada, para cada seqüência encontrada, e o coeficiente angular desta regressão utilizado como índice de sensibilidade do barorreflexo espontâneo. Foram consideradas apenas correlações com coeficientes angulares maiores que 0,8. O número total de seqüências e o número de seqüências “up” e “down” foram normalizados por 1000 batimentos e o índice de efetividade do baroreflexo (BEI: “baroreflex effectiveness index”) foi calculado pela razão entre o número de seqüências e o número total de rampas de PA.

#### Análise Estatística:

Os valores do IP, FC e PA foram comparados entre grupos usando análise de variância de uma via (“one way” ANOVA). Quando diferenças foram encontradas, os dados foram comparados aos pares pelo teste de Tukey. As mesmas variáveis foram comparadas antes e após administração de metil atropina ou propranolol, usando o teste t de Student pareado. Os índices de variabilidade total (domínio do tempo) e as potências de LF e HF dos espectros da PA sistólica e IP, foram

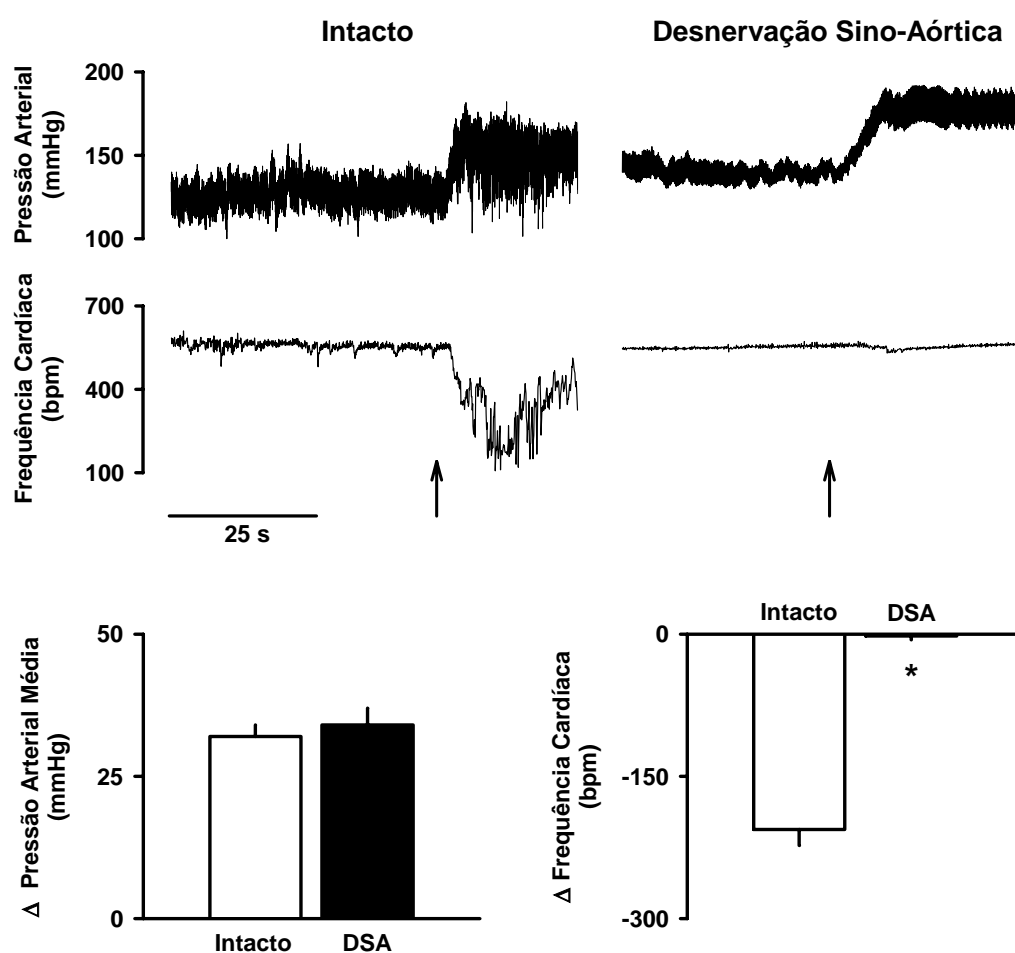
comparados entre grupos usando análise de variância de uma via para dados não-paramétricos (ANOVA on Ranks) e quando diferenças foram encontradas, os dados foram comparados aos pares pelo teste de Dunn. Diferenças foram consideradas significantes quando  $p < 0,05$ .

#### *4. RESULTADOS*

---

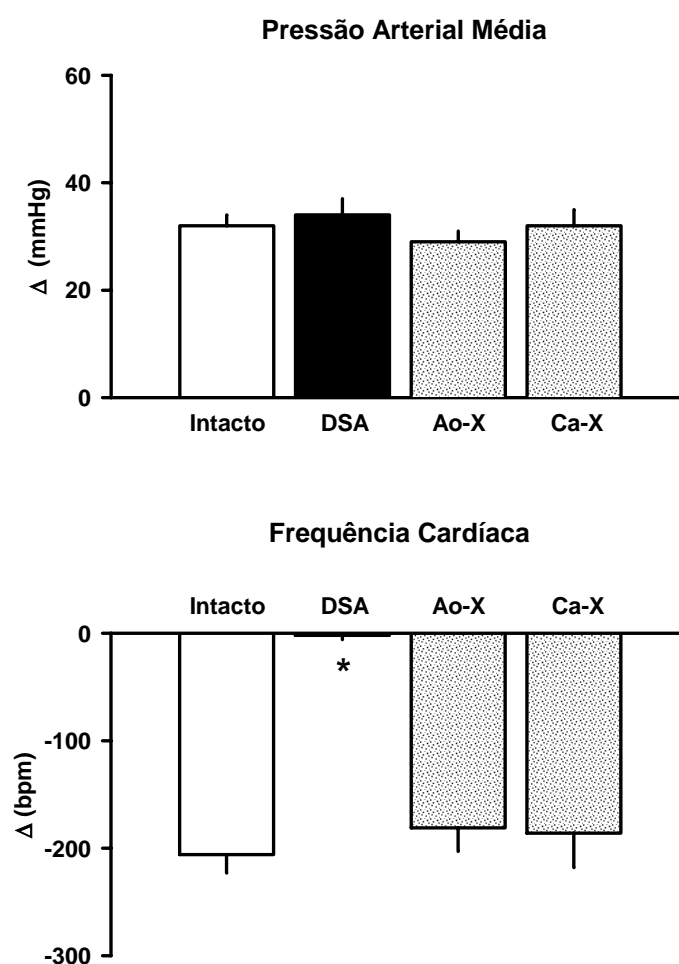
Teste da efetividade da DSA e avaliação da contribuição relativa dos barorreceptores aórticos e carotídeos nas respostas reflexas de FC:

A figura 3 ilustra, com registros representativos e valores médios, as alterações na PA induzidas pela infusão intravenosa de fenilefrina e as respectivas respostas reflexas de FC, em camundongos intactos e submetidos à DSA. Podemos observar que, apesar de aumentos similares na PA, os camundongos submetidos à DSA não apresentaram bradicardia reflexa.



**Figura 3:** Traçados representativos e valores médios das alterações na PA induzidas pela administração de fenilefrina e as respectivas respostas reflexas de FC em camundongos intactos (barras brancas, n=27) e submetidos à DSA (barras pretas, n=25). \*p<0,05 comparado aos animais intactos.

A magnitude das respostas reflexas de FC a aumentos na PA induzidos pela fenilefrina, nos camundongos intactos e submetidos à DSA, assim como nos animais submetidos à desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos ou carotídeos, estão representadas na figura 4. Para aumentos similares na PA, a bradicardia reflexa foi completamente abolida pela DSA, entretanto, nos camundongos submetidos à desnervação parcial dos barorreceptores, i.e. aórticos (Ao-X) ou carotídeos (Ca-X), esta resposta não diferiu dos animais intactos.

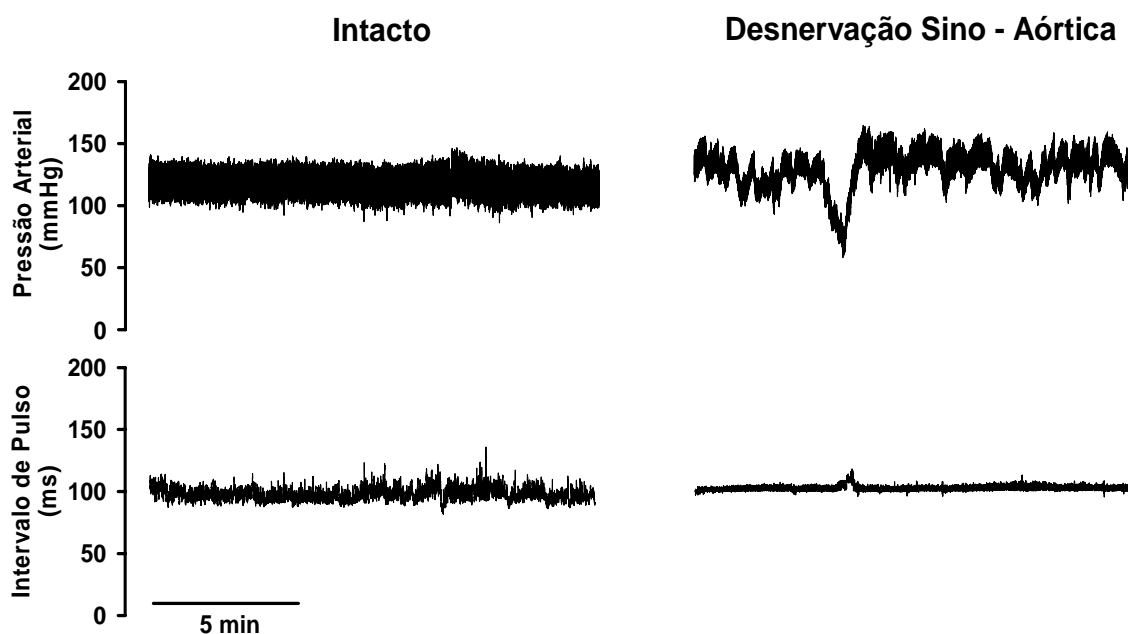


**Figura 4:** Alterações na pressão arterial média induzidas pela infusão de fenilefrina e as respectivas respostas reflexas de frequência cardíaca em camundongos intactos (n=27), submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, n=25), desnervação aórtica (Ao-X, n=14) ou desnervação carotídea (Ca-X, n=13). Valores representam a média  $\pm$  EPM. \*p<0,05 comparado aos animais intactos.



Parâmetros basais e estudo da variabilidade da PA e IP no domínio do tempo em camundongos intactos, submetidos à DSA ou desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos ou carotídeos:

A figura 5 apresenta traçados representativos da PA e IP basais, mostrando que, camundongos submetidos à DSA apresentaram maior PA, com exagerada variabilidade da PA e reduzida variabilidade do IP, quando comparados aos animais intactos.



**Figura 5:** Traçados representativos da pressão arterial e intervalo de pulso basal, obtidos de um camundongo intacto e um camundongo submetido à desnervação sino-aórtica.

Os valores basais de PA e IP, assim como os índices de variabilidade no domínio do tempo (SDNN e RMSSD) estão apresentados na tabela 1 e figuras 6 e 7. A DSA, assim como a desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos (Ao-X) ou carotídeos (Ca-X) promoveram um significativo aumento na PA (sistólica, diastólica e

média). O IP não foi alterado por nenhum dos procedimentos cirúrgicos (DSA, Ao-X ou Ca-X).

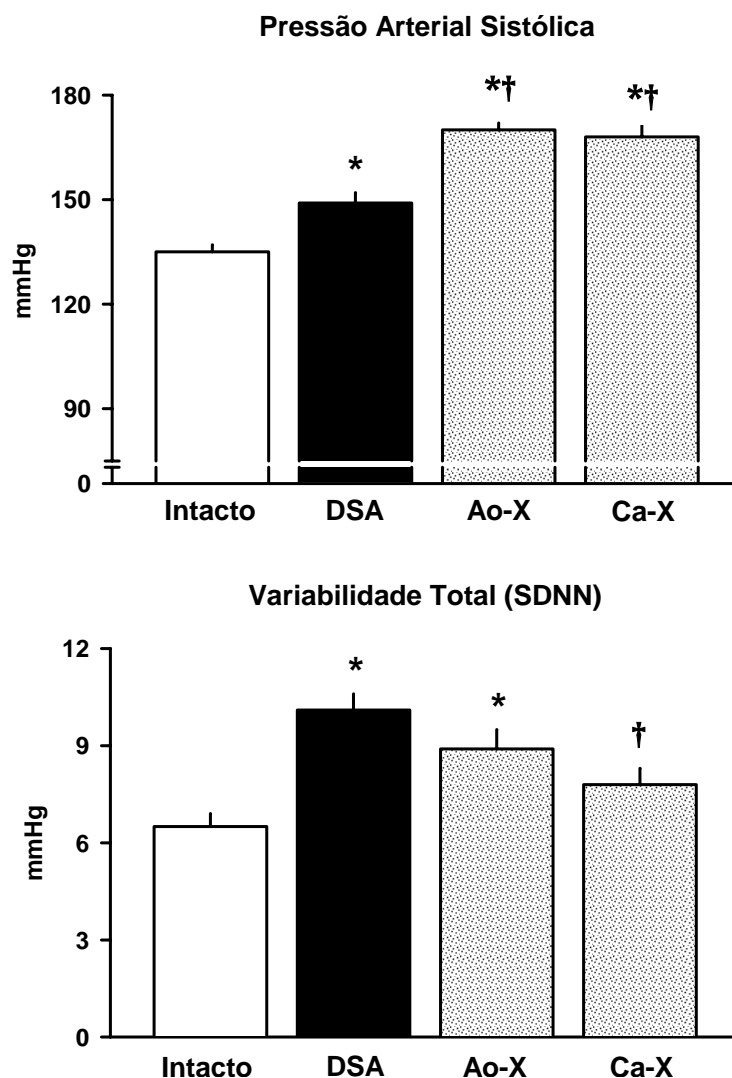
A DSA, assim como a desnervação aórtica (Ao-X), promoveram um significativo aumento na variabilidade (SDNN) da PA sistólica, diastólica e média. Embora diferenças significantes não tenham sido encontradas, O SDNN da PA sistólica, também aumentou após a desnervação carotídea (Ca-X), porém este aumento foi menor do que o observado nos animais submetidos à DSA ou desnervação aórtica.

Os índices de variabilidade do IP no domínio do tempo (SDNN e RMSSD) foram significativamente reduzidos pela DSA, porém não foram alterados pela desnervação aórtica ou carotídea.

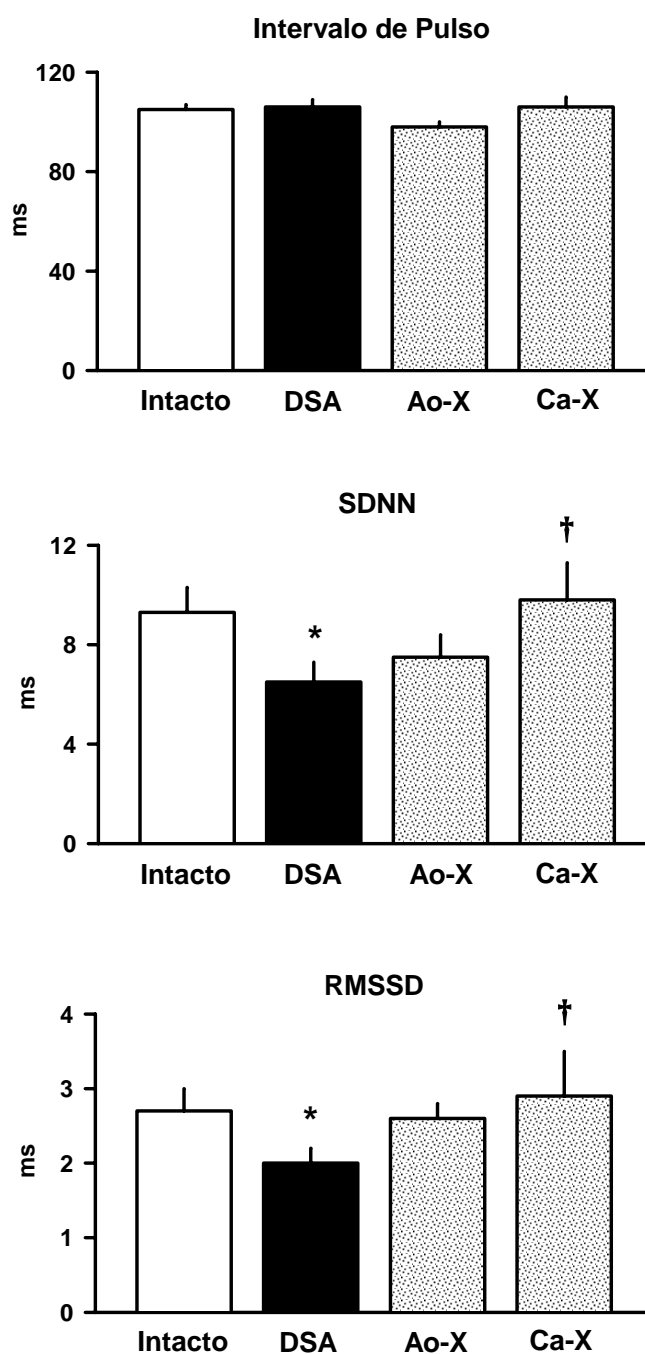
**Tabela 1:** Valores médios da pressão arterial sistólica, diastólica, média e intervalo de pulso além dos respectivos índices de variabilidade de camundongos intactos, submetidos à DSA, desnervação aórtica (Ao-X) ou carotídea (Ca-X).

	Intacto	DSA	Ao-X	Ca-X
<b>Pressão Arterial (mmHg)</b>				
PAS	135 ± 2,0	149 ± 3,0*	170 ± 3,0*†	168 ± 4,0*†
PAD	107 ± 2,0	122 ± 3,0*	142 ± 2,0*†	135 ± 4,0*†
PAM	121 ± 2,0	136 ± 3,0*	156 ± 2,0*†	152 ± 4,0*†
SDNN PAS	6,5 ± 0,4	10,1 ± 0,5*	8,9 ± 0,6*	7,8 ± 0,5 †
SDNN PAD	5,9 ± 0,4	7,5 ± 0,4*	7,6 ± 0,5*	6,4 ± 0,3 †
SDNN PAM	5,9 ± 0,4	8,6 ± 0,4*	8,2 ± 0,7*	6,7 ± 0,4 †
<b>Intervalo de Pulso (ms)</b>				
Média	105 ± 2,0	106 ± 3,0	98 ± 2,0	106 ± 4,0
SDNN	9,3 ± 1,0	6,5 ± 0,8	7,5 ± 0,9	9,8 ± 1,5 †
RMSSD	2,7 ± 0,3	2,0 ± 0,2*	2,6 ± 0,2	2,9 ± 0,6 †

Valores expressos como Média ± EPM. PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; PAM, pressão arterial média; SDNN, desvio padrão de valores sucessivos; RMSSD, raiz quadrada da média da soma dos quadrados das diferenças entre sucessivos valores de intervalo de pulso.\* p<0,05 comparado aos intactos. † p<0,05 comparado aos camundongos submetidos à DSA.



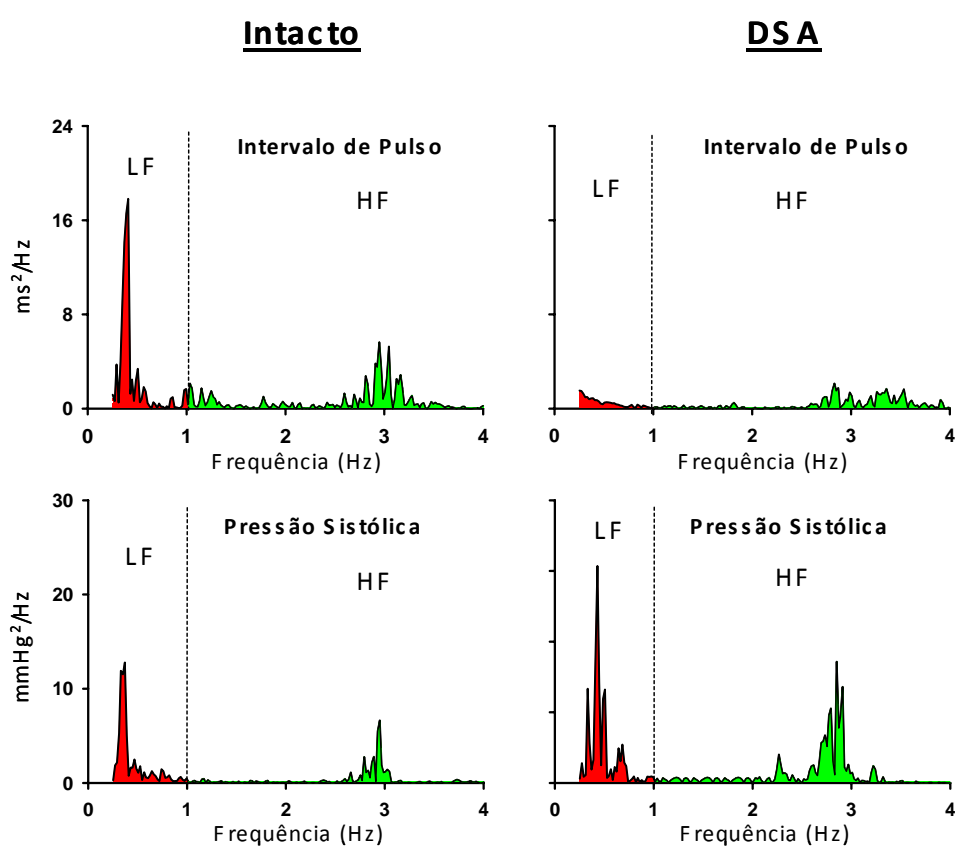
**Figura 6:** Valores basais e variabilidade total (domínio do tempo) da pressão arterial sistólica em camundongos intactos (n=27), submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, n=25), aórtica (Ao-X, n=14) ou carotídea (Ca-X, n=13). Valores representam a Média  $\pm$  EPM. \*p<0,05 comparado aos camundongos intactos. †p<0,05 comparado aos camundongos submetidos à DSA.



**Figura 7:** Valores basais e variabilidade total (domínio do tempo) do Intervalo de Pulso de camundongos intactos (n=27), submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, n=25), aórtica (Ao-X, n=14) ou carotídea (Ca-X, n=13). Valores representam a Média  $\pm$  EPM. \*p<0,05 comparado aos camundongos intactos. † p<0,05 comparado aos camundongos submetidos à DSA.

Análise espectral da variabilidade da PA e IP em camundongos intactos, submetidos à DSA ou deservação seletiva dos barorreceptores aórticos ou carotídeos:

A Figura 8 ilustra espectros representativos da variabilidade da PA e IP de um camundongo intacto e um camundongo submetido à DSA. Os espectros revelaram a existência de dois componentes oscilatórios distintos na variabilidade da PA e IP: um de baixa (LF) e um de alta frequência (HF).



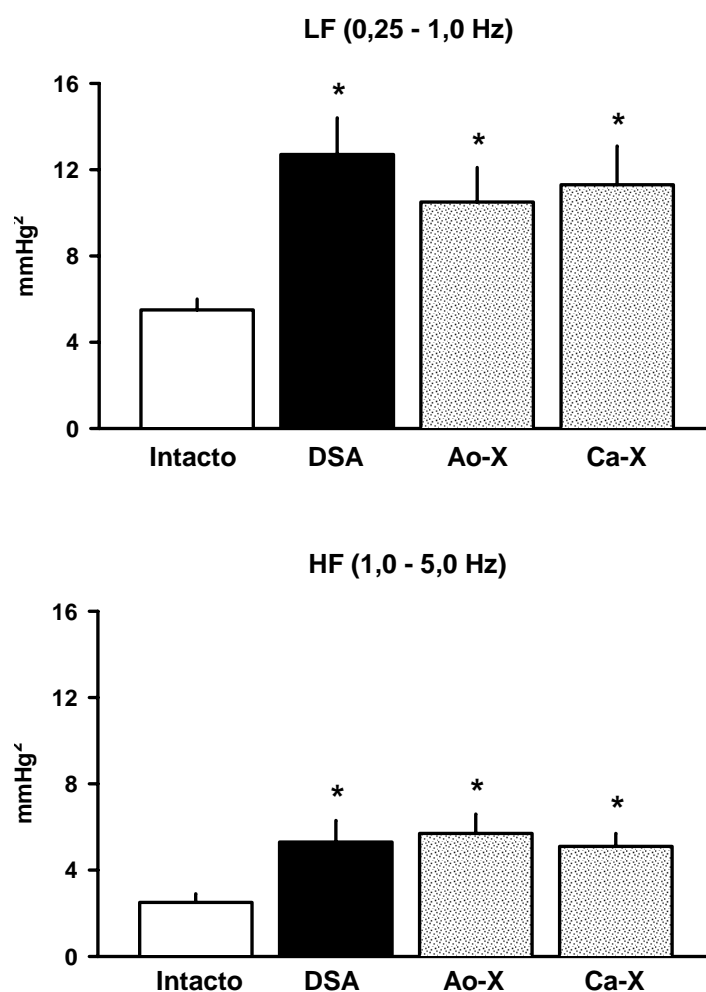
**Figura 8:** Espectros representativos da pressão arterial sistólica e intervalo de pulso, obtidos de um camundongo intacto e um camundongo submetido à DSA.

As potências dos espectros da PA nas bandas de LF e HF estão representadas na tabela 2 e na figura 9. Os camundongos intactos apresentaram a potência do espectro da PA na banda de LF maior do que na banda de HF. Os espectros da PA de camundongos submetidos à DSA, assim como dos animais submetidos à desnervação seletiva (aórtica ou carotídea), apresentaram um marcante aumento tanto na banda de LF como de HF. Porém, na banda de LF, a diferença entre os animais intactos e desnervados (DSA, Ao-X ou Ca-X) é muito mais pronunciada.

**Tabela 2:** Valores médios da pressão arterial sistólica e intervalo de pulso e seus respectivos índices de variabilidade no domínio do tempo (SDNN e RMSSD), potências de LF e HF, obtidos em camundongos intactos, submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA), aórtica (Ao-X) ou carotídea (Ca-X).

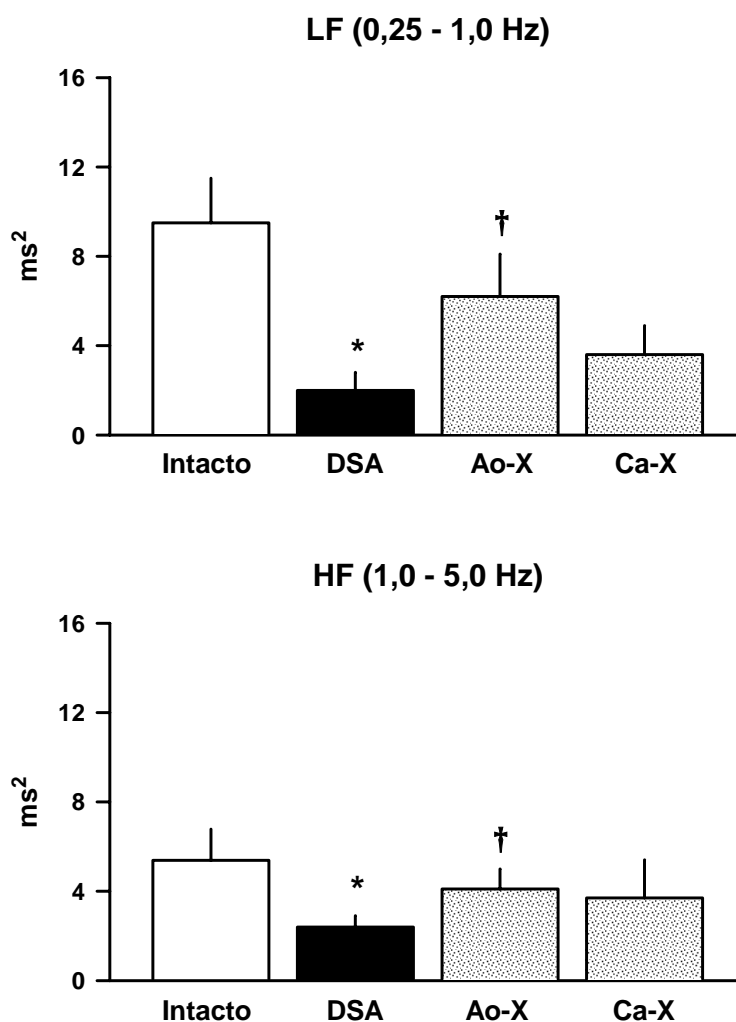
	Intacto	DSA	Ao-X	Ca-X
<b>Pressão Arterial Sistólica</b>				
Média (mmHg)	135 ± 2,0	149 ± 3,0*	170 ± 3,0*†	168 ± 4,0*†
SDNN (mmHg)	6,5 ± 0,4	10,1 ± 0,5*	8,9 ± 0,6*	7,8 ± 0,5†
LF (mmHg <sup>2</sup> )	5,5 ± 0,5	12,7 ± 1,7*	10,5 ± 1,6*	11,3 ± 1,8*
HF (mmHg <sup>2</sup> )	2,5 ± 0,4	5,3 ± 1,0*	5,7 ± 0,9*	5,1 ± 0,6*
<b>Intervalo de Pulso</b>				
Média (ms)	105 ± 2,0	106 ± 3,0	98 ± 2,0	106 ± 4,0
SDNN (ms)	9,3 ± 1,0	6,5 ± 0,8*	7,5 ± 0,9	9,8 ± 1,5 †
RMSSD (ms)	2,7 ± 0,3	2,0 ± 0,2*	2,6 ± 0,2	2,9 ± 0,6 †
LF (ms <sup>2</sup> )	9,5 ± 2,0	2,0 ± 0,8*	6,2 ± 1,9 †	3,6 ± 1,3
HF (ms <sup>2</sup> )	5,4 ± 1,4	2,4 ± 0,5*	4,1 ± 0,9 †	3,7 ± 1,7
LF (un)	59 ± 2,9	31 ± 4,2*	43 ± 6,0*	44 ± 6,0*
HF (un)	41 ± 2,9	69 ± 4,2*	57 ± 6,0*	56 ± 6,0*
LF/HF	1,7 ± 0,2	0,6 ± 0,1*	1,1 ± 0,2*†	1,0 ± 0,2*†

Valores expressos como Média ± EPM. SDNN, desvio padrão de valores sucessivos; RMSSD, raiz quadrada da média da soma dos quadrados das diferenças entre sucessivos valores de intervalo de pulso; LF, low frequency; HF, high frequency. \* p<0,05 comparado aos camundongos intactos. † p<0,05 comparado aos camundongos submetidos à DSA.



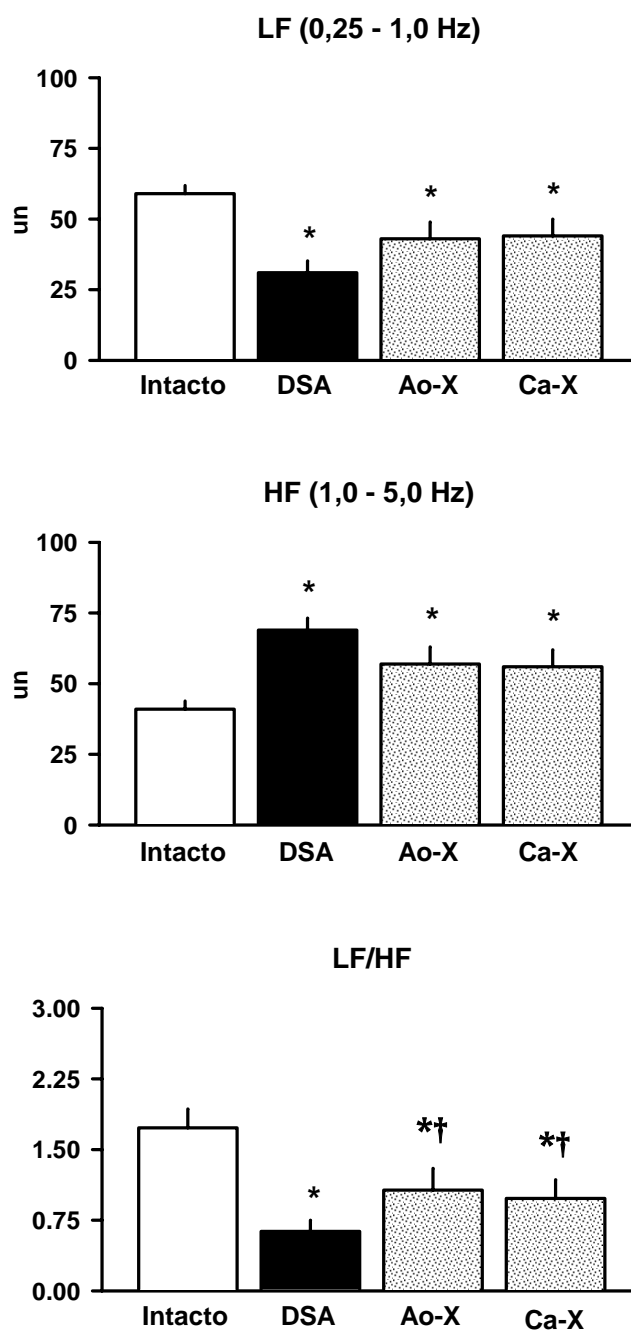
**Figura 9:** Potência dos espectros da PA nas bandas de LF e HF em camundongos intactos (n=27), submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, n=25), desnervação aórtica (Ao-X, n=14) ou carotídea (Ca-X, n=13). Valores representam a Média  $\pm$  EPM. \*p<0,05 comparado aos camundongos intactos.

Os resultados da análise espectral das séries do IP estão representados na tabela 2 e nas figuras 10 e 11. As potências dos espectros do IP nas bandas de LF e HF foram significativamente reduzidas pela DSA. A desnervação seletiva (aórtica ou carotídea também reduziu a potência do IP nas bandas de LF e HF, embora não tenham aparecido diferenças significantes. Quando os espectros do IP são expressos em unidades normalizadas, nota-se que as oscilações de LF são predominantes sobre as de HF nos animais intactos. O oposto é observado nos camundongos submetidos à DSA ou à desnervação seletiva.



**Figura 10:** Potências dos espectros do IP nas bandas de LF e HF, expressas em unidades absolutas ( $\text{ms}^2$ ), em camundongos intactos ( $n=27$ ), submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA,  $n=25$ ), aórtica (Ao-X,  $n=14$ ) ou carotídea (Ca-X,  $n=13$ ). Valores representam a Média  $\pm$  EPM. \* $p<0,05$  comparado aos camundongos intactos. †  $p<0,05$  comparado aos camundongos submetidos à DSA.





**Figura 11:** Potências dos espectros do IP nas bandas de LF e HF, expressas em unidades normalizadas (un), em camundongos intactos (n=27), submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, n=25), desnervação aórtica (Ao-X, n=14) ou carotídea (Ca-X, n=13). Valores representam a Média  $\pm$  EPM. \*p<0,05 comparado aos camundongos intactos. † p<0,05 comparado aos camundongos submetidos à DSA.

*Tono autonômico cardíaco e duplo bloqueio de receptores autonômicos:*

A administração de metil atropina não alterou a PA média em nenhum dos grupos estudados. Da mesma forma, o propranolol não promoveu nenhuma alteração na PA média em nenhum dos grupos estudados (tabela 3).

Os valores de IP antes e após a administração de metil atropina ou propranolol estão representados na tabela 3. O bloqueio do controle parassimpático da FC com atropina promoveu uma pequena, porém significativa redução no IP dos camundongos intactos, mas não alterou o IP dos animais desnervados (DSA, Ao-X ou Ca-X).

O bloqueio simpático com propranolol aumentou o IP em todos os grupos estudados. Porém, esse aumento foi muito maior nos animais desnervados (DSA, Ao-X ou Ca-X), quando comparados aos animais intactos (tabela 3).

A Figura 12 apresenta as variações no IP após administração de atropina ou propranolol. Nitidamente observamos, nos quatro grupos estudados, uma predominância no componente simpático no controle do IP basal. A variação no IP após a atropina foi menor nos animais desnervados enquanto que, após a administração de propranolol, o aumento no IP foi significativamente maior nos animais submetidos à DSA, Ao-X ou Ca-X.

Os valores de IP após o duplo bloqueio autonômico estão representados na Figura 13. O IP após o duplo bloqueio dos receptores autonômicos foi significativamente maior nos camundongos submetidos à DSA, desnervação aórtica ou carotídea, não havendo diferenças entre os camundongos desnervados totais e parciais.

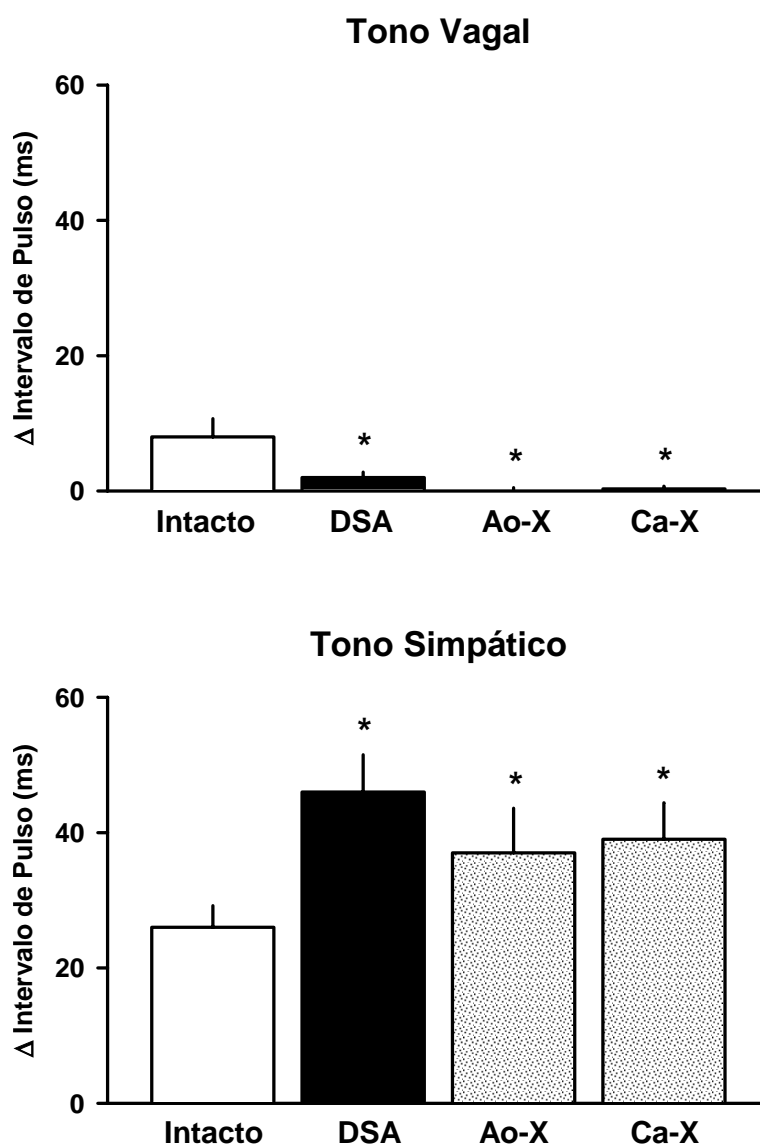
**Tabela 3:** Valores de pressão arterial média (painel superior) e intervalo de pulso (painel inferior), antes e após a administração de atropina ou propranolol e após o duplo bloqueio autonômico, em camundongos intactos, submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA), desnervação aórtica (Ao-X) ou carotídea (Ca-X).

<i>Pressão Arterial Média (mmHg)</i>					
	Atropina		Propranolol		
	Antes	Após	Antes	Após	
<b>Intacto</b>	119 ± 3,8	116 ± 3,7	117 ± 2,2	118 ± 2,2	
<b>DSA</b>	134 ± 3,1†	126 ± 4,7†	134 ± 7,2†	133 ± 8,3†	
<b>Ao-X</b>	147 ± 3,1†	142 ± 3,8†	141 ± 4,3†	152 ± 3,4†	
<b>Ca-X</b>	136 ± 5,5†	135 ± 5,8†	150 ± 6,8†	147 ± 7,8†	

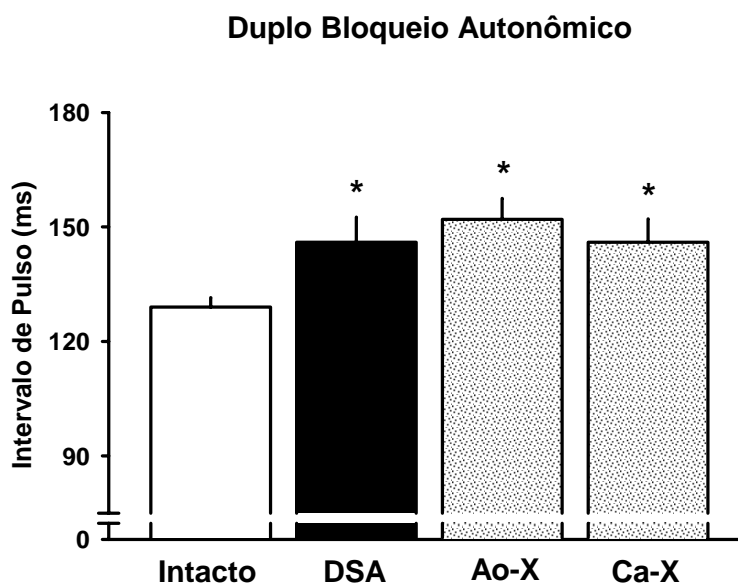
  

<i>Intervalo de Pulso (ms)</i>					
	Atropina		Propranolol		Duplo Bloqueio
	Antes	Após	Antes	Após	
<b>Intacto</b>	103 ± 2,3	96 ± 2,4*	98 ± 3,6	124 ± 3,1*	129 ± 2,5
<b>DSA</b>	100 ± 3,5	98 ± 3,6	98 ± 5,8	144 ± 8,4*†	146 ± 6,0†
<b>Ao-X</b>	94 ± 2,5	95 ± 2,6	103 ± 6,0	140 ± 5,5*†	152 ± 5,5†
<b>Ca-X</b>	102 ± 6,3	103 ± 6,2	101 ± 3,0	140 ± 5,1*†	146 ± 6,0†

Valores expressos como Média ± EPM. \*  $p < 0,05$  comparado aos valores antes do tratamento. † $p < 0,05$  comparado aos camundongos intactos.



**Figura 12:** Alterações no intervalo de pulso após a administração de metil atropina (tono vagal) ou propranolol (tono simpático) em camundongos intactos (tono vagal: n=11; tono simpático: n=8), submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, tono vagal: n=8; tono simpático: n=6), desnervação aórtica (Ao-X, tono vagal: n=8; tono simpático: n=6) ou carotídea (Ca-X, tono vagal: n=6; tono simpático: n=7). \*p<0,05 comparado aos camundongos intactos.



**Figura 13:** Valores de intervalo de pulso após o duplo bloqueio autonômico em camundongos intactos (n=19), submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, n=14), desnervação aórtica (Ao-X, n=14) ou carotídea (Ca-X, n=13). Valores representam a Média ± EPM. \*  $p < 0,05$  comparado aos camundongos intactos.

Estudo do baroreflexo espontâneo, por meio da técnica da seqüência, em camundongos intactos e submetidos à DSA:

O número de seqüências barorreflexas, em camundongos intactos e submetidos à DSA, antes e após o duplo bloqueio de receptores autonômicos, está representado nas tabelas 4 e 5 e na figura 14. O número de seqüências barorreflexas (total, seqüências “up” e “down”) foi drasticamente reduzido após o duplo bloqueio de receptores autonômicos nos camundongos intactos. A DSA não alterou o número de seqüências barorreflexas, mas seu número também foi reduzido pelo duplo bloqueio de receptores autonômicos.

Nos camundongos intactos, assim como o número de seqüências, o índice de efetividade do baroreflexo (BEI) também foi drasticamente reduzido pelo duplo bloqueio de receptores autonômicos. A DSA reduziu significativamente o BEI e após

o duplo bloqueio de receptores autonômicos, este índice foi ainda mais reduzido (tabelas 4 e 5 e figura 14).

Embora o número de seqüências barorreflexas não tenha sido alterado, o ganho destas seqüências foi drasticamente reduzido pela DSA, como podemos observar nas tabelas 4 e 5 e na figura 15.

**Tabela 4:** Número total de seqüências barorreflexas, assim como o BEI e o ganho, obtidos em camundongos intactos e submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA), antes e após o duplo bloqueio autonômico.

	Intactos		DSA	
	Basal	Bloqueio Autonômico	Basal	Bloqueio Autonômico
Nº Batimentos	16.859 ± 475,0	6.047 ± 350,0	17.772 ± 444,0	5.925 ± 243,0
Nº Rampas	1.391 ± 223,0	407 ± 46,0	2.714 ± 190,0	346 ± 71,0
Nº Seqüências	86 ± 9,0	6,0 ± 1,0*	124 ± 20,0	6,0 ± 2,0*
NºSeq./1000bat	5,0 ± 1,0	1,0 ± 0,2*	7,0 ± 1,0	1,0 ± 0,01*
BEI	0,08 ± 0,01	0,01 ± 0,01*	0,05 ± 0,01†	0,02 ± 0,01*
Ganho	1,77 ± 0,3	N/A	0,73 ± 0,1†	N/A

Valores expressos como Média ± EPM. BEI, índice de sensibilidade do baroreflexo. \* p<0,05 comparado aos valores basais. † p<0,05 comparado aos camundongos intactos.

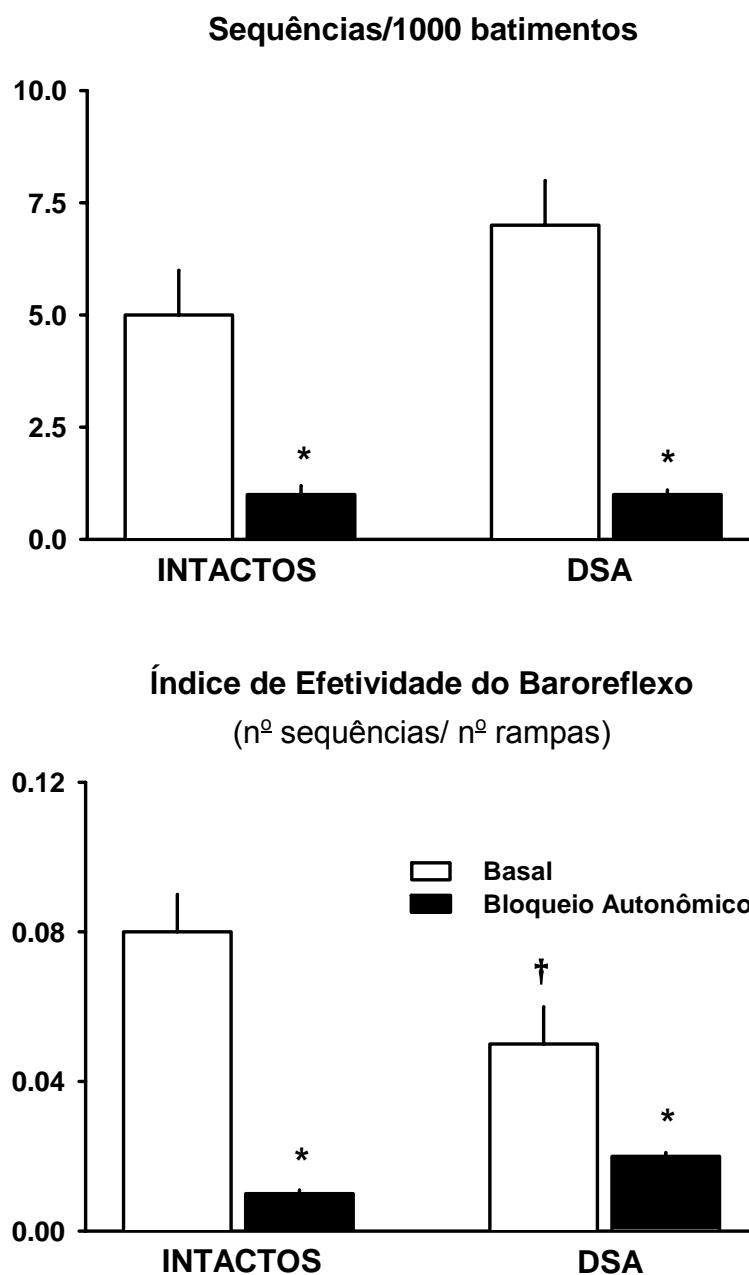
**Tabela 5:** Número de seqüências barorreflexas (up e down), assim como o BEI e o ganho, obtidos em camundongos intactos e submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA), antes e após o duplo bloqueio autonômico.

<b>Seqüências UP</b>				
	<b>Intactos</b>		<b>DSA</b>	
	<b>Basal</b>	<b>Bloqueio Autonômico</b>	<b>Basal</b>	<b>Bloqueio Autonômico</b>
Nº Batimentos	16.859 ± 475,0	6.047 ± 350,0	17.772 ± 444,0	5.925 ± 243,0
Nº Rampas	892 ± 143,0	253 ± 30,0	1.561 ± 114,0	220 ± 47,0
Nº Seqüências	41 ± 4,0	4,0 ± 1,0*	56 ± 10,0	4,0 ± 1,0*
NºSeq./1000bat	3,0 ± 0,3	0,7 ± 0,1*	3,0 ± 0,6	0,6 ± 0,2*
BEI	0,06 ± 0,01	0,02 ± 0,0*	0,04 ± 0,01†	0,02 ± 0,01*
Ganho	1,86 ± 0,2	N/A	0,74 ± 0,1†	N/A

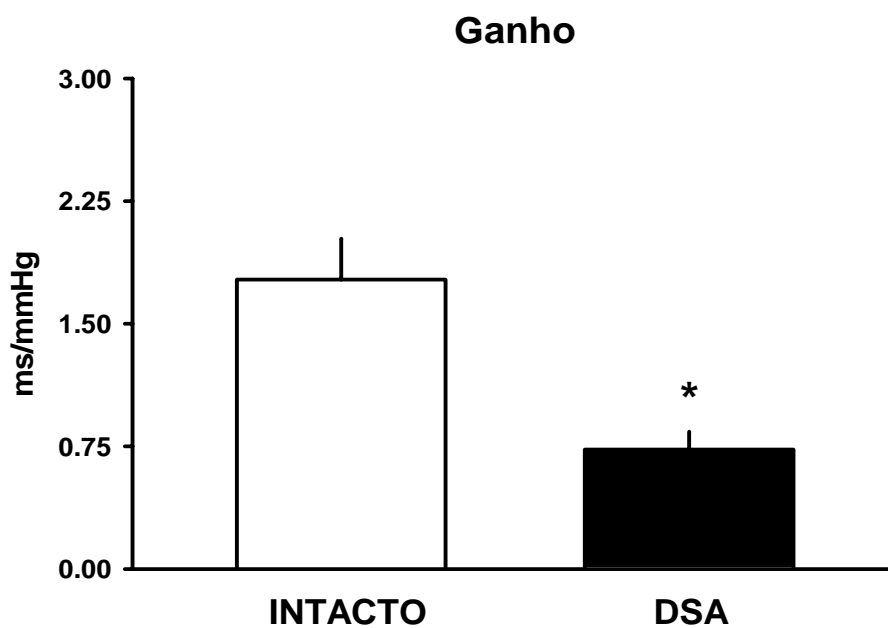
<b>Seqüências DOWN</b>				
	<b>Intactos</b>		<b>DSA</b>	
	<b>Basal</b>	<b>Bloqueio Autonômico</b>	<b>Basal</b>	<b>Bloqueio Autonômico</b>
Nº Batimentos	16.859 ± 475,0	6.047 ± 350,0	17.772 ± 444,0	5.925 ± 243,0
Nº Rampas	499 ± 96,0	154 ± 20,0	1.153 ± 83,0	126 ± 25,0
Nº Seqüências	45 ± 5,0	2,0 ± 1,0*	67 ± 11,0	3,0 ± 1,0*
NºSeq./1000bat	2,8 ± 0,4	0,3 ± 0,1*	3,9 ± 0,7	0,4 ± 0,1*
BEI	0,12 ± 0,01	0,01 ± 0,01*	0,06 ± 0,01†	0,02 ± 0,01*
Ganho	1,66 ± 0,3	N/A	0,73 ± 0,1†	N/A

Valores expressos como Média ± EPM. BEI, índice de sensibilidade do baroreflexo. \* p<0,05 comparado aos valores basais. † p<0,05 comparado aos camundongos intactos.



**Figura 14:** Número total de seqüências barorreflexas, em camundongos intactos (n=27) e submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, n=25), antes e após o duplo bloqueio autônômico. Valores representam a Média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  comparado ao basal. †  $p < 0,05$  comparado aos camundongos intactos.





**Figura 15:** Ganho (coeficiente angular médio das regressões lineares) das seqüências barorreflexas, obtido em camundongos intactos (n=27) e submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA, n=25). Valores representam a Média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  comparado aos camundongos intactos.

## *5. DISCUSSÃO*

---

O barorreflexo é um mecanismo neural de feedback negativo, essencial para evitar alterações na PA. Flutuações na PA são percebidas pelas terminações barorreceptoras localizadas no arco aórtico e seio carotídeo. Através de aferências dos neurônios barorreceptores e da circuitaria neural central, a atividade simpática e parassimpática para o coração, assim como a atividade simpática para os vasos, são continuamente moduladas por alterações na PA [Moffitt e cols 2005].

Uma maneira comumente utilizada para estudar o papel do barorreflexo sobre a regulação cardiovascular é avaliar os efeitos da remoção cirúrgica das aferências deste reflexo, ou seja, a deaferentação sino-aórtica. Ao longo de algumas décadas, muitos experimentos têm utilizado esta estratégia, ou seja, DSA, desenvolvida por Krieger [1964] em ratos. Na maior parte das espécies, as aferências dos barorreceptores aórticos trafegam com o nervo depressor aórtico (nervo de Cyon), que se junta ao vago para alcançar o sistema nervoso central [Ciriello 1983, Higgins e cols 1984]. Como em alguns ratos, as fibras aferentes dos barorreceptores aórticos cursam com a cadeia simpática cervical ou com o nervo laríngeo superior [Krieger e Marseillan 1963], a cadeia simpática é seccionada na região proximal do gânglio cervical superior, e o nervo laríngeo superior é seccionado em sua junção com o nervo vago. Para remover as aferências dos barorreceptores carotídeos, a camada adventícia da região da bifurcação das carótidas e do seio carotídeo é cuidadosamente removida. No presente estudo, a DSA foi realizada segundo a técnica descrita por [Krieger 1964] em ratos e adaptada para o camundongo.

Um método tradicional utilizado para avaliar o reflexo barorreceptor é a administração de drogas vasoativas para alterar a PA e medir as alterações reflexas na FC e atividade simpática. Essa técnica fornece um índice de como as alterações na FC e atividade simpática podem compensar as alterações na PA [Kumada e

cols 1990, Vasquez e cols 1997]. Para avaliarmos a efetividade da DSA em camundongos, utilizamos infusões de fenilefrina, um agonista de receptores adrenérgicos do subtipo alfa 1, para produzir aumentos na PA em forma de rampa. A completa desnervação foi confirmada pela ausência de respostas reflexas de FC aos aumentos na PA. Esta é uma metodologia comumente utilizada para testar a eficácia da cirurgia de DSA [Norman e cols 1981, Trapani e cols 1986, Cerutti e cols 1994, Fazan Jr e cols 2005].

É bem estabelecido que a importância relativa dos diferentes conjuntos de barorreceptores (i.e. localizados no arco aórtico ou no seio carotídeo) no controle da FC, PA e resistência vascular pode variar [Vatner e cols 1970, Donald e Edis 1971, Abboud e cols 1979]. Vatner e colaboradores [1970] sugeriram, em estudos com cães acordados, que os barorreceptores aórticos são mais efetivos em controlar a FC do que os carotídeos. Por outro lado, estudos em humanos indicam que a ativação dos barorreceptores carotídeos através de sucção no pescoço elimina a taquicardia reflexa, apesar da desativação dos barorreceptores aórticos durante hipotensão sistêmica, sugerindo um papel predominante dos barorreceptores carotídeos no controle da FC em humanos [Abboud e cols 1979]. Até o momento, não existem estudos que avaliam a contribuição relativa dos barorreceptores aórticos e carotídeos sobre as respostas reflexas de FC em camundongos.

A bradicardia reflexa em resposta à infusão de fenilefrina em camundongos submetidos à desnervação seletiva (aórtica ou carotídea) foi semelhante àquela observada nos animais intactos, sugerindo que a ausência de qualquer dos conjuntos de barorreceptores, não afeta a resposta reflexa da FC ao aumento da PA provocado pela fenilefrina. Estes resultados diferem do que foi previamente demonstrado em outras espécies, onde os barorreceptores aórticos e carotídeos

parecem desempenhar papéis diferentes no controle da PA e FC [Vatner e cols 1970, Ito e Scher 1978, Abboud e cols 1979, Guo e cols 1982].

No presente estudo, a DSA promoveu um aumento na PA demonstrando que agudamente (5 dias), a remoção das aferências barorreceptoras promove hipertensão arterial em camundongos.

Os estudos pioneiros utilizando a DSA em ratos sugeriam que os mesmos se tornavam hipertensos, sendo então essa técnica proposta como um modelo para indução de hipertensão neurogênica [Krieger e cols 1964, Ferrario e cols 1969]. Porém, estudos posteriores utilizando medidas diretas da PA em animais de diferentes espécies demonstraram que a DSA não promove hipertensão [Norman e cols 1981, Webb e cols 1986]. Por outro lado, alguns estudos utilizando técnicas similares para medir a PA encontraram que ratos submetidos à DSA cronicamente são hipertensos [Alexander e cols 1980]. Vários fatores como o uso de diferentes técnicas para medida da PA, que causam diferentes graus de estresse, a extensão da desnervação, o tempo após a desnervação dos barorreceptores, a duração dos registros da PA e diferentes respostas a diversos estímulos ambientais, podem contribuir para esta disparidade de resultados [Franchini e Krieger 1994].

Estudos prévios do nosso laboratório [Fazan Jr e cols 2005], utilizando a técnica de DSA em camundongos, não demonstraram nenhuma diferença nos níveis basais de PA entre camundongos desnervados ou intactos. Porém, estes estudos foram realizados apenas 24 h após os procedimentos cirúrgicos para remoção das aferências barorreceptoras. Just e colaboradores [2000] demonstraram, por meio de medidas da PA por telemetria, que 24 h após os procedimentos cirúrgicos, os camundongos não estão completamente recuperados e que, sua PA, FC e balanço autonômico, necessitam de alguns dias para retornar aos valores pré-cirurgia. Além

disso, nestes estudos a PA foi medida por meio da cateterização da carótida. O camundongo C57Bl é conhecido por apresentar o circuito arterial cerebral incompleto [Fujii e cols 1997] de modo que a oclusão de uma das carótidas pode comprometer o controle neural da circulação. Mais ainda, em um animal tão pequeno como o camundongo, a presença do cateter na carótida, que é justaposta ao vago, pode levar a um estímulo mecânico crônico do parassimpático, alterando também o controle autonômico do coração. Por conta disso, nós optamos por utilizar a canulação da artéria femoral para registro da PA em camundongos.

É preciso levar em consideração que as aferências provenientes do arco aórtico e seio carotídeo contêm fibras aferentes barorreceptoras e quimiorreceptoras e que os procedimentos comuns de desnervação removem os dois tipos de fibras [Franchini e Krieger 1992]. Assim, as alterações na PA observados após a DSA podem representar o efeito global da remoção de influências inibitórias (barorreceptores) e excitatórias (quimiorreceptores) sobre a PA.

A desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos ou carotídeos, assim como observado nos camundongos submetidos à DSA, também promoveu um significativo aumento na PA.

Diferentes estudos já demonstraram que a desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos promove um significativo aumento na PA em ratos [Krieger 1970, Fink e cols 1981, Patel e cols 1981, Zhang e Ciriello 1985]. Por outro lado, em ratos, a desnervação carotídea parece promover apenas um pequeno aumento nos níveis de PA [Krieger 1964, Krieger 1970], sugerindo uma predominância dos barorreceptores aórticos na regulação da PA. Os dados do presente estudo sugerem que, em camundongos, tanto os barorreceptores aórticos como os carotídeos são

igualmente importantes e que a manutenção de ambos é necessária para manter a PA em níveis normais.

A DSA, assim como a desnervação seletiva (aórtica ou carotídea), não promoveu nenhuma alteração no IP basal. Estes resultados estão de acordo com estudos prévios da literatura, incluindo camundongos [Martinka e cols 2005, Fazan Jr e cols 2005], que demonstraram que a cirurgia para remoção das aferências barorreceptoras não altera a FC basal.

Os camundongos submetidos à DSA apresentaram um aumento na variabilidade da PA, medida através do desvio padrão (SDNN). Tradicionalmente, o desvio padrão tem sido bastante utilizado como índice de variabilidade da PA [Trapani e cols 1986, Buchholz e cols 1986, Alper e cols 1987, Shan e cols 2004].

A remoção das aferências dos barorreceptores resulta na incapacidade manter a PA dentro de estreitos limites de variabilidade, promovendo um aumento de sua labilidade [Krieger 1964, Cowley e cols 1973, Mancina e Zanchetti 1986]. Nossos resultados estão de acordo com diversos estudos que demonstram um aumento da variabilidade da PA após a DSA experimental em ratos [Buchholz e cols 1986, Shan e cols 2004], cães [Cowley e cols 1980, Wagner e cols 1995], gatos [Di Rienzo e cols 1991, Mancina e cols 1999] e mais recentemente em camundongos [Fazan Jr e cols 2005, Martinka e cols 2005]. O aumento na variabilidade da PA está estreitamente relacionado com lesões em órgãos alvo [Frattola e cols 1993, Mancina e cols 1994, Shan e cols 2001], inclusive em camundongos [Martinka e cols 2005], sendo preditora de risco de morbidade e mortalidade em diversas formas de doenças cardíacas.

A gênese e manutenção da variabilidade da PA observada após a DSA parecem envolver mecanismos neurais e humorais [Jacob e cols 1989]. Alper e

colaboradores [1987] demonstraram em ratos que, a reversão (normalização) da variabilidade da PA após a DSA, requer o bloqueio combinado de mecanismos neurais e humorais. Dentre os mecanismos neurais envolvidos na exagerada variabilidade da PA observada após a DSA, o sistema nervoso simpático parece predominar, uma vez que o bloqueio dos receptores adrenérgicos do tipo  $\alpha$  ou o bloqueio ganglionar atenuam drasticamente esta variabilidade em ratos. [Alper e cols 1987]. Quanto aos mecanismos humorais, a angiotensina II e a vasopressina parecem desempenhar um papel importante tanto na gênese, como na manutenção da variabilidade da PA observada após a remoção das aferências barorreceptoras [Jacob e cols 1991].

A desnervação dos barorreceptores aórticos também promoveu um significativo aumento na variabilidade da PA. Após a desnervação carotídea, embora diferenças significantes não tenham sido encontradas, também observamos aumento na variabilidade da PA. Entretanto, este aumento foi menor do que o observado nos camundongos submetidos à DSA ou desnervação aórtica. Estes resultados sugerem que, tanto os barorreceptores aórticos como os carotídeos, desempenham um papel importante na estabilização da PA. Na ausência dos barorreceptores carotídeos, os aórticos parecem ser capazes de limitar, pelo menos parcialmente, a variabilidade da PA. O aumento na variabilidade da PA após a desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos ou carotídeos já foi previamente demonstrada em ratos [Mauad e cols 1992].

O cálculo do desvio padrão (SDNN) e da raiz quadrada da média da soma dos quadrados das diferenças entre sucessivos valores de IP (RMSSD) demonstraram que, camundongos submetidos à DSA, possuem uma menor variabilidade do IP. Assim como o desvio padrão, o cálculo do RMSSD é uma



metodologia comumente utilizada para avaliação da variabilidade do IP no domínio do tempo [Task Force, 1996]. Estes resultados indicam que o barorreflexo atua aumentando a variabilidade total do IP para gerar alterações no débito cardíaco que devem controlar as alterações na PA [Conway e cols 1984, Mancina e cols 1986, Ferrari e cols 1987, Parati e cols 1987b]. Essa redução na variabilidade do IP já foi demonstrada 24 h após a DSA em camundongos [Fazan Jr e cols 2005].

A desnervação dos barorreceptores aórticos ou carotídeos em camundongos não alterou a variabilidade do IP, sugerindo que a ausência de um dos conjuntos de barorreceptores é compensada pelos barorreceptores remanescentes, que são capazes de manter a variabilidade do IP inalterada.

Um grande número de estudos tem demonstrado que as influências simpáticas e parassimpáticas, sobre o coração e os vasos, levam a padrões de variabilidade rítmica. A análise espectral mostra ritmos básicos de oscilação da PA e FC: um ritmo de muito baixa frequência (VLF), um de baixa frequência (LF) e um ritmo de alta frequência (HF) [Malliani e cols 1991, Task Force 1996].

Apesar do consenso sobre a importância do barorreflexo em modular as oscilações da PA, a observação de que a sua efetividade depende da frequência em que estas oscilações ocorrem, ainda não é completamente reconhecida [Di Rienzo e cols 1991, Cerutti e cols 1994, Jacob e cols 1995, Wagner e cols 1995, Mancina e cols 1999]. Para avaliar a influência do barorreflexo sobre a variabilidade da PA em diferentes frequências, nós quantificamos a variabilidade da PA e IP usando a análise espectral, antes e após a DSA ou desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos ou carotídeos. Os resultados mostraram: (1) os espectros das séries de PA foram nitidamente mais afetados pela DSA e pela desnervação seletiva na banda de LF, do que na de HF, (2) da mesma forma, apesar de, o barorreflexo contribuir para

as oscilações do IP em ambas as bandas de frequência, as oscilações de LF foram predominantemente afetadas pela DSA e pela desnervação seletiva; (3) o barorreflexo limita o HF da variabilidade da PA sistólica, apesar da perda do controle barorreflexo do IP nesta banda.

Nos animais intactos observamos, tanto na variabilidade do IP como na variabilidade da PA sistólica, uma predominância da potência de LF em relação à de HF. Esta predominância de LF já foi previamente demonstrada em diversos estudos em camundongos [Uechi e cols 1998, Gehrmann e cols 2000, Janssen e cols 2000, Just e cols 2000, Gross e cols 2002].

No presente estudo, a DSA reduziu tanto o LF como o HF do espectro de IP. Porém esse efeito foi muito mais evidente na banda de LF. Esta marcante redução na potência de LF do espectro do IP demonstra a importância do barorreflexo em modular as oscilações do IP na banda de LF.

A desnervação parcial dos barorreceptores (aórticos ou carotídeos) também reduziu o LF e o HF da variabilidade do IP, embora essa redução não tenha atingido níveis de significância estatística. Essa diferença em relação aos animais intactos fica nítida quando olhamos para o LF e HF em unidades normalizadas, assim como para relação LF/HF, onde inicialmente havia predominância do componente de LF e após a desnervação aórtica ou carotídea observamos uma nítida predominância do componente de HF. Assim como observado nos camundongos submetidos à DSA, esse efeito foi mais pronunciado na banda de LF. Estes dados sugerem que tanto os barorreceptores aórticos como os carotídeos são importantes na modulação das oscilações do IP na banda de LF. Porém, a queda no LF do espectro do IP após a desnervação seletiva (aórtica ou carotídea) foi menor do que a observada após a

DSA, sugerindo que a ausência de um dos conjuntos de barorreceptores consegue ser parcialmente compensada pelos barorreceptores remanescentes.

Diferentes estudos utilizando análise espectral cruzada demonstraram a presença de coerência significativa entre os espectros de PA e FC na banda de LF em diversas espécies experimentais, inclusive em camundongos [Cerutti e cols 1994, Janssen e cols 2000, Fazan Jr e cols 2005]. A DSA desacopla estas oscilações, sugerindo que o barorreflexo desempenha um papel importante nas oscilações da FC em LF [Cerutti e cols 1994, Bertram e cols 1998]. De fato, o papel do barorreflexo em modular as oscilações da FC em LF está bem estabelecido e já foi descrito em diferentes modelos experimentais, incluindo camundongos [Di Rienzo e cols 1991, Cerutti e cols 1994, Bertram e cols 1998, Mancina e cols 1999, Fazan Jr e cols 2005].

A pequena, porém significativa redução na potência da banda de HF do espectro do IP após a DSA sugere que o barorreflexo também desempenha um papel importante na modulação do IP nessa faixa de frequência. Não existe um consenso na literatura em relação aos efeitos da DSA sobre a potência das oscilações respiratórias (banda de HF) do espectro da FC, com relatos de aumentos [Cerutti e cols 1994], quedas [Di Rienzo e cols 1991] ou de estar inalterado [Fazan Jr e cols 2005] após a DSA.

Estudos utilizando a análise espectral cruzada entre as oscilações da FC e PA têm demonstrado, que existe uma alta coerência entre as oscilações da FC e PA na banda de HF. Porém, a ausência de defasagem entre as oscilações da FC e a PA, associada ao fato da DSA não eliminar a coerência entre estas oscilações na banda de HF, sugere que as oscilações da FC nessa faixa de frequência não são mediadas pelo barorreflexo [Cerutti e cols 1994, Fazan Jr e cols 2005].

A variabilidade da FC é modulada pelo sistema nervoso simpático e parassimpático e a contribuição relativa de cada um deles foi avaliada por Berger e colaboradores [1989]. Neste estudo eles demonstraram através de medidas na variação da FC à estimulação elétrica do nervo simpático cardíaco em cães, que as respostas à estimulação simpática se tornaram insignificantes com frequências acima de 0,15 Hz. Estes resultados foram posteriormente confirmados em humanos [Saul e cols 1989, 1991] e sugerem que o sistema nervoso simpático é muito lento para atuar em frequências acima de 0,15 Hz. Da mesma forma, Stauss e colaboradores [1997] demonstraram em ratos, que as respostas do nodo sino-atrial mediadas pelo simpático foram limitadas às frequências de estimulação do núcleo paraventricular menores que 0,5 Hz. Assim, é pouco provável que em camundongos, o sistema nervoso simpático esteja modulando as oscilações da FC na banda de HF.

Como o barorreflexo desempenha um papel importante no controle das oscilações do IP na banda de LF, é esperado que o barorreflexo deva controlar as oscilações da PA nessa banda de frequência, predizendo que a potência na faixa de LF do espectro da PA deveria aumentar após a DSA. De fato, a DSA promoveu um significativo aumento na potência da banda de LF dos espectros da PA sistólica.

Em estudos prévios em ratos e gatos, a DSA paradoxalmente reduziu a potência de LF do espectro da PA sistólica [Cerutti e cols 1994, Mancina e cols 1999]. Tem sido proposto que um fenômeno de ressonância na alça do barorreflexo arterial pode causar variabilidade de LF na PA [DeBoer e cols 1987, Di Rienzo e cols 1991, Cerutti e cols 1994, Bertram e cols 1998]. Ou seja, o retardo do mecanismo de feedback negativo gera oscilações, quando esse retardo é suficiente para que a saída fica em fase com a entrada, criando um feedback positivo [Bertram e cols

1998]. O fato de no presente estudo, a DSA não ter promovido uma redução na potência de LF do espectro da PA sugere que o fenômeno de ressonância não deve ser o maior contribuinte para as oscilações de LF do espectro da PA em camundongos.

Diferentes autores consideram que a potência de LF do espectro da PA representa um bom marcador da atividade simpática vascular [Pagani e cols 1986, Baselli e cols 1988, Furlan e cols 1990, Rimoldi e cols 1990, Cerutti e cols 1991]. Assim, um aumento da potência de LF do espectro da PA é indicativo de uma hiperatividade simpática vascular em camundongos submetidos à DSA aguda.

Assim como observado após a DSA, camundongos submetidos à desnervação aórtica ou carotídea também apresentaram um aumento da potência de LF do espectro da PA, sugerindo que ambos são igualmente importantes na modulação das oscilações da PA na banda de LF.

Em nosso estudo, a DSA promoveu um aumento da potência de HF do espectro da PA. A banda de HF do espectro da PA corresponde à frequência respiratória e diferentes estudos já demonstraram que sua potência está aumentada em ratos [Jacob e cols 1995] ou não é alterada em ratos [Cerutti e cols 1994] e gatos [Di Rienzo e cols 1991, Mancina e cols 1999] após a DSA. Este aumento no HF dos espectros da PA após a DSA indica que o barorreflexo também modula as oscilações da PA nessa banda de frequência. A desnervação seletiva (aórtica ou carotídea) também aumentou o HF da variabilidade da PA. Alterações na resistência vascular mediadas pelo simpático geralmente ocorrem muito lentamente para serem capazes de modular as oscilações da PA na banda de HF. Em ratos, a máxima frequência para oscilações na resistência vascular é aproximadamente 1 Hz [Stauss e Kregel 1996, Stauss e cols 1997, Grisk e Stauss 2002]. Entretanto, a possibilidade

da neurotransmissão simpática ocorrer mais rapidamente em camundongos ainda não foi investigada.

Outras potenciais conseqüências da DSA ou desnervação seletiva, como alterações na respiração ou atividade locomotora também devem ser consideradas. Aumentos na intensidade respiratória e as maiores flutuações correspondentes na pressão intratorácica podem potencialmente aumentar as oscilações da PA na banda de HF [Pagani e cols 1986, Japundzic e cols 1990]. A DSA, assim como a desnervação seletiva (aórtica ou carotídea), não altera a freqüência respiratória ou o volume corrente em ratos [Mauad e cols 1992]. Ratos submetidos à desnervação total ou parcial dos barorreceptores apresentaram alguns episódios ocasionais de respiração profunda, que foram associados com reduções transientes na PA [Mauad e cols 1992]. Estas oscilações podem contribuir para variabilidade total da PA, mas é improvável que, em ratos submetidos à DSA ou desnervação seletiva, elas influenciem as oscilações da PA na banda de HF. Futuros estudos em camundongos são necessários para avaliar a contribuição de alterações na respiração sobre a variabilidade da PA na banda de HF.

### O Papel do Barorreflexo na Modulação Autonômica Cardiovascular em Camundongos

A contribuição relativa do sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático no controle da FC em camundongos ainda é controversa. Em nosso estudo com camundongos intactos, o IP foi levemente reduzido pela administração de metil-atropina e intensamente aumentado pela administração de propranolol, indicando que tanto a atividade simpática como a parassimpática tonicamente

modulam o IP nas condições do presente estudo, com uma grande predominância simpática.

O aumento no IP induzido pelo propranolol foi semelhante ao observado em estudos anteriores com camundongos [Ishii e cols 1996, Mansier e cols 1996, Rohrer e cols. 1998, Uechi e cols 1998, Gehrmann e cols 2000, Just e cols 2000]. Diferente dos achados consensuais sobre a contribuição simpática na determinação do IP, a contribuição do tono vagal para a FC no repouso varia consideravelmente entre os estudos, com relatos de mínimas ( $< 10$  batimentos/min) [Gehrmann e cols 2000, Janssen e cols 2000, Just e cols 2000], moderadas (20 a 60 batimentos/min) [Ishii e cols 1996] ou substanciais ( $> 70$  batimentos/min) [Rohrer e cols. 1998, Uechi e cols 1998, Pelat e cols 2003] respostas de FC à atropina. As razões para as marcantes diferenças nas respostas à atropina não são claras, mas diferenças nas condições de registro, carga genética dos camundongos e tempo de recuperação após a cirurgia, entre outros fatores, podem estar envolvidas.

O aumento no IP induzido pelo propranolol nos animais submetidos à DSA foi muito maior do que o aumento observado nos animais intactos. Estes resultados sugerem que a DSA em camundongos, nas condições do presente estudo, promove uma hiperatividade simpática cardíaca.

Assim como a DSA, a desnervação seletiva (aórtica ou carotídea) também promoveu um aumento no tono simpático cardíaco. Esse aumento foi similar nos 3 grupos desnervados (total ou parciais), sugerindo que os barorreceptores aórticos e carotídeos são igualmente importantes na regulação do tono simpático em camundongos.

A hiperatividade simpática tem sido considerada a principal determinante do aumento da PA após a DSA. Medidas de catecolaminas plasmáticas, bloqueio

simpático agudo ou crônico e lesões localizadas no sistema nervoso central têm sido utilizados para avaliação indireta do aumento no tono simpático periférico [Alexander e cols 1980, Saavedra e Krieger 1987, Franchini e Krieger 1994]. Medidas diretas da atividade do nervo simpático renal também já foram realizadas em ratos submetidos à DSA [Irigoyen e cols 1988].

Irigoyen e colaboradores [1995] demonstraram que a PA e a atividade do nervo simpático renal estão elevadas após a DSA aguda, mas 20 dias após a remoção das aferências barorreceptoras, a PA e a atividade simpática retornam aos níveis normais. O mesmo foi demonstrado por Barrès e colaboradores [1992] em ratos submetidos à DSA crônica (14 dias). Chandler e DiCarlo [1997] demonstraram que o tono simpático cardíaco também está normalizado 14 dias após a remoção das aferências dos barorreceptores arteriais em ratos.

Irigoyen e colaboradores [1995] sugerem que a PA e a atividade do nervo simpático renal após a DSA são determinadas pela eliminação simultânea dos quimiorreceptores e dos barorreceptores arteriais. Na fase aguda, o efeito da remoção das aferências barorreceptoras, com conseqüente aumento na atividade simpática e na PA, é predominante [Irigoyen e cols 1988, Franchini e Krieger 1994]. Cronicamente, a normalização da PA e atividade do nervo simpático renal reflete o balanço entre os efeitos opostos da desnervação dos quimiorreceptores e barorreceptores arteriais. Além disso, outros reflexos, como o reflexo cardiopulmonar, provavelmente atuam no sentido de reverterem a hipertensão [Franchini e Krieger 1992, Franchini e Krieger 1994].

Nós demonstramos que a DSA aguda, assim como na desnervação parcial seletiva dos barorreceptores, promove hipertensão e aumento no tono simpático cardíaco em camundongos. Esta hiperatividade simpática demonstrada agudamente



pode explicar, pelo menos em parte, a hipertensão observada após a remoção total ou parcial das aferências barorreceptoras. No entanto, os efeitos da DSA crônica não foram avaliados no presente estudo. Portanto, não podemos excluir a possibilidade de que, cronicamente, a atividade simpática e/ou a PA, retornem aos valores normais. Estudos adicionais são necessários para avaliarmos os efeitos da DSA crônica em camundongos.

No presente estudo, a DSA e a desnervação seletiva (aórtica ou carotídea) aboliram completamente os efeitos da metil atropina sobre o IP, o que é consistente com a hipótese de que os camundongos submetidos à DSA, assim como os camundongos desnervados aórticos ou carotídeos, apresentam um desbalanço autonômico, com predominância simpática. Franchini e Krieger [1989] demonstraram um comprometimento na função parassimpática periférica, possivelmente devido à redução na sensibilidade dos receptores muscarínicos após a DSA em ratos. Da mesma forma, a DSA, assim como a desnervação aórtica ou carotídea parecem alterar o controle parassimpático da FC.

O IP após a administração de atropina nos camundongos submetidos à desnervação aórtica ou carotídea foi semelhante ao observado após a DSA, sugerindo que ambos barorreceptores são igualmente importantes no controle do tono vagal em camundongos.

As alterações no IP induzidas pela atropina e propranolol não são secundárias a alterações na PA, pois nenhum dos bloqueadores autonômicos alterou os valores de PA em nenhum dos grupos estudados.

Seria esperado que, a redução no tono parassimpático e aumento no tono simpático observados após a DSA, desnervação aórtica ou carotídea, resultariam em uma FC maior nos camundongos desnervados. Pelo contrário, a FC basal não

diferiu entre os grupos estudados, sugerindo que a DSA, assim como a desnervação seletiva dos barorreceptores aórticos ou carotídeos, promove uma redução na FC intrínseca em camundongos. De fato, o IP após o duplo bloqueio de receptores autonômicos foi maior nos camundongos desnervados (total ou parcialmente), o que corrobora a idéia de que a DSA ou a desnervação seletiva reduzem a FC intrínseca em camundongos.

Estudos em ratos já demonstraram que a DSA promove uma redução na FC intrínseca [Vasquez e Krieger 1982, Machado e Brody 1989]. Alguns autores propõem que essa redução na FC intrínseca após a DSA é resultado da contínua estimulação simpática do coração [Tucker e Gist 1986, Machado e Brody 1989], uma vez que a DSA é um conhecido modelo de hiperatividade simpática. Tucker e Gist [1986] demonstraram que a estimulação simpática tônica de corações de ratos em desenvolvimento diminui a frequência intrínseca de disparos do marcapasso. Porém, futuros estudos em camundongos são necessários para caracterizar os mecanismos envolvidos nas alterações no marcapasso cardíaco após a DSA.

### Estudo do Barorreflexo Espontâneo Através da Técnica da Seqüência

Diferentes métodos têm sido utilizados para avaliar diretamente o barorreflexo. Historicamente, existem algumas intervenções que diretamente perturbam o sistema cardiovascular: a manobra de Valsalva [Baldwa e Ewing 1977], oclusão das carótidas [Roddie e Sheperd 1957], sucção no pescoço [Ernsting e Parry 1957], vasodilatadores e/ou vasoconstritores [Smyth e cols 1969, Gribbin e cols 1971, Chen e cols 1982, Ebert 1990] e alterações posturais [Lindqvist 1990]. Estas intervenções promovem alterações na PA que estimulam os barorreceptores arteriais e desencadeiam alterações no IP mediadas pelo barorreflexo.

Recentemente, têm sido propostos métodos que avaliam as flutuações espontâneas na PA e IP, normalmente observadas em diferentes modelos animais e humanos. Estes métodos são baseados na suposição de que oscilações espontâneas na PA estimulam os barorreceptores, gerando oscilações no IP que são mediadas pelo barorreflexo [Frankel e cols 1993]. Alguns métodos são baseados no uso da análise espectral da variabilidade espontânea do intervalo IP e PA sistólica [Robbe e cols 1987, Pagani e cols 1988].

Outro método comumente utilizado para estudo do barorreflexo espontâneo é baseado na identificação de seqüências de três ou mais batimentos, onde a PA sistólica e o IP progressivamente variam na mesma direção [Bertinieri e cols 1985, Parati e cols 1988]. Este método, chamado de técnica da seqüência, tem sido muito utilizado para o estudo do barorreflexo espontâneo em seres humanos e animais de experimentação, principalmente camundongos acordados [Gross e cols 2002, Chen e cols 2005, Martinka e cols 2005, Adams e cols 2006, Zhang e cols 2006, Laude e cols 2008, Laude e cols 2009].

No presente estudo, utilizamos a técnica da seqüência para estudar o barorreflexo espontâneo em camundongos intactos ou submetidos à DSA, antes e após o duplo bloqueio de receptores autonômicos cardíacos.

Nosso estudo em camundongos intactos demonstrou que, a análise de séries temporais da PA e IP permitiram a identificação de um considerável número de seqüências caracterizadas por aumentos ou quedas na PA e IP que estão linearmente relacionadas.

Surpreendentemente, o número de seqüências barorreflexas não foi alterado pela DSA em camundongos, sugerindo que 5 dias após a DSA, os camundongos ainda apresentam variações no IP que são dirigidas por variações na PA. Estes

resultados diferem do que foi previamente demonstrado em gatos, onde a DSA promoveu uma grande redução (em torno de 86%) no número de seqüências barorreflexas [Bertinieri e cols 1988, Mancina e cols 1999].

Martinka e colaboradores [2005] encontraram um considerável número de seqüências barorreflexas em camundongos submetidos à DSA crônica (20 semanas) e atribuíram estas seqüências à incompleta desnervação das aferências baroreceptoras. No presente estudo, a presença destas seqüências após a DSA, não pode ser atribuída a uma desnervação incompleta. A DSA foi confirmada pela ausência de respostas reflexas de FC a aumentos na PA induzidos pela fenilefrina, pelo grande aumento na variabilidade total da PA e redução na variabilidade do IP após a desnervação.

Nossa primeira hipótese para explicar a presença de seqüências com características barorreflexas após a DSA em camundongos foi a de que estas seqüências poderiam não representar eventos fisiológicos reais, sendo apenas interações ao acaso entre a PA e o IP. Para testar esta hipótese, as séries temporais da PA e IP dos camundongos submetidos à DSA foram analisadas após o duplo bloqueio autonômico. O duplo bloqueio autonômico reduziu drasticamente o número de seqüências nos camundongos, tanto intactos como desnervados. Estes resultados sugerem que estas seqüências observadas após a DSA não são eventos meramente aleatórios, pois elas são mediadas pelo sistema nervoso autônomo.

O fato dos camundongos submetidos à DSA ainda apresentarem seqüência barorreflexas, e estas desaparecerem após bloqueio autonômico cardíaco, sugere fortemente que mesmo após a retirada dos barorreceptores o sistema nervoso autônomo continua exercendo controle sobre a PA por meio de variações no IP. Assim, mecanismos que, em condições normais desempenham um papel menos

importante no controle da PA, podem se destacar após a remoção das aferências dos barorreceptores.

Está bem estabelecido que o controle minuto a minuto da função cardiovascular é realizado por diferentes mecanismos reflexos que, por meio de suas aferências autonômicas, contribuem para manutenção da PA em níveis adequados [Salgado e cols 2004]. Além do barorreflexo arterial, outros mecanismos neurais como o quimiorreflexo arterial e o reflexo cardiopulmonar também contribuem para regulação reflexa da circulação [Vasquez e cols 1997].

Estudos realizados em humanos e diferentes modelos animais já demonstraram que o reflexo cardiopulmonar desempenha um papel importante no controle neural da circulação [Thorén 1979, Guo e cols 1982, Mark e Mancia 1983, Zanchetti e Mancia 1991, Vasquez 1994]. Os impulsos provenientes dos receptores cardiopulmonares tonicamente restringem a função cardíaca e contribuem para o controle fisiológico da circulação [Guazzi e cols 1962, Vasquez e cols 1997]. As respostas reflexas à estimulação das aferências cardiopulmonares já foram previamente demonstradas em camundongos e são semelhantes às observadas em outras espécies [Butcher e cols 1998, Paton e Butcher 1998, Peotta e cols 2001].

É possível que, na ausência do barorreflexo, o reflexo cardiopulmonar passe a ter um papel predominante na regulação da PA, o que explicaria a presença, após a DSA, de seqüências que caracterizam um controle reflexo da PA.

De fato, estudos demonstraram que a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar depende do grau de atividade dos barorreceptores arteriais [Mancia e cols 1973]. Chen [1979] demonstrou que a presença da inibição cardiovascular tônica exercida pelos barorreceptores arteriais tende a reduzir o reflexo cardiopulmonar em coelhos. Essa inibição do reflexo cardiopulmonar exercida pelo barorreflexo se torna evidente

com o aumento na sensibilidade do reflexo cardiopulmonar observado após a remoção total ou parcial das aferências dos barorreceptores arteriais [Guo e cols 1982, Chianca Jr. e Machado 1994].

Apesar de termos demonstrado por meio da técnica da seqüência que, na ausência do barorreflexo, a PA ainda parece ser regulada por mecanismos dependentes do sistema nervoso autônomo, os dados do presente estudo não nos permite concluir qual o mecanismo exato envolvido nessa regulação. A possível participação do reflexo cardiopulmonar, assim como a de outros mecanismos neurais, ainda precisa ser avaliada em camundongos.

Embora o número de seqüências não tenha sido diferente, o ganho destas seqüências foi drasticamente reduzido pela DSA. Esses resultados indicam que se realmente existe um mecanismo neural que controla a PA após a DSA em camundongos, ele é menos efetivo do que o barorreflexo. A menor sensibilidade desse mecanismo, quando comparado ao barorreflexo, poderia explicar a ausência de respostas reflexas de FC nos camundongos submetidos à DSA, quando a PA foi rapidamente elevada com a infusão de fenilefrina. Essa redução no ganho das seqüências após a DSA já foi previamente demonstrado em outras espécies, incluindo camundongos [Bertinieri e cols 1988, Mancina e cols 1999, Martinka e cols 2005].

Outro fator que precisa ser levado em consideração é o quanto os índices espontâneos, como os obtidos com a técnica da seqüência, são consistentes com a função barorreflexa. Os valores derivados dos procedimentos para estimativa do ganho do barorreflexo espontâneo têm sido repetidamente comparados com as metodologias tradicionais, que induzem alterações farmacológicas na PA, e os

resultados são conflitantes [Pitzalis e cols 1998, Lipman e cols 2003, Laude e cols 2004, Parati e cols 2004, Moffitt e cols 2005].

Diferentes estudos têm demonstrado que os valores do ganho do barorreflexo derivados de métodos farmacológicos e espontâneos estão significativamente correlacionados em diferentes situações [Parlow e cols 1995, Pitzalis e cols 1998]. Além disso, os índices espontâneos foram validados não apenas pelo método farmacológico como também pela análise de dados substituídos (*surrogate data analysis*) [Blaber e cols 1995], demonstrando que as seqüências barorreflexas espontâneas representam eventos fisiológicos reais e não são apenas interações aleatórias entre a PA e o IP.

Por outro lado, alguns trabalhos têm demonstrado que os índices espontâneos são inconsistentes com a função barorreflexa [Lipman e cols 2003, Moffitt e cols 2005]. Lipman e colaboradores [2003] afirmam que os índices espontâneos são incapazes de explorar a função barorreflexa porque não estão correlacionados com os valores obtidos com a infusão de drogas vasoativas e com a distensibilidade das carótidas em humanos. Da mesma forma, Moffitt e colaboradores [2005] concluíram que os métodos espontâneos não são confiáveis ou válidos quando comparados aos métodos tradicionais, baseados na infusão de fenilefrina e nitroprussiato de sódio.

No presente estudo, nós demonstramos que o valor do ganho do barorreflexo calculado pela técnica da seqüência difere do obtido por meio da infusão de fenilefrina em camundongos. Esta diferença entre os dois métodos se torna evidente quando avaliamos o ganho do barorreflexo após a DSA. A bradicardia reflexa em resposta a aumentos na PA induzidos pela infusão de fenilefrina foi completamente abolida após a DSA (ganho próximo a zero) enquanto que a técnica da seqüência

nos mostrou que as seqüências não são eliminadas pela desnervação embora o ganho seja reduzido à metade. Estes dados corroboram a idéia de que talvez, a técnica da seqüência não reflita adequadamente ou exclusivamente a função barorreflexa em camundongos.

O barorreflexo utiliza tanto o sistema nervoso simpático como o parassimpático para compensar alterações na PA. A constante de tempo para contribuição simpática é relativamente maior do que a constante do componente vagal [Head e McCarthy 1987]. Assim, a avaliação do barorreflexo arterial durante um curto período de tempo pode não avaliar apropriadamente a compensação simpática e parassimpática para as flutuações espontâneas na PA [Moffitt e cols 2005]. Além disso, os parâmetros cardiovasculares, como a frequência respiratória e o tono autonômico, diferem entre as espécies. Estas diferenças fisiológicas podem afetar a estimativa do ganho do barorreflexo espontâneo, que historicamente foi descrito em gatos e humanos. Os métodos e valores inicialmente descritos nestas espécies não são necessariamente transferíveis para outras espécies, como camundongos. O fato de que, diferente do observado em outras espécies, o camundongo apresenta uma predominância do componente simpático na determinação do IP em condições basais, fortalece a idéia de que talvez a técnica da seqüência não seja adequada para estimativa do ganho do barorreflexo espontâneo em camundongos.

Por outro lado, Laude e cols [2008, 2009] realizaram estudos sistemáticos utilizando a técnica da seqüência em camundongos, com o objetivo de validar o cálculo do ganho do barorreflexo espontâneo pelo método da seqüência em camundongos e demonstraram que a técnica da seqüência, assim como demonstrado em outras espécies, é aplicável ao camundongo.



Todavia, dois fatores importantes precisam ser levados em consideração quando comparamos os valores do ganho do barorreflexo obtidos com a infusão de fenilefrina ou com a técnica da seqüência. Os dois métodos estudam o barorreflexo em diferentes pontos de operação: durante um estímulo máximo (a maior PA atingida após infusão de fenilefrina) e durante o menor estímulo (níveis normais de PA presentes em condições espontâneas) [Pitzalis e cols 1998]. Além disso, as duas metodologias são completamente distintas. Enquanto o método da fenilefrina é baseado em um modelo de alça aberta, que leva em consideração as alterações no IP induzidas por variações na PA [Triedman e cols 1995, Perrot e Cohen 1996], a técnica da seqüência é baseada em um modelo de alça fechada, onde as oscilações na PA induzem alterações no IP, que por sua vez são capazes de modificar a PA [Akselrod e cols 1985, Baselli e cols 1988, Mullen e cols 1997].

Sendo assim, embora nossos resultados sugiram que as duas metodologias não se correlacionam e que talvez a técnica da seqüência não seja adequada para estudo da função baroreflexa em camundongos, é necessária cautela ao afirmar que um dos métodos seja mais adequado para determinação do ganho do barorreflexo, uma vez que estudam o barorreflexo de maneiras distintas.

## *6. CONCLUSÕES*

---

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, podemos concluir que:

- 1) A desnervação aguda (5 dias) dos barorreceptores (total ou parcial) promove hipertensão, sem alterar o IP;
- 2) Assim como observado em outras espécies, a DSA, assim como a desnervação parcial dos barorreceptores, promove um grande aumento na variabilidade da PA e no tono simpático cardíaco em camundongos;
- 3) O baroreflexo desempenha um papel importante nas oscilações do IP na banda de LF;
- 4) Os barorreceptores aórticos e carotídeos parecem ser igualmente importantes na regulação autonômica do sistema cardiovascular em camundongos;
- 5) Cinco dias após a DSA, os camundongos ainda apresentam variações no IP, que são dirigidas por alterações na PA e mediadas pelo sistema nervoso autônomo.

## *7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

---

**Abboud FM, Eckberg DI, Johannsen UF, Mark AI.** Carotid and cardiopulmonary baroreceptor control of splanchnic and forearm vascular resistance during venous pooling in man. *J Physiol* 286: 173-184, 1979.

**Adams DJ, Head GA, Markus MA, Lovicu FJ, van der Weyden L, Kontgen F, Arends MJ, Thiru S, Mayorov DN, Morris BJ.** Renin enhancer is critical for control of renin gene expression and cardiovascular function. *J Biol Chem* 281: 31753-31761, 2006.

**Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NC, Shannon DC, Cohen RJ.** Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *Am J Physiol* 249 (4 Pt 2): H867-H875, 1985.

**Alexander N, Velasquez M, Decuir M, Maronde RF.** Indices of sympathetic activity in the sinoaortic-denervated hypertensive rat. *Am J Physiol* 238 (4): H521-H526, 1980.

**Alper RH, Jacob HJ, Brody MJ.** Central and peripheral mechanisms of arterial pressure lability following baroreceptor denervation. *Can J Physiol Pharmacol* 65 (8): 1615-1618, 1987.

**Baldwa VS, Ewing DJ.** Heart rate response to Valsalva manoeuvre: reproducibility in normals, and relation to variation in resting heart rate in diabetics. *Br Heart J* 39 (6):641-644, 1977.

**Barres C, Lewis SJ, Jacob HJ, Brody MJ.** Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. *Am J Physiol* 263 (3 Pt. 2): R639-R646, 1992.

**Baselli G, Cerutti S, Civardi S, Malliani A, Pagani M.** Cardiovascular variability signals: towards the identification of a closed-loop model of the neural control mechanisms. *IEEE Trans Biomed Eng* 35 (12): 1033-1046, 1988.

**Baudrie V, Laude D, Elghozi JL.** Optimal frequency ranges for extracting information on cardiovascular autonomic control from the blood pressure and pulse

interval spectrograms in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292 (2): R904-R912, 2007.

**Berger RD, Saul JP, Cohen RJ.** Transfer function analysis of autonomic regulation. I. Canine atria1 rate response. *Am J Physiol* 256 (1 Pt. 2): H142-H152, 1989.

**Bertinieri G, Di Rienzo M, Cavallazzi A, Ferrari AU, Pedotti A, Mancia G.** A new approach to analysis of the arterial baroreflex. *J Hypertens Suppl* 3 (3): S79-S81, 1985.

**Bertinieri G, Di Rienzo M, Cavallazzi A, Ferrari A, Pedotti A, Mancia G.** Evaluation of baroreceptor reflex by blood pressure monitoring in unanesthetized cats. *Am J Physiol* 254 (2 Pt. 2):H377-H383, 1988.

**Bertram D, Barres C, Cuisinaud G, Julien C.** The arterial baroreceptor reflex of the rat exhibits positive feedback properties at the frequency of Mayer waves. *J Physiol* 513 (Pt. 1): 251-261, 1998.

**Binkley PF, Nunziata E, Haas GJ, Nelson SD, Cody RJ.** Parasympathetic withdrawal is an integral component of autonomic imbalance in congestive heart failure: demonstration in human subjects and verification in a paced canine model of ventricular failure. *J Am Coll Cardiol* 18 (2): 464-472, 1991.

**Blaber AB, Yamamoto Y, Hughson RL.** Methodology of spontaneous baroreflex relationship assessed by surrogate data analysis. *Am J Physiol* 268 (4 Pt. 2):H1682-H1687, 1995.

**Buchholz RA, Hubbard JW, Nathan MA.** Comparison of 1-hour and 24-hour blood pressure recordings in central or peripheral baroreceptor-denervated rats. *Hypertension* 8 (12): 1154-1163, 1986.

**Butcher JW, De Felipe C, Smith AJH, Hunt SP, Paton JFR.** Comparison of cardiorespiratory reflexes in NK1 receptor knockout, heterozygous and wild-type mice *in vivo*. *J Auton Nerv Syst* 69 (2-3): 89-95, 1998.

**Cerutti C, Gustin MP, Paultre CZ, Lo M, Julien C, Vincent M, Sassard J.** Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach. *Am J Physiol* 261 (4 Pt. 2): H1292-H1299, 1991.

**Cerutti C, Barres C, Paultre C.** Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats: assessment by spectral analysis. *Am J Physiol* 266 (5 Pt. 2): H1993-H2000, 1994.

**Chandler MP, DiCarlo SE.** Sinoaortic denervation prevents postexercise reductions in arterial pressure and cardiac sympathetic tonus. *Am J Physiol* 273 (6 Pt. 2): H2738–H2745, 1997.

**Chen IH.** Interaction between the baroreceptor and Bezold-Jarisch reflexes. *Am J Physiol* 237 (6): H655-H661, 1979.

**Chen RY, Fan FC, Schuessler GB, Chien S.** Baroreflex control of heart rate in humans during nitroprusside-induced hypotension. *Am J Physiol* 243 (1):R18–R24, 1982.

**Chen Y, Joaquim LF, Farah VM, Wichi RB, Fazan Jr R, Salgado HC, Morris M.** Cardiovascular autonomic control in mice lacking angiotensin AT1a receptors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288 (4): R1071-R1077, 2005.

**Chianca Jr DA, Machado BH.** The sensitivity of the Bezold-Jarisch reflex is increased in rats with sinoaortic deafferentation. *Braz J Med Biol Res* 27 (3): 775-781, 1994.

**Ciriello JA, Hrycyszyn W, Calaresu FR.** Horseradish peroxidase study of brain stem projections of carotid sinus and aortic depressor nerves in the cat. *J Auton Nerv Syst* 4 (1): 43-61, 1981.

**Ciriello J.** Brainstem projections of aortic baroreceptor afferent fibers in the rat. *Neurosci Lett* 36 (1): 37-42, 1983.

**Conway J, Boon N, Davies C, Jones JV, Sleight P.** Neural and humoral mechanisms involved in blood pressure variability. *J Hypertens* 2 (2): 203-208, 1984.

**Cowley Jr AW, Liard JF, Guyton AC.** Role of the baroreceptor reflex in daily control of arterial blood pressure and other variables in dogs. *Circ Res* 32 (5): 564-576, 1973.

**Cowley AW Jr, Quillen EW, Barber BJ.** Further evidence for lack of baroreceptor control of long-term level of arterial pressure. In: *Arterial Baroreceptors and Hypertension*, edited by P. Sleight. London: Oxford Univ Press, p. 391-399, 1980.

**Cyon E, Ludwig C.** Die Reflexe eines der sensiblen Nerven des Herzens auf die Motorik der Blutgefäße. *Ber Sachs Ges Akad Wissenschaften* 18: 307-328, 1866.

**deBoer RW, Karemaker JM, Strackee J.** Hemodynamic fluctuations and baroreflex sensitivity in humans: a beat-to-beat model. *Am J Physiol* 253 (3 Pt. 2): H680-H689, 1987.

**Dent AC, Coleman TG, Norman RA.** Arterial pressure and baroreceptor gain (BG) in aortic denervated (AD) rats (Abstract). *Federation Proc* 41: 1093, 1982.

**Di Rienzo M, Bertinieri G, Mancina G, Pedotti A.** A new method for evaluating the baroreflex role by a joint pattern analysis of pulse interval and systolic blood pressure series. *Med Biol Eng Comput* 23 (suppl I): 313–314, 1985.

**Di Rienzo M, Parati G, Castiglioni P, Omboni S, Ferrari AU, Ramirez AJ, Pedotti A, Mancina G.** Role of sinoaortic afferents in modulating BP and pulse-interval spectral characteristics in unanesthetized cats. *Am J Physiol* 261 (6 Pt. 2): H1811-H1818, 1991.

**Donald DE, Edis AJ.** Comparison of aortic and carotid baroreflexes in the dogs. *J Physiol* 215 (2): 521-538, 1971.

**Ebert TJ.** Differential effects of nitrous oxide on baroreflex control of heart rate and peripheral sympathetic nerve activity in humans. *Anesthesiology* 72 (1):16–22, 1990.

**Edis AJ.** Aortic baroreflex function in the dog. *Am J Physiol* 221 (5): 1352-1357, 1971.

**Ernsting J, Parry DJ.** Some observations on the effects of stimulating the stretch receptors in the carotid artery of man. *J Physiol* 137: 45P–46P, 1957.



**Fazan Jr. R, de Oliveira M, Dias Da Silva VJ, Joaquim LF, Montano N, Porta A, Chapleau MW, Salgado HC.** Frequency-dependent baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variability in conscious mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289 (5): H1968-H1975, 2005.

**Ferrari AU, Daffonchio A, Albergati F, Mancia G.** Inverse relationship between heart rate and blood pressure variability in rats. *Hypertension* 10 (5): 533-537, 1987.

**Ferrario CM, McCubbin JW, Page IH.** Hemodynamic characteristics of chronic experimental neurogenic hypertension in unanesthetized dogs. *Circ Res* 24 (6): 911-922, 1969.

**Fink GD, Bryan WJ, Mann M, Osborn J, Werber A.** Continuous blood pressure measurement in rats with aortic baroreceptor deafferentation. *Am J Physiol* 241 (2): H268-H272, 1981.

**Franchini KG, Krieger EM.** Bradycardic responses to vagal stimulation and methacholine injection in sinoaortic denervated rats. *Braz J Med Biol Res* 22 (6): 757-760, 1989.

**Franchini KG, Krieger EM.** Carotid chemoreceptors influence arterial pressure in intact and aortic-denervated rats. *Am J Physiol* 262 (4 Pt. 2): R677-R683, 1992.

**Franchini KG, Krieger EM.** Neurogenic hypertension in the rat. In: Ganten D & de Jong W (editors), *Handbook of Hypertension, Experimental and Genetic Models of Hypertension*. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands: 482 – 500, 1994.

**Frankel RA, Metting PJ, Britton SL.** Evaluation of spontaneous baroreflex sensitivity in conscious dogs. *J Physiol* 462: 31-45, 1993.

**Frattola A, Parati G, Cuspidi C, Albin F, Mancia G.** Prognostic value of 24-hour blood pressure variability. *J Hypertens* 11 (10): 1133-1137, 1993.

**Fujii M, Hara H, Meng W, Vonsattel JP, Huang Z, Moskowitz MA.** Strain-related differences in susceptibility to transient forebrain ischemia in SV-129 and C57black/6 mice. *Stroke* 28(9): 1805-1810, 1997.

**Furlan R, Guzzetti S, Crivellaro W, Dassi S, Tinelli M, Baselli G, Cerutti S, Lombardi F, Pagani M, Malliani A.** Continuous 24-hour assessment of the neural regulation of systemic arterial pressure and R-R variabilities in ambulant subjects. *Circulation* 81 (2): 537-547, 1990.

**Gassmann M, Hennet T.** From genetically altered mice to integrative physiology. *News Physiol Sci* 13: 53-57, 1998.

**Gehrmann J, Hammer PE, Maguire CT, Wakimoto H, Tiedman JK, Berul CI.** Phenotypic screening for heart rate variability in the mouse. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279 (2): H733-H740, 2000.

**Gribbin B, Pickering TG, Sleight P, Peto R.** Effect of age and high blood pressure on baroreflex sensitivity in man. *Circ Res* 29 (4):424–431, 1971.

**Grisk O, Stauss HM.** Frequency modulation of mesenteric and renal vascular resistance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 282 (5): R1468–R1476, 2002.

**Gross V, Plehm R, Tank J, Jordan J, Diedrich A, Obst M, Luft FC.** Heart rate variability and baroreflex function in AT2 receptor-disrupted mice. *Hypertension* 40 (2): 207–213, 2002.

**Gross V, Tank J, Obst M, Plehm R, Blumer KJ, Diedrich A, Jordan J, Luft FC.** Autonomic nervous system and blood pressure regulation in RGS2-deficient mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288 (5): R1134-R1142, 2005.

**Gu H, Epstein PN, Li L, Wurster RD , Cheng ZJ.** Functional changes in baroreceptor afferent, central and efferent components of the baroreflex circuitry in Type 1 diabetic mice (ove26). *Neuroscience* 152 (3): 741–752, 2008.

**Guazzi M, Libretti A, Zanchetti A.** Tonic reflex regulation of the cat's blood pressure through vagal afferents from the cardiopulmonary region. *Circ Res* 11:7-16, 1962.

**Guo GB, Thames MD, Abboud FM.** Differential baroreflex control of heart rate and vascular resistance in rabbits. Relative role of carotid, aortic and cardiopulmonary baroreceptors. *Circ Res* 50 (4): 554-565, 1982.

**Guyton AC.** Arterial pressure regulation: I. Rapid pressure control by nervous reflexes and other mechanisms. In: *Textbook of Medical Physiology*. Guyton AC Ed. Saunders WB Co. Philadelphia pp 244-255, 1986.

**Guzzetti S, Dassi S, Pecis M, Casati R, Masu AM, Longoni P, Tinelli M, Cerutti S, Pagani M, Malliani A.** Altered pattern of circadian neural control of heart period in mild hypertension. *J Hypertens* 9 (9): 831-838, 1991.

**Head GA, McCarthy R.** Vagal and sympathetic components of the heart rate range and gain of the baroreceptor-heart rate reflex in conscious rats. *J Auton Nerv Syst* 21 (2-3): 203–213, 1987.

**Head GA, Obeyesekere VR, Jones ME, Simpson ER, Krozowski ZS.** Aromatase-deficient (ArKO) mice have reduced blood pressure and baroreflex sensitivity. *Endocrinology* 145 (9): 4286-4291, 2004.

**Higgins GA, Hoffman GE, Wray S, Schwaber JS.** Distribution of neurotensin-immunoreactivity within baroreceptive portions of the nucleus of the tractus solitarius and the dorsal vagal nucleus of the rat. *J Comp Neurol* 226 (2): 155-164, 1984.

**Hughson RL, Quintin L, Annat G, Yamamoto Y, Gharib C.** Spontaneous baroreflex by sequence and power spectral methods in humans. *Clin Physiol* 13 (6): 663-676, 1993.

**Iellamo F, Legramante JM, Raimondi G, Castrucci F, Massaro M, Peruzzi G.** Evaluation of reproducibility of spontaneous baroreflex sensitivity at rest and during laboratory tests. *J Hypertens* 14 (9): 1099-1104, 1996.

**Irigoyen MC, Cestari IA, Moreira ED, Oshiro MS, Krieger EM.** Measurements of renal sympathetic nerve activity in conscious sinoaortic denervated rats. *Braz J Med Biol Res* 21 (4): 869 – 872, 1988.

**Irigoyen MC, Moreira ED, Ida F, Pires M, Cestari IA, Krieger EM.** Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 26 (6 Pt. 2): 1111-1116, 1995.

**Ishii K, Kuwahara M, Tsubone H, Sugano S.** Autonomic nervous function in mice and voles (*Microtus arvalis*): investigation by power spectral analysis of heart rate variability. *Lab Anim* 30 (4): 359-364, 1996.

**Ito CS, Scher AM.** Regulation of arterial blood pressure by aortic baroreceptors in the unanesthetized dog. *Circ Res* 42 (2): 230-236, 1978.

**Ito CS, Scher AM.** Hypertension following denervation of aortic baroreceptors in unanesthetized dogs. *Circ Res* 45 (1): 26-43, 1979.

**Ito CS, Scher AM.** Hypertension following arterial baroreceptor denervation in the unanesthetized dog. *Circ Res* 48 (4): 576-591, 1981.

**Jacob HJ, Alper RH, Brody MJ.** Lability of arterial pressure after baroreceptor denervation is not pressure dependent. *Hypertension* 14 (5): 501-510, 1989.

**Jacob HJ, Alper RH, Grosskreutz CL, Lewis SJ, Brody MJ.** Vascular tone influences arterial pressure lability after sinoaortic deafferentation. *Am J Physiol* 260 (2 Pt. 2): R359-R367, 1991.

**Jacob HJ, Ramanathan A, Pan SG, Brody MJ, Myers GA.** Spectral analysis of arterial pressure lability in rats with sinoaortic deafferentation. *Am J Physiol* 269 (6 pt 2): R1481-R1488, 1995.

**James JF, Hewett TE, Robbins J.** Cardiac physiology in transgenic mice. *Circ Res* 82 (4): 407-415, 1998.

**Janssen BJA, Leenders PJA, Smits JFM.** Short-term and long-term blood pressure and heart rate variability in the mouse. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 278 (1): R215-R225, 2000.

**Japundzic N, Grichois ML, Zitoun P, Laude D, Elghozi JL.** Spectral analysis of blood pressure and heart rate in conscious rats: effects of autonomic blockers. *J Auton Nerv Syst* 30 (2): 91-100, 1990.

**Julien C.** The enigma of Mayer waves: Facts and models. *Cardiovasc Res* 70 (1): 12-21, 2006.

**Jumrussirikul P, Dinerman J, Dawson TM, Dawson VL, Ekelund U, Georgakopoulos D, Schramm LP, Calkins H, Snyder SH, Hare JM, Berger RD.** Interaction between neuronal nitric oxide synthase and inhibitory G protein activity in heart rate regulation in conscious mice. *J Clin Invest* 102 (7): 1279-1285, 1998.

**Just A, Faulhaber J, Ehmke H.** Autonomic cardiovascular control in conscious mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279 (6): R2214-R2221, 2000.

**Kleiger RE, Miller JP, Bigger JT Jr, Moss AJ.** Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 59 (4): 256-262, 1987.

**Krieger EM, Marseillan RF.** Aortic depressor fibers in the rat: an electrophysiological study. *Am J Physiol* 205: 771 – 774, 1963.

**Krieger EM.** Neurogenic hypertension in the rat. *Circ Res* 15: 511-521, 1964.

**Krieger EM.** The acute phase of neurogenic hypertension in the rat. *Experientia* 26 (6): 628-629, 1970.

**Kumada M, Schimidt RM, Sagawa K, Tan KS.** Carotid sinus reflex in response to hemorrhage. *Am J Physiol* 219 (5): 1373-1379, 1970.

**Kumada M, Terui N, Kuwaki T.** Arterial baroreceptor reflex: its central and peripheral neural mechanisms. *Prog Neurobiol* 35 (5): 331-361, 1990.

**La Rovere MT, Schwartz PJ.** Baroreflex sensitivity as a cardiac and arrhythmia mortality risk stratifier. *Pacing Clin Electrophysiol* 20 (10 pt 2): 2602-2613, 1997.

**Laude D, Elghozi JL, Girard A, Bellard E, Bouhaddi M, Castiglioni P, Cerutti C, Cividjian A, Di Rienzo M, Fortrat JO, Janssen B, Karemaker JM, Leftheriotis G, Parati G, Persson PB, Porta A, Quintin L, Regnard J, Rudiger H, Stauss HM.** Comparison of various techniques used to estimate spontaneous baroreflex sensitivity (the EuroBaVar study). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286 (1): R226–R231, 2004.

**Laude D, Baudrie V, Elghozi JL.** Applicability of recent methods used to estimate spontaneous baroreflex sensitivity to resting mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294 (1):R142–R150, 2008.

**Laude D, Baudrie V, Elghozi JL.** Tuning of the sequence technique. *IEEE Eng Med Biol Mag* 28(6): 30–34, 2009.

**Lindqvist A.** Noninvasive methods to study autonomic nervous control of circulation. *Acta Physiol Scand Suppl* 588:1–107, 1990.

**Lipman RD, Salisbury JK, Taylor JA.** Spontaneous indices are inconsistent with arterial baroreflex gain. *Hypertension* 42 (4):481–487, 2003.

**Ludbrook J, Ventura S.** Roles of carotid baroreceptor and cardiac afferents in hemodynamic responses to acute central hypovolemia. *Am J Physiol* 270 (5 Pt. 2): H1538-H1548, 1996.

**Machado BH, Brody MJ.** Contribution of neurogenic mechanisms to control of intrinsic heart rate. *Am J Physiol* 256 (1 Pt. 2):R231-R235, 1989.

**Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S.** Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 84 (2): 482-492, 1991.

**Mancia G, Donald DE, Shepherd JT.** Inhibition of adrenergic outflow to peripheral blood vessels by vagal afferents from the cardiopulmonary region in the dog. *Circ Res* 33 (6): 713-721, 1973.

**Mancia G, Zanchetti A.** Blood pressure variability. In: *Handbook of Hypertension: Pathophysiology of Hypertension- Cardiovascular Aspects*, edited by A. Zanchetti and C. Tarazi. Amsterdam: Elsevier, vol 7, 125-152, 1986.

**Mancia G, Parati G, Pomidossi G, Casadei R, Di Rienzo M, Zanchetti A.** Arterial baroreflexes and blood pressure and heart rate variabilities in humans. *Hypertension* 8 (2): 147-153, 1986.

**Mancia G, Frattola A, Parati G, Santucci C, Ulian L.** Blood pressure variability and organ damage. *J Cardiovasc Pharmacol* 24: S6-S11, 1994.

**Mancia G, Parati G, Castiglioni P, Di Rienzo M.** Effect of sinoaortic denervation on frequency-domain estimates of baroreflex sensitivity in conscious cats. *Am J Physiol* 276 (6 Pt. 2): H1987-H1993, 1999.

**Mansier P, Medigue C, Charlotte N, Vermeiren C, Coraboeuf E, Deroubai E, Ratner E, Chevalier B, Clairambault J, Carre F, Dahkli T, Bertin B, Briand P, Strosberg D, Swynghedauw B.** Decreased heart rate variability in transgenic mice overexpressing atrial beta1-adrenoceptors. *Am J Physiol* 271 (4 Pt. 2): H1465-H1472, 1996.

**Mark AL, Mancia G:** Cardiopulmonary baroreflexes in humans, in Shepherd JT, Abboud FM (eds): *Handbook of Physiology, Section 2: The Cardiovascular System, Volume III, Part 2*, Bethesda, Md, American Physiological Society, pp 795-813, 1983.

**Martinka P, Fielitz J, Patzak A, Regitz-Zagrosek V, Persson PB, Stauss HM.** Mechanisms of blood pressure variability-induced cardiac hypertrophy and dysfunction in mice with impaired baroreflex. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288 (3): R767-R776, 2005.

**Mauad H, Glass ML, Machado BH.** Effect of selective denervation of baroreceptors on pulmonary ventilation and arterial pressure lability in rat. *Hypertension* 19 (2 Suppl): II-182-II186, 1992.

**Mésangeau D, Laude D, Elghozi JL.** Early detection of cardiovascular autonomic neuropathy in diabetic pigs using blood pressure and heart rate variability. *Cardiovasc Res* 45 (4): 889-899, 2000.

**Moffitt JA, Grippo AJ, Johnson AK.** Baroreceptor reflex control of heart rate in rats studied by induced and autogenic changes in arterial pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288 (5): H2422-H2430, 2005.

**Mullen TJ, Appel ML, Kukkamala R, Mathias JM, Cohen RJ.** System identification of closed-loop cardiovascular control: effects of posture and autonomic blockade. *Am J Physiol* 272 (1 Pt. 2): H448-H461, 1997.

**Norman RA Jr, Coleman TG, Dent AC.** Continuous monitoring of arterial pressure indicates sinoaortic denervated rats are not hypertensive. *Hypertension* 3 (1): 119-125, 1981.

**O'Leary DS, Scher AM.** Arterial pressure control after chronic carotid sinus denervation. *Am J Physiol* 255 (4 Pt. 2): H910-H916, 1988.

**Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandroni G, Maffato 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* 59 (2):178-193, 1986.

**Pagani M, Somers V, Furlan R, Dell'Orto S, Conway J, Baselli G, Cerutti S, Sleight P, Malliani A.** Changes in autonomic regulation induced by physical training in mild hypertension. *Hypertension* 12 (6): 600-610, 1988.

**Parati G, Pomidossi G, Albini F, Malaspina D, Mancia G.** Relationship of 24-hour blood pressure mean and variability to severity of target-organ damage in hypertension. *J Hypertens* 5 (1): 93-98, 1987a.

**Parati G, Pomidossi G, Casadei R, Groppelli A, Trazzi S, Di Rienzo M, Mancia G.** Role of heart rate variability in the production of blood pressure variability in man. *J Hypertens* 5 (5): 557-560, 1987b.

**Parati G, Di Rienzo M, Bertinieri G, Pomidossi G, Casadei R, Groppelli A, Pedotti A, Zanchetti A, Mancia G.** Evaluation of the baroreceptor-heart rate reflex by 24-hour intra-arterial blood pressure monitoring in humans. *Hypertension* 12 (2): 214-222, 1988.

**Parati G, Di Rienzo M, Mancia G.** How to measure baroreflex sensitivity: from the cardiovascular laboratory to daily life. *J Hypertens* 18 (1):7-19, 2000.

**Parati G, Di Rienzo M, Castiglioni P, Bouhaddi M, Cerutti C, Cividjian A, Elghozi JL, Fortrat JO, Girard A, Janssen BJ, Julien C, Karemaker JM, Iellamo F, Laude D, Lukoshkova E, Pagani M, Persson PB, Quintin L, Regnard J, Ruediger JH, Saul PJ, Vettorello M, Wesseling KH, Mancia G.** Assessing the sensitivity of



spontaneous baroreflex control of the heart: deeper insight into complex physiology. *Hypertension* 43 (5): e32–e34, 2004.

**Parlow J, Viale JP, Annat G, Hughson R, Quintin L.** Spontaneous cardiac baroreflex in humans: comparison with drugs-induced responses. *Hypertension* 25 (5): 1058–1068, 1995.

**Patel KP, Ciriello J, Kline RL.** Noradrenergic mechanisms in brain and peripheral organs after aortic nerve transection. *Am J Physiol* 240 (4): H481-H486, 1981.

**Paton JFR, Butcher JW.** Cardiorespiratory reflexes in mice. *J Auton Nerv Syst* 68 (1-2): 115–24, 1998.

**Pelat M, Dessy C, Massion P, Desager JP, Feron O, Balligand JL.** Rosuvastatin decreases caveolin-1 and improves nitric-oxide dependent heart rate and blood pressure variability in apolipoprotein E<sup>-/-</sup> mice in vivo. *Circulation* 107 (19): 2480-2486, 2003.

**Peotta VA, Vasquez EC, Meyrelles SS.** Cardiovascular neural reflexes in L-NAME induced hypertension in mice. *Hypertension* 38 (3 Pt. 2): 555–559, 2001.

**Perrot MH, Cohen RJ.** An efficient approach to ARMA modeling of biological systems with multiple inputs and delays. *IEEE Trans Biomed Eng* 43 (1): 1-14, 1996.

**Pitzalis MV, Mastropasqua F, Passantino A, Massari F, Ligurgo L, Forleo C, Balducci C, Lombardi F, Rizzon P.** Comparison between noninvasive indices of baroreceptor sensitivity and the phenylephrine method in postmyocardial infarction patients. *Circulation* 97 (14):1362–1367, 1998.

**Rimoldi O, Pierini S, Ferrari A, Cerutti S, Pagani M, Malliani A.** Analysis of short-term oscillations of R-R and arterial pressure in conscious dogs. *Am J Physiol* 258 (4 Pt. 2): H967-H976, 1990.

**Robbe HW, Mulder LJ, Rüddel H, Langewitz WA, Veldman JB, Mulder G.** Assessment of baroreceptor reflex sensitivity by means of spectral analysis. *Hypertension* 10 (5): 538–543, 1987.

**Roddie IC, Shepherd JT.** The effects of carotid artery compression in man with special reference to changes in vascular resistance in the limbs. *J Physiol* 139 (3):377–384, 1957.

**Rohrer DK, Schauble EH, Desai KH, Kobilka BK, Bernstein D.** Alterations in dynamic heart rate control in the  $\beta_1$ -adrenergic receptor knockout mouse. *Am J Physiol* 274 (4 Pt. 2): H1184-H1193, 1998.

**Saavedra JM, Krieger EM.** Early increase in adrenomedullary catecholamine syntheses in sinoaortic denervated rats. *J Auton Nerv Syst* 18 (2): 181 – 183, 1987.

**Salgado HC, Fazan Jr R, Salgado MCO, Dias da Silva VJ, Fazan VPS.** Bases fisiológicas da regulação neural da pressão arterial. In: Mion Jr. D, Oigman W and Nobre F. *Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial (MAPA)*. São Paulo: Atheneu, p. 49-64, 2004.

**Saul JP, Berger RD, Chen MH, Cohen RJ.** Transfer function analysis of autonomic regulation. II. Respiratory sinus arrhythmia. *Am J Physiol* 256 (1 Pt 2): H153-H161, 1989.

**Saul JP, Berger RD, Albrecht P, Stein SP, Chen MH, Cohen RJ.** Transfer function analysis of the circulation: unique insights into cardiovascular regulation. *Am J Physiol* 261 (4 Pt 2): H1231-H1245, 1991.

**Seiders EP, Stuesse SL.** A horseradish peroxidase investigation of carotid sinus nerve components in the rat. *Neurosci Lett* 46 (1): 13-18, 1984.

**Shan ZZ, Dai SM, Su DF.** Arterial baroreflex deficit induced organ damage in sinoaortic denervated rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 38 (3): 427-437, 2001.

**Shan ZZ, Dai SM, Feng F, Su DF.** Changes of Central Norepinephrine,  $\beta$ -Endorphin, LEU-Enkephalin, Peripheral Arginine-Vasopressin, and Angiotensin II Levels in Acute and Chronic Phases of Sino-Aortic Denervation in Rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 43 (2): 234-241, 2004.

**Smyth HS, Sleight P, Pickering GW.** Reflex regulation of arterial pressure during sleep in man: a quantitative method of assessing baroreflex sensitivity. *Circ Res* 24 (1):109–121, 1969.

**Somers VK, Abboud FM.** Baroreflexes in Health and Disease. In: *Vagal Control of the Heart: Experimental Basis and Clinical Implications*. Edited by MN Levy and PJ Schwartz, Futura Pub Co, Armonk, NY, p. 381-401, 1994.

**Stauss HM, Kregel KC.** Frequency response characteristic of sympathetic-mediated vasomotor waves in conscious rats. *Am J Physiol* 271 (4 Pt. 2): H1416–H1422, 1996.

**Stauss HM, Persson PB, Johnson AK, Kregel KC.** Frequency response characteristics of autonomic nervous system function in conscious rats. *Am J Physiol* 273 (2 Pt. 2): H786–H795, 1997.

**Stauss HM, Gödecke A, Mrowka R, Schrader J, Persson PB.** Enhanced Blood Pressure Variability in eNOS Knockout Mice. *Hypertension* 33 (6): 1359-1363, 1999.

**Stauss HM, Moffit JA, Chapleau MW, Abboud FM, Johnson AK.** Baroreceptor reflex sensitivity estimated by sequence technique is reliable in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291 (1): H482-H483, 2006.

**Tank J, Obst M, Diedrich A, Brychta RJ, Blumer KJ, Heusser K, Jordan J, Luft FC, Gross V.** Sympathetic nerve traffic and circulating norepinephrine levels in RGS2-deficient mice. *Auton Neurosci* 136 (1-2): 52-57, 2007.

**Task Force of The European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology: Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation and Clinical Use.** *Circulation* 93 (5): 1043-1065, 1996.

**Thorén P.** Role of cardiac vagal C-fibers in cardiovascular control. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 86: 1-94, 1979.

**Thrasher TN, Shifflett C.** Effect of carotid or aortic baroreceptor denervation on arterial pressure during hemorrhage in conscious dogs. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 280 (6): R1642-R1649, 2001.

**Trapani AJ, Barron KW, Brody MJ.** Analysis of hemodynamic variability after sinoaortic denervation in the conscious rat. *Am J Physiol* 251 (6 Pt. 2): R1163-R1169, 1986.

**Triedman JK, Perrott MH, Cohen RJ, Saul JP.** Respiratory sinus arrhythmia: time domain characterization using autoregressive moving average analysis. *Am J Physiol* 268 (6 Pt. 2): H2232-H2238, 1995.

**Trindade AS Jr, Krieger EM.** Long-term analysis of the hypertension produced by sinoaortic denervation in the rat. *Braz J Med Biol Res* 17 (2): 209-217, 1984.

**Tucker DC, Gist R.** Sympathetic innervation alters growth and intrinsic heart rate of fetal rat atria maturing in oculo. *Circ Res* 59 (5): 534-544, 1986.

**Uechi M, Asai K, Osaka M, Smith A, Sato N, Wagner TE, Ishikawa Y, Hayakawa H, Vatner DE, Shannon RP, Homcy CJ, Vatner SF.** Depressed heart rate variability and arterial baroreflex in conscious transgenic mice with overexpression of cardiac G<sub>s</sub>α. *Circ Res* 82 (4): 416-423, 1998.

**Vasquez EC, Krieger EM.** Decreased chronotropic responses to adrenergic stimulation following sinoaortic denervation in the rat. *Braz J Med Biol Res* 15 (6): 377-387, 1982.

**Vasquez EC.** Contribution of the cardiopulmonary reflex to the cardiovascular regulation in normal and pathophysiological states. *Braz J Med Biol Res* 27 (4): 1049-1064, 1994.

**Vasquez EC, Meyrelles SS, Mauad H, Cabral AM.** Neural reflex regulation of arterial pressure in pathophysiological conditions: interplay among the baroreflex, the cardiopulmonary reflexes and the chemoreflex. *Braz J Med Biol Res* 30 (4): 521-532, 1997.

**Vatner SF, Franklin D, Van Citters RL, Braunwald E.** Effects of carotid sinus nerve stimulation on blood flow distribution in conscious dogs at rest and during exercise. *Circ Res* 27 (4): 495-503, 1970.

**Wagner CD, Mrowka R, Nafz B, Persson PB.** Complexity and “chaos” in blood pressure after baroreceptor denervation of conscious dogs. *Am J Physiol* 269 (5 Pt. 2): H1760-H1766, 1995.

**Webb RL, Osborn JW, Cowley AW Jr.** Cardiovascular actions of vasopressin: baroreflex modulation in the conscious rat. *Am J Physiol* 251 (6 Pt. 2): H1244-H1251, 1986.

**Wickman K, Nemeč J, Gendler SJ, Clapham DE.** Abnormal heart rate regulation in GIRK4 knockout mice. *Neuron* 20 (1): 103-14, 1998.

**Zanchetti A, Mancia G.** Blood pressure and organ damage. *J Cardiovasc Pharmacol* 10 (6 Suppl): S111-S118, 1987.

**Zanchetti A, Mancia G.** Cardiovascular reflexes and hypertension. *Hypertension* 18 (5 Suppl): III13-III21, 1991.

**Zhang TX, Ciriello J.** Effect of paraventricular nucleus lesions on arterial pressure and heart rate after aortic baroreceptor denervation in the rat. *Brain Res* 341 (1): 101-109, 1985.

**Zhang W, Sakurai T, Fukuda Y, Kuwaki T.** Orexin neuron-mediated skeletal muscle vasodilation and shift of baroreflex during defense response in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290 (6): R1654–R1663, 2006.

*ARTIGO*

---

**Effect of baroreceptors denervation on autonomic control of arterial pressure and pulse interval in conscious mice.**

Fernanda Luciano Rodrigues, Mauro de Oliveira, Helio Cesar Salgado, Rubens Fazan Jr.

Department of Physiology, School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

Short Title: Cardiovascular variability and autonomic tone in baroreceptor denervated mice.

Correspondence:

Rubens Fazan Jr.

Department of Physiology

School of Medicine of Ribeirão Preto/USP

Av Bandeirantes 3900

14049-900, Ribeirão Preto, SP, Brazil

Phone: +55(16)36023331

Fax: +55(16)36330017

E-mail: rfazan@rfi.fmrp.usp.br

**ABSTRACT**

This study evaluated the role of arterial baroreceptors on arterial pressure (AP) and pulse interval (PI) regulation in mice. Male C57BL mice were submitted to sinoaortic (SAD), aortic (Ao-X) or carotid sinus (Ca-X) denervation, implanted with catheters into femoral artery and jugular vein and allowed to recover for 5 days. After basal recording of AP, mice received phenylephrine, to determine the efficacy of SAD, followed by cardiac autonomic receptor blockers methyl atropine or propranolol. AP and PI variability were evaluated in time domain (statistical approaches) and in frequency domain by spectral analysis (FFT) with the spectra quantified in low (LF: 0.25-1 Hz) and high frequency (HF: 1-5 Hz) bands. AP and AP variability were markedly higher after SAD, Ao-X or Ca-X, as compared to intact mice. PI was similar among groups, while PI variability was lower after SAD. Atropine did not change PI after total or partial denervation while elicited tachycardia in control mice. The bradycardia caused by propranolol was marked higher after SAD, Ao-X or Ca-X, as compared to intact mice. The increase in overall variability of AP was accompanied by a marked increase in LF and HF power of AP spectra after baroreceptor denervation. LF and HF power of PI spectra were reduced by SAD as well as by Ao-X and Ca-X. These findings showed that SAD, as well as partially denervated mice, were slightly hypertensive with remarkable increased of AP variability and cardiac sympathetic tone. Both sets of baroreceptors seem to be equally important in autonomic regulation of cardiovascular system in mice. Spectral analysis showed an important contribution of baroreflex in the power of LF oscillations of PI spectra.

**Key Words:** mice, baroreflex, sinoaortic denervation, autonomic tone, heart rate variability.



## INTRODUCTION

Arterial baroreceptors are sensory nerve endings located at carotid sinus and aortic arch providing essential feedback information to the central nervous system that leads to reflex circulatory adjustments to maintain arterial pressure (AP) within a narrow range [Sapru 1991].

The importance of the baroreflex can be demonstrated by the remarkable increase in AP variability after the surgical removal of the baroreceptors in rats [Norman et al. 1981, Alper et al. 1987], dogs [Cowley et al. 1980], cats [Di Rienzo et al. 1991], rabbits [Ramchandra et al. 2003] or mice [Fazan Jr et al. 2005]. Early studies showed that chronic sinoaortic denervation (SAD) leads to an increase in AP; the so called neurogenic hypertension [Krieger 1964, Ferrario et al. 1969, Trapani et al. 1986]. However, later reports shown that animals submitted to chronic SAD are normotensive [Norman et al. 1981, Webb et al. 1986]. It appears that baroreceptor denervated animals are more reactive to environmental stimuli [Buchholz et al. 1986, Nakata et al. 1991] and show exaggerated responses to cardiovascular challenges [Webb et al. 1986, Barron et al. 1989, Schreihofner and Sved 1992].

The relative contributions of aortic and carotid baroreceptors on AP regulation have been found different according to the animal model [Kumada et al. 1970, Edis 1971, Guo et al. 1982, Mauad et al. 1992, Ludbrook and Ventura 1996, Thrasher and Shifflett 2001]. Some investigators suggested that aortic baroreceptors are more effective in controlling reflex heart rate (HR) responses in conscious dogs [Vatner et al. 1970, Ito and Scher 1978, Ito and Scher 1979]. In contrast, Guo et al. [1982] have shown that carotid and aortic baroreceptors exert similar degrees of vagally mediated HR control in anesthetized rabbits.

AP spontaneously fluctuates at regular frequencies and the magnitude of which can be easily quantified by spectral analysis [Pagani et al. 1986, Stauss 2007]. It is well demonstrated that the ability of baroreflex to buffer AP variability changes, depending on the frequency of AP fluctuation [Cerutti et al. 1994, Mancina et al. 1999]. For instance, in several experimental species, SAD remarkably enhances spontaneous AP fluctuations that happen slower than 0.2 Hz, demonstrating a major importance of baroreflex in buffering slow oscillations of AP [Jacob et al. 1995, Mancina et al. 1999]. On the other hand, AP variability in the range of 0.2 to 1 Hz is found unaltered or even smaller in SAD animals [Jacob et al. 1995]. Finally, respiratory AP oscillations are unaltered or enhanced in SAD animals [Jacob et al. 1995, Mancina et al. 1999].

Nowadays the study of AP and pulse interval (PI) variability in either time or frequency domain (spectral analysis) is a valuable tool to investigate autonomic modulation to the cardiovascular system at clinical [Task Force 1996, Malliani et al. 1991] and experimental level [Cerutti et al. 1991]. Spectral analysis had shown distinct oscillatory

components of AP and PI variability: a high frequency component (HF), related to respiration and associated to cardiac vagal modulation, a low frequency component (LF), related to cardiac and vasomotor sympathetic modulation to the heart and blood vessels and a very low frequency component (VLF), related to humoral factors, termoregulation and others [Pagani et al. 1986, Malliani et al. 1991].

Recently, technological advances enabling genetic modifications of mice have led to an explosion in the use of this specie in studies of integrative physiology leading to a better understanding not only of physiological mechanisms but also the mechanisms involved in the pathophysiology of cardiovascular diseases. However, most knowledge obtained in others species like rat are not available in mice.

Several studies had shown similar oscillatory components of AP and HR variability in mice although, the absolute frequencies at which oscillations occur are different [Gerhmann et al. 2000, Janssen et al. 2000]. Despite the knowledge that spectral profile of cardiovascular oscillations in mice are similar to other species, baroreflex modulation of cardiovascular variability is poorly understood in this specie.

Therefore, the goal of the present study was to examine, in conscious mice, the role of arterial baroreflex on AP, HR and its autonomic regulation. To assess the role of baroreflex, we used mice subjected to SAD as well as to selective baroreceptor denervation, i.e. denervation of baroreceptors located in aortic arch or carotid sinus.

## **METHODS**

All experiments were carried out in male C57BL/6J ( $29 \pm 2$  g). The mice were housed individually with free access to tap water and standard chow and maintained on a 12-12 h light-dark cycle. At the end of the experiments, mice were killed with an intravenous overdose of sodium pentobarbital. The experimental protocols used in this study were reviewed and approved by the Committee of Ethics in Animal Research of the School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo (protocol # 077/2006).

### **Surgical Procedures**

Mice were anesthetized with a mixture of ketamine and xylazine (80  $\mu$ g/g and 10  $\mu$ g/g, respectively) given subcutaneously. SAD, as well as selective aortic or carotid baroreceptors denervation were performed as described by [Krieger, 1964] for rats and adapted to mice. Briefly, the animals were fixed in a supine position and an anterior cervical incision was made, exposing the neck muscles and the region of the bifurcation of the carotid arteries. The superior cervical ganglion and superior laryngeal nerves were visualized under a surgical microscope, isolated and removed. The procedure was completed by stripping the region of the bifurcation of the carotid arteries of all extraneous fibers and connective tissue.

After this procedure was completed bilaterally, the incision was sutured closed. Sham-operated mice underwent a similar surgical procedure that involved exposure of carotid bifurcation without damaging the innervations. Selective aortic baroreceptor denervation involved the removal of superior cervical ganglion and superior laryngeal nerves. Selective carotid baroreceptor denervation was made by stripping the region of carotid bifurcation. Completeness of SAD was evaluated by measuring the changes in AP and HR in response to ramp infusions of phenylephrine (PE: 1.0 mg/mL). Infusion rates (0.003 mL/min) were monitored such that blood pressure (BP) was increased 30 to 40 mmHg.

Immediately after SAD, selective denervation or sham surgery, arterial catheters made of Micro-Renathane tubing [0.64 mm outer diameter, 0.30 mm inner diameter, Braintree Scientific] were chronically implanted into the femoral artery for the measurement of AP. Polyethylene catheters [0.61 mm outer diameter, 0.28 mm inner diameter, Clay-Adams] were inserted in the right jugular vein for drugs administration. The free ends of these catheters were tunneled subcutaneously and exteriorized at the back of the neck.

### **Blood pressure and HR recordings**

Experiments were carried out in conscious, unrestrained mice in their own cages 4 to 5 days after surgery. On the day of the experiment, the arterial catheter was connected to a pressure transducer (model DPT-100; Deltran<sup>®</sup>, Utah Medical Products Inc, EUA), venous catheter was connected to drugs infusion line and the mice were allowed to rest for 30 to 45 min. Pulsatile AP was continuously sampled (4 kHz) using a IBM/PC equipped with an analogical to digital interface (DI 220; Dataq, Akron, OH). The files were stored, and the data were analyzed at a later time.

### **Experimental protocol**

After basal pulsatile AP was recorded for 30 min, sham operated (n=11), SAD (n=8), aortic (n=8) and carotid (n=6) baroreceptor denervated mice received methyl atropine (2 µg/g/5 µL, iv), followed by the injection of propranolol (4 µg/g/5 µL iv). Different groups of sham operated (n=8), SAD (n=8), aortic (n=6) and carotid (n=7) baroreceptor denervated mice received autonomic blockers in inverse sequence. PI shortening elicited by methyl atropine was used as an index of cardiac vagal tone, while PI lengthening elicited by propranolol was used as cardiac sympathetic tone. PI values after double autonomic blockade were used to estimate the intrinsic HR (IHR), i.e., the rate remaining after removal of adrenergic and cholinergic influences.

## Data analysis

Pulsatile AP recordings were analyzed by customized computer software that detects inflection points of a periodic wave. Beat by beat time series of systolic AP were generated. Time series of PI were also obtained by intervals between consecutive values of diastolic pressure. The time series were obtained for each period of experiment: baseline and after administration of methyl atropine or propranolol.

For baseline recording, time domain indices of AP and PI variability were calculated. Overall AP variability was determined by standard deviation of successive normal values (SDNN) of systolic AP. PI variability was determined by SDNN and the square root of the mean of the sum of the square of differences between adjacent PI (RMSSD) [Task force 1996].

AP and PI variability were also studied in the frequency domain by spectral analysis. Time series of systolic AP and PI were re-sampled to 10 Hz by cubic spline interpolation and divided into contiguous segments of 512 values, overlapped by 50%. After Hanning windowing, the spectrum of each segment of either systolic AP or PI series was calculated using fast Fourier transform (FFT) algorithm and integrated in two frequency bands: low (LF: 0.25 to 1 Hz) and high (HF: 1 to 5 Hz).

## Statistical analysis

Data are presented as mean  $\pm$  SEM. Baseline values of AP and PI were compared among groups using one-way ANOVA, followed by post hoc of Tukey. The same variables were compared before and after administration of methyl atropine or propranolol using paired Student's t-test. SDNN and RMSSD as well as LF and HF power of PI and systolic AP were compared among groups using ANOVA on Ranks followed by post hoc of Dunn. Statistical significance was accepted when  $P < 0.05$ .

## RESULTS

Figure 1 shows changes in AP induced by phenylephrine and respective reflex changes in heart rate in conscious mice. The reflex bradycardia in response to similar increases in AP was completely abolished by SAD. The reflex bradycardia in aortic or carotid denervated mice was similar to intact control mice.

Representative tracings of basal AP and PI, of intact and SAD mice are shown in figure 2. Table 1 shows group data of basal values, and variability indexes (time and frequency domain) of systolic AP and PI from intact, SAD, as well as partially denervated (aortic or carotid) mice.

Five days after denervation, systolic AP was found significantly higher in either SAD or aortic and carotid baroreceptor denervated mice, as compared with intact counterparts. Overall AP variability (SDNN) was markedly enhanced by SAD, as well as by aortic or carotid baroreceptor denervation. SAD, as well as aortic or carotid baroreceptor denervation led to a marked increase in the power of systolic AP spectra in both, LF and HF bands. Nevertheless, at LF range, this effect is much more pronounced.

SAD and aortic or carotid denervation did not change basal values of PI. In contrast, PI variability indexes (SDNN and RMSSD) were significantly reduced by SAD, but did not change after aortic or carotid baroreceptor denervation. Power of both LF and HF bands of PI spectra were found significantly lower in SAD, as compared to intact mice. Aortic or carotid baroreceptor denervation also reduced the power of LF and HF bands of PI spectra despite the differences were not statistically significant. Moreover, as seen in normalized units, LF is the predominant oscillatory component in the spectra of intact mice. Nevertheless, the opposite was found in SAD, aortic or carotid baroreceptor denervated mice (i.e. HF is higher than LF power of PI spectra). The ratio of the normalized spectral powers of the LF and HF components of PI variability (LF/HF) was markedly reduced by SAD, as well as by aortic or carotid baroreceptor denervation.

### **Cardiac sympathetic or parasympathetic receptor blockade**

Methyl atropine had no effect on mean AP in control ( $119 \pm 4$  to  $116 \pm 4$  mmHg) or SAD mice ( $134 \pm 3$  to  $126 \pm 5$  mmHg), as well as in aortic ( $147 \pm 3$  to  $142 \pm 4$  mmHg) or carotid ( $136 \pm 6$  to  $135 \pm 6$  mmHg) denervated mice. Similarly, propranolol also did not affect mean AP of control ( $117 \pm 2$  to  $118 \pm 2$  mmHg), SAD ( $134 \pm 7$  to  $133 \pm 8$  mmHg), aortic ( $141 \pm 4$  to  $152 \pm 3$  mmHg) or carotid ( $150 \pm 7$  to  $147 \pm 8$  mmHg) denervated mice. Figure 3 shows changes in PI after methyl atropine or propranolol. Blockade of parasympathetic control of HR with methyl atropine slightly but significantly shortened PI of control mice but had no effect on PI of SAD, aortic or carotid denervated mice. Blockade of sympathetic control of HR with propranolol lengthened PI to a greater extent in SAD, aortic or carotid baroreceptor denervated mice, as compared to intact control mice. PI after double autonomic blockade was markedly higher in SAD, aortic or carotid baroreceptor denervated mice, as compared to intact mice.

## **DISCUSSION**

Despite its well established that aortic and carotid baroreceptors have differential relative contribution in the control of AP, HR and peripheral vascular resistance [Vatner et al. 1970, Donald and Edis 1971, Abboud et al. 1979]. To our knowledge, this is the first study to examine the relative contribution of aortic and carotid baroreceptors on reflex HR responses

in conscious mice. The absence of either set of baroreceptors (i.e. located in aortic arch or carotid sinus) did not affect reflex bradycardia to phenylephrine-induced rise in AP. This finding differs from previous observations from other species like dogs [Vatner et al. 1970], rabbits [Guo et al. 1982] or humans [Abboud et al. 1979].

In this study, resting mean level of AP was found higher in SAD as compared to intact mice. Previous study from our laboratory [Fazan Jr et al. 2005] did not show any difference between resting levels of AP in SAD or intact mice. Nevertheless, that study was performed only 24 h after surgical procedures to denervated the mice. Just and co workers [2000] nicely demonstrated, by means of telemetric recordings of AP, that 24 after surgery, mice are not completely recovered and its AP, HR and autonomic balance needs days to return to pre-surgery levels. In other species, like rats [Cerutti et al. 1994] and dogs [Cowley et al. 1973], acute SAD does not lead to increase in resting AP. The approaches used for AP measurement, which cause different degrees of excitement; the extent of the denervation; the time after baroreceptor deafferentation can explain this difference. SAD eliminates the afferents from both baroreceptors and chemoreceptors of the carotid bifurcation area. So, the AP increase produced by SAD in mice should represent the combined effect of the lack of either inhibitory (baroreceptors) or excitatory (chemoreceptors) influences on the AP [Franchini and Krieger 1992]. In line with other studies not only in mice [Fazan Jr et al. 2005, Martinka et al. 2005] but also in other species HR was similar between SAD and intact mice.

Aortic or carotid baroreceptor denervation also increased AP in conscious mice. This finding are in line with other species like rats [Krieger 1964, Krieger 1970, Fink et al. 1981, Patel et al. 1981, Zhang and Ciriello 1985] that exhibited high levels of AP after selective aortic or carotid baroreceptor denervation. These results indicate that both sets of baroreceptors are equally important and that the presence of both sets is necessary to keep AP at normal levels. Selective aortic or carotid baroreceptor denervation did not change HR.

As compared to intact, overall AP variability was markedly higher in SAD mice. The importance of the baroreceptors reflex in buffering changes in AP is universally accepted and an increase in AP variability is a hallmark of SAD [Cowley Jr. et al. 1973, Trapani et al. 1986, Alper et al. 1987]. Aortic baroreceptor denervation also increased overall AP variability, while in carotid baroreceptor denervated mice only a trend of rise in AP variability was found. These findings suggest that both sets of baroreceptors are important in blunting AP variations. The increase in AP variability after selective aortic or carotid baroreceptor denervation was previously demonstrated in rats [Mauad et al. 1992].

Overall PI variability was significantly reduced by SAD. This finding is in line with previous studies in mice [Fazan Jr. et al. 2005]. However, aortic or carotid baroreceptor denervation did not change PI variability, suggesting that in absence of one set of baroreceptors, the remaining one is able to maintain PI variability.

The importance of the baroreflex in buffering AP variability is very well established. Nevertheless, studies in frequency domain showed that baroreceptors effectiveness may change depending on the frequency of the AP fluctuations [Di Rienzo et al. 1991, Cerutti et al. 1994, Jacob et al. 1995, Wagner et al. 1995, Mancía et al. 1999]. To assess the baroreflex influence on AP variability at different frequencies in mice, we quantified systolic AP and PI variability using spectral analysis, before and after SAD or selective aortic or carotid baroreceptor denervation.

In intact mice, AP and PI spectra showed a predominance of LF over HF power. This finding was previously demonstrated in mice [Uechi et al. 1998, Gehrman et al. 2000, Janssen et al. 2000, Just et al. 2000]. The effect of SAD was larger in LF as compared to HF power of PI spectra. The remarkable reduction of the LF power of PI spectra demonstrated the important contribution of the baroreflex in the power of slow oscillation of HR. In mice subjected to selective baroreceptors denervation LF power of PI spectra presented a trend to reduction. When examined in normalized units, as well as by LF/HF ratio, the reduction of LF caused by either SAD or partial denervation is clear. These findings suggest that both sets of baroreceptors are important to PI oscillations in LF band. However, selective denervation had a smaller effect in LF power of PI spectra, as compared to one observed in SAD mice. SAD also decreased HF power of PI spectra, suggesting that baroreflex is also important in modulate PI oscillations in HF band. The importance of baroreflex on HF power of PI variability has varied considerably among studies, with reports of increases [Cerutti et al. 1994], decreases [Di Rienzo et al. 1991] or to be unchanged [Fazan Jr et al. 2005] after SAD.

One might expect the engagement of baroreflex control of PI at LF would buffer LF oscillations in systolic AP, predicting that LF of systolic AP variability would increase after SAD. In fact, SAD significantly increased LF power of AP spectra. In previous studies in rats and cats, SAD paradoxically decreased LF power of AP spectra [Cerutti et al. 1994, Mancía et al. 1999]. It has been proposed that a resonance phenomenon in the arterial baroreflex loop may actually cause AP variability within the LF range [DeBoer et al. 1987, Di Rienzo et al. 1991, Cerutti et al. 1994, Bertram et al. 1998]. The failure to observe a decrease in LF power of AP spectra after SAD in the present study suggests that the resonance phenomenon may not be a major contributor to LF oscillations in AP in mice. Aortic or carotid baroreceptor denervation also increased LF power of AP variability, suggesting that both sets of baroreceptors are equally important in modulate AP oscillations in LF band.

We observed that SAD increased HF of systolic AP spectra in mice. HF of AP spectra has been reported to be increased in rats [Jacob et al. 1995] and unchanged in rats and cats [Di Rienzo et al. 1991, Cerutti et al. 1994, Mancía et al. 1999] after SAD. Selective denervation (i.e. aortic or carotid) also increased HF power of AP spectra. The finding of

increased systolic AP variability in mice suggests that the baroreflex normally buffers these HF fluctuations in AP. Nevertheless, sympathetic-mediated changes in vascular resistance generally occur too slow to modulate AP at such a high frequency. In rats, the maximum frequency of sympathetic-mediated oscillations in vascular resistance is approximately 1.0 Hz [Stauss and Kregel 1996, Stauss et al. 1997, Grisk and Stauss 2002]. The possibility that neurovascular transmission occurs much more rapidly in mice than in larger species has not been investigated to our knowledge.

The relative roles of the parasympathetic vs. sympathetic nervous systems in control of HR in conscious mice remain controversial. In our study, intact control mice showed that resting mean level of PI was slightly, but significantly, decreased by methyl atropine and marked increased by propranolol, indicating that both parasympathetic and sympathetic activity tonically modulate PI under the conditions of these experiments, with a sympathetic predominance.

The propranolol-induced increase in PI is comparable to that observed in previous studies in mice [Ishii et al. 1996, Mansier et al. 1996, Rohrer et al. 1998, Uechi et al. 1998, Gehrmann et al. 2000, Just et al. 2000]. In contrast to the consistent finding of cardiac sympathetic tone at rest, the contribution of vagal tone to resting HR has varied considerably among studies, with reports of minimal (<10 beats/min) [Gehrmann et al. 2000, Janssen et al. 2000, Just et al. 2000], moderate (20–60 beats/min) [Ishii et al. 1996] and substantial (>70 beats/min) [Rohrer et al. 1998, Uechi et al. 1998, Pelat et al. 2003] HR responses to atropine. The reasons for the variable HR responses to atropine are not clear but may involve differences in recording conditions, genetic background, and time post surgery, among other factors.

The increase in PI induced by propranolol was greater in SAD, as compared to intact mice, showing that SAD in mice leads to cardiac sympathetic overactivity. Like in SAD, aortic or carotid baroreceptor denervation increased PI responses to propranolol suggesting that aortic and carotid baroreceptors are equally important in sympathetic tone regulation in mice.

Sympathetic hyperactivity has been implicated as the major determinant of increased AP after SAD [Alexander et al. 1980, Saavedra and Krieger 1987, Franchini and Krieger 1994]. Some investigators have been shown that AP and sympathetic nerve activity are elevated after acute SAD but chronically, sympathetic activity progressively returns to normal levels [Barres et al. 1992, Irigoyen et al. 1995, Chandler and DiCarlo 1997]. We demonstrated that acute SAD, as well as aortic or carotid baroreceptor denervation causes hypertension and cardiac sympathetic overactivity. The sympathetic overactivity can explain the high levels of AP observed 5 days after either SAD or selective baroreceptor denervation. Nevertheless, the chronic effects of SAD were not evaluated in the present study.



SAD and selective baroreceptor denervation completely eliminated the effects of methyl atropine at mean PI. These findings are consistent with the hypothesis that SAD, as well as aortic or carotid baroreceptor denervated mice present an autonomic imbalance with sympathetic predominance. The mean IP after methyl atropine in aortic or carotid baroreceptor denervated mice was similar to intact mice, suggesting that aortic and carotid baroreceptors are equally important in the control of parasympathetic tone in conscious mice.

One might expect that the decrease in parasympathetic tone and increase in sympathetic tone after SAD or selective baroreceptor denervation would translate into an elevated baseline HR. To the contrary, PI was not significantly different in control and SAD mice, as well as in aortic or carotid baroreceptor denervated mice, suggesting that SAD or selective baroreceptor denervation decreases the intrinsic HR in mice. In fact, we showed that PI after double autonomic blockade was higher in SAD, as well as aortic or carotid baroreceptor denervated mice, as compared to intact mice, showing that SAD or selective baroreceptor denervation decreases the intrinsic HR in mice. Previous observations have shown that SAD significantly decreases the intrinsic HR in rats [Vasquez and Krieger 1982, Machado and Brody 1989]. Some investigators suggest that the decrease in intrinsic HR is determined by continuous sympathetic stimulation to the heart [Tucker and Gist 1986, Machado and Brody 1989], once SAD is a sympathetic overactivity animal model.

The present study showed that SAD, as well as partially denervated mice, were slightly hypertensive with remarkable increased of AP variability and cardiac sympathetic tone. Both sets of baroreceptors seem to be along important in autonomic regulation of cardiovascular system in mice. Spectral analysis showed an important contribution of baroreflex in the power of LF oscillations of PI spectra.

## REFERENCES

- Abboud FM, Eckberg DL, Johannsen UF, Mark AL.** Carotid and cardiopulmonary baroreceptor control of splanchnic and forearm vascular resistance during venous pooling in man. *J Physiol* 286: 173-184, 1979.
- Alexander N, Velasquez M, Decuir M, Maronde RF.** Indices of sympathetic activity in the sinoaortic-denervated hypertensive rat. *Am J Physiol* 238 (4): H521-H526, 1980.
- Alper RH, Jacob HJ, Brody MJ.** Central and peripheral mechanisms of arterial pressure lability following baroreceptor denervation. *Can J Physiol Pharmacol* 65 (8): 1615-1618, 1987.
- Barres C, Lewis SJ, Jacob HJ, Brody MJ.** Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. *Am J Physiol* 263 (3 Pt. 2): R639-R646, 1992.
- Barron KW, Trapani AJ, Gordon FJ, Brody MJ.** Baroreceptor denervation profoundly enhances cardiovascular responses to central angiotensin II. *Am J Physiol* 257 (26): H314-H323, 1989.
- Bertram D, Barres C, Cuisinaud G, Julien C.** The arterial baroreceptor reflex of the rat exhibits positive feedback properties at the frequency of Mayer waves. *J Physiol* 513 (Pt. 1): 251-261, 1998.
- Buchholz RA, Hubbard JW, Keeton TK, Nathan MA.** Cardiovascular and neuroendocrine responses to behavioral stress after central or peripheral barodenervation in rats. *Brain Res* 362: 360-364, 1986.
- Cerutti C, Gustin MP, Paultre CZ, et al.** Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach. *Am J Physiol* 261 (4 Pt. 2): H1292-H1299, 1991.
- Cerutti C, Barres C, Paultre C.** Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats: assessment by spectral analysis. *Am J Physiol* 266 (5 Pt. 2): H1993-H2000, 1994.
- Chandler MP, DiCarlo SE.** Sinoaortic denervation prevents postexercise reductions in arterial pressure and cardiac sympathetic tonus. *Am J Physiol* 273 (6 Pt. 2): H2738-H2745, 1997.
- Cowley AW Jr., Liard JF, Guyton AC.** Role of baroreceptor reflex in daily control of arterial pressure and other variables in dogs. *Circ Res* 32 (5): 564-576, 1973.

**Cowley AW Jr, Quillen EW, Barber BJ.** Further evidence for lack of baroreceptor control of long-term level of arterial pressure. In: *Arterial Baroreceptors and Hypertension*, edited by P. Sleight. London: Oxford Univ Press, p. 391-399, 1980.

**deBoer RW, Karemaker JM, Strackee J.** Hemodynamic fluctuations and baroreflex sensitivity in humans: a beat-to-beat model. *Am J Physiol* 253 (3 Pt. 2): H680-H689, 1987.

**Di Rienzo M, Parati G, Castiglioni P, Omboni S, Ferrari AU, Ramirez AJ, Pedotti A, Mancina G.** Role of sinoaortic afferents in modulating BP and pulse-interval spectral characteristics in unanesthetized cats. *Am J Physiol* 261(6 Pt. 2): H1811-H1818, 1991.

**Donald DE, Edis AJ.** Comparison of aortic and carotid baroreflexes in the dogs. *J Physiol* 215 (2): 521-538, 1971.

**Edis AJ.** Aortic baroreflex function in the dog. *Am J Physiol* 221 (5): 1352-1357, 1971.

**Fazan Jr. R, de Oliveira M, Dias da Silva VJ, Joaquim LF, Montano N, Porta A, Chapleau MW, Salgado HC.** Frequency-dependent baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variability in conscious mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289 (5): H1968-H1975, 2005.

**Ferrario CM, McCubbin JW, Page IH.** Hemodynamic characteristics of chronic experimental neurogenic hypertension in unanesthetized dogs. *Circ Res* 24 (6): 911-922, 1969.

**Fink GD, Bryan WJ, Mann M, Osborn J, Werber A.** Continuous blood pressure measurement in rats with aortic baroreceptor deafferentation. *Am J Physiol* 241 (2): H268-H272, 1981.

**Franchini KG, Krieger EM.** Carotid chemoreceptors influence arterial pressure in intact and aortic-denervated rats. *Am J Physiol* 262 (4 Pt. 2): R677-R683, 1992.

**Franchini KG, Krieger EM.** Neurogenic hypertension in the rat. In: Ganten D & de Jong W (editors), *Handbook of Hypertension, Experimental and Genetic Models of Hypertension*. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands: 482 – 500, 1994.

**Gehrmann J, Hammer PE, Maguire CT, Wakimoto H, Triedman JK, Berul CI.** Phenotypic screening for heart rate variability in the mouse. *Am J Physiol* 279 (2): H733-H740, 2000.

**Grisk O, Stauss HM.** Frequency modulation of mesenteric and renal vascular resistance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 282 (5): R1468–R1476, 2002.

**Guo GB, Thames MD, Abboud FM.** Differential baroreflex control of heart rate and vascular resistance in rabbits. Relative role of carotid, aortic and cardiopulmonary baroreceptors. *Circ Res* 50 (4): 554-565, 1982.

- Irigoyen MC, Moreira ED, Ida F, Pires M, Cestari IA, Krieger EM.** Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 26 (6 Pt. 2): 1111-1116, 1995.
- Ishii K, Kuwahara M, Tsubone H, Sugano S.** Autonomic nervous function in mice and voles (*Microtus arvalis*): investigation by power spectral analysis of heart rate variability. *Lab Anim Sci* 30: 359-364, 1996.
- Ito CS, Scher AM.** Regulation of arterial blood pressure by aortic baroreceptors in the unanesthetized dog. *Circ Res* 42 (2): 230-236, 1978.
- Ito CS, Scher AM.** Hypertension following denervation of aortic baroreceptors in unanesthetized dogs. *Circ Res* 45 (1): 26-43, 1979.
- Jacob HJ, Ramanathan A, Pan Sg, Brody MJ, Myers GA.** Spectral analysis of arterial pressure lability in rats with sinoaortic deafferentation. *Am J Physiol* 269 (6 pt 2): R1481-R1488, 1995.
- Janssen BJA, Leenders PJA, Smits JFM.** Short-term and long-term blood pressure and heart rate variability in the mouse. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 278 (1): R215-R225, 2000.
- Just A, Faulhaber J, Ehmke H.** Autonomic cardiovascular control in conscious mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279 (6): R2214-R2221, 2000.
- Krieger EM.** Neurogenic hypertension in the rat. *Circ Res* 15: 511-521, 1964.
- Krieger EM.** The acute phase of neurogenic hypertension in the rat. *Experientia* 26 (6): 628-629, 1970.
- Kumada M, Schimidt RM, Sagawa K, Tan KS.** Carotid sinus reflex in response to hemorrhage. *Am J Physiol* 219 (5): 1373-1379, 1970.
- Ludbrook J, Ventura S.** Roles of carotid baroreceptor and cardiac afferents in hemodynamic responses to acute central hypovolemia. *Am J Physiol* 270 (5 Pt. 2): H1538-H1548, 1996.
- Machado BH, Brody MJ.** Contribution of neurogenic mechanisms to control of intrinsic heart rate. *Am J Physiol* 256 (1 Pt. 2):R231-R235, 1989.
- Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S.** Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 84 (2): 482-492, 1991.
- Mancia G, Parati G, Castiglioni P, Di Rienzo M.** Effect of sinoaortic denervation on frequency-domain estimates of baroreflex sensitivity in conscious cats. *Am J Physiol* 276 (6 Pt. 2): H1987-H1993, 1999.

**Mansier P, Medigue C, Charlotte N, Vermeiren C, Coraboeuf E, Deroubai E, Ratner E, Chevalier B, Clairambault J, Carre F, Dahkli T, Bertin B, Briand P, Strosberg D, Swynghedauw B.** Decreased heart rate variability in transgenic mice overexpressing atrial  $\beta_1$ -adrenoreceptors. *Am J Physiol* 271 (4 Pt. 2) : H1465-H1472, 1996.

**Martinka P, Fielitz J, Patzak A, Regitz-Zangrosek V, Persson PB, Stauss HM.** Mechanisms of blood pressure variability-induced cardiac hypertrophy and dysfunction in mice with impaired baroreflex. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288 (3): R767-R776, 2005.

**Mauad H, Glass ML, Machado BH.** Effect of selective denervation of baroreceptors on pulmonary ventilation and arterial pressure lability in rat. *Hypertension Suppl* 19 (2 Suppl): II-182-II186, 1992.

**Nakata T, Bernard W, Kogosov E, Alexander N.** Effect of environmental stress on release of norepinephrine in posterior nucleus of the hypothalamus in awake rats: role of sinoaortic nerves. *Life Sci.* 48: 2021-2026, 1991.

**Norman RA, Jr., Coleman TG, Dent AC.** Continuous monitoring of arterial pressure indicates sinoaortic denervated rats are not hypertensive. *Hypertension Dallas* 3 (1): 119-125, 1981.

**Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandroni G, Maffato 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* 59 (2):178-193, 1986.

**Patel KP, Ciriello J, Kline RL.** Noradrenergic mechanisms in brain and peripheral organs after aortic nerve transection. *Am J Physiol* 240 (4): H481-H486, 1981.

**Pelat M, Dessy C, Massion P, Desager JP, Feron O, Balligand JL.** Rosuvastatin decreases caveolin-1 and improves nitric-oxide dependent heart rate and blood pressure variability in apolipoprotein E<sup>-/-</sup> mice in vivo. *Circulation* 107 (19): 2480-2486, 2003.

**Ramchandra R, Barrett CJ, Malpas SC.** Chronic blockade of nitric oxide does not produce hypertension in baroreceptor denervated rabbits. *Hypertension* 42 (5): 974-977, 2003.

**Rohrer DK, Schauble EH, Desai KH, Kobilka BK, Bernstein D.** Alterations in dynamic heart rate control in the  $\beta_1$ -adrenergic receptor knockout mouse. *Am J Physiol* 274 (4 Pt. 2): H1184-H1193, 1998.

**Saavedra JM, Krieger EM.** Early increase in adrenomedullary catecholamine syntheses in sinoaortic denervated rats. *J Auton Nerv Syst* 18 (2): 181 – 183, 1987.

**Sapru HN.** Baroreceptor reflex components and their alteration in hypertension. In: Zucker IH and Gilmore JP. *Reflex control of circulation*. Florida: CRC Press, p.195-214, 1991.

**Schreihofe AM, Sved AF.** Nucleus tractus solitarius and control of blood pressure in chronic sinoaortic denervated rats. *Am J Physiol* 263: R258-R266, 1992.

**Stauss HM, Kregel KC.** Frequency response characteristic of sympathetic-mediated vasomotor waves in conscious rats. *Am J Physiol* 271 (4 Pt. 2): H1416–H1422, 1996.

**Stauss HM, Persson PB, Johnson AK, Kregel KC.** Frequency response characteristics of autonomic nervous system function in conscious rats. *Am J Physiol* 273 (2 Pt. 2): H786–H795, 1997.

**Stauss HM.** Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 34 (4): 362-368, 2007.

**Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology: Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation and Clinical Use.** *Circulation* 93 (5): 1043-1065, 1996.

**Thrasher TN, Shifflett C.** Effect of carotid or aortic baroreceptor denervation on arterial pressure during hemorrhage in conscious dogs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280 (6): R1642-R1649, 2001.

**Trapani AJ, Barron KW, Brody MJ.** Analysis of hemodynamic variability after sinoaortic denervation in the conscious rat. *Am J Physiol* 251 (6 Pt. 2): R1163-R1169, 1986.

**Tucker DC, Gist R.** Sympathetic innervation alters growth and intrinsic heart rate of fetal rat atria maturing in oculo. *Circ Res* 59 (5): 534-544, 1986.

**Uechi M, Asai K, Osaka M, Smith A, Sato N, Wagner TE, Ishikawa Y, Hayakawa H, Vatner DE, Shannon RP, Homcy CJ, Vatner SF.** Depressed heart rate variability and arterial baroreflex in conscious transgenic mice with overexpression of cardiac G $\alpha$ . *Circ Res* 82 (4): 416-423, 1998.

**Vasquez EC, Krieger EM.** Decreased chronotropic responses to adrenergic stimulation following sinoaortic denervation in the rat. *Braz J Med Biol Res* 15 (6): 377-387, 1982.

**Vatner SF, Franklin D, Van Citters RL, Braunwald E.** Effects of carotid sinus nerve stimulation on blood flow distribution in conscious dogs at rest and during exercise. *Circ Res* 27 (4): 495-503, 1970.

**Wagner CD, Mrowka R, Nafz B, Persson PB.** Complexity and “chaos” in blood pressure after baroreceptor denervation of conscious dogs. *Am J Physiol* 269 (5 Pt. 2): H1760-H1766, 1995.

**Webb RL, Osborn JW, Cowley Jr. AW.** Cardiovascular actions of vasopressin: baroreflex modulation in the conscious rat. *Am J Physiol* 251 (6 Pt. 2): H1244-H1251, 1986.

**Zhang TX, Ciriello J.** Effect of paraventricular nucleus lesions on arterial pressure and heart rate after aortic baroreceptor denervation in the rat. *Brain Res.* 341 (1): 101-109, 1985.

**Figure 1:** *Upper panel:* representative recordings of arterial pressure and heart rate illustrating the effectiveness of surgical sinoaortic denervation (SAD) in conscious mice. *Lower panel:* group data of change in mean arterial pressure elicited by phenylephrine and reflex changes in heart rate in intact, SAD, aortic (Ao-X) and carotid (Ca-X) baroreceptor denervated mice. \*  $p < 0.05$  compared with intact control mice.

**Figure 2:** Representative recordings of basal arterial pressure and beat by beat pulse interval from one intact and one sinoaortic denervated mice.

**Figure 3:** *Upper panel:* pulse interval changes elicited by methyl atropine (vagal tone) and propranolol (sympathetic tone) of intact, sinoaortic (SAD), aortic arch (Ao-X) and carotid sinus-denervated (Ca-X) mice. *Lower panel:* Pulse interval values after blockade of cardiac autonomic receptors from intact, SAD, Ao-X and Ca-X mice. \*  $p < 0.05$  compared with intact control mice.



**Table 1:** Group data of basal systolic arterial pressure and pulse interval as well as its respective indexes of variability in time and frequency domain in sham operated, sino-aortic, aortic and carotid denervated mice.

	Intact	SAD	Ao-X	Ca-X
<b>Systolic Arterial Pressure</b>				
Mean (mmHg)	135 ± 2.0	149 ± 3.0*	170 ± 3.0*†	168 ± 4.0*†
SDNN (mmHg)	6.5 ± 0.4	10.1 ± 0.5*	8.9 ± 0.6*	7.8 ± 0.5 †
LF (mmHg <sup>2</sup> )	5.5 ± 0.5	12.7 ± 1.7*	10.5 ± 1.6*	11.3 ± 1.8*
HF (mmHg <sup>2</sup> )	2.5 ± 0.4	5.3 ± 1.0*	5.7 ± 0.9*	5.1 ± 0.6*
<b>Pulse Interval</b>				
Mean (ms)	105 ± 2.0	106 ± 3.0	98 ± 2.0	106 ± 4.0
SDNN (ms)	9.3 ± 1.0	6.5 ± 0.8*	7.5 ± 0.9	9.8 ± 1.5 †
RMSSD (ms)	2.7 ± 0.3	2.0 ± 0.2*	2.6 ± 0.2	2.9 ± 0.6 †
LF (ms <sup>2</sup> )	9.5 ± 2.0	2.0 ± 0.8*	6.2 ± 1.9 †	3.6 ± 1.3
HF (ms <sup>2</sup> )	5.4 ± 1.4	2.4 ± 0.5*	4.1 ± 0.9 †	3.7 ± 1.7
LF (nu)	59 ± 2.9	31 ± 4.2*	43 ± 6.0*	44 ± 6.0*
HF (nu)	41 ± 2.9	69 ± 4.2*	57 ± 6.0*	56 ± 6.0*
LF/HF	1.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1*	1.1 ± 0.2*†	1.0 ± 0.2*†

Values are means ± SE. SDNN = standard deviation of successive normal values, LF = low frequency; HF = high frequency, RMSSD = square root of the mean of the sum of the square of differences between adjacent pulse interval, nu = normalized units, Ao-X = aortic denervated, Ca-X = carotid sinus denervated. \* p< 0.05 compared with intact control mice. † p<0.05 compared with SAD mice.

**Figure 1**

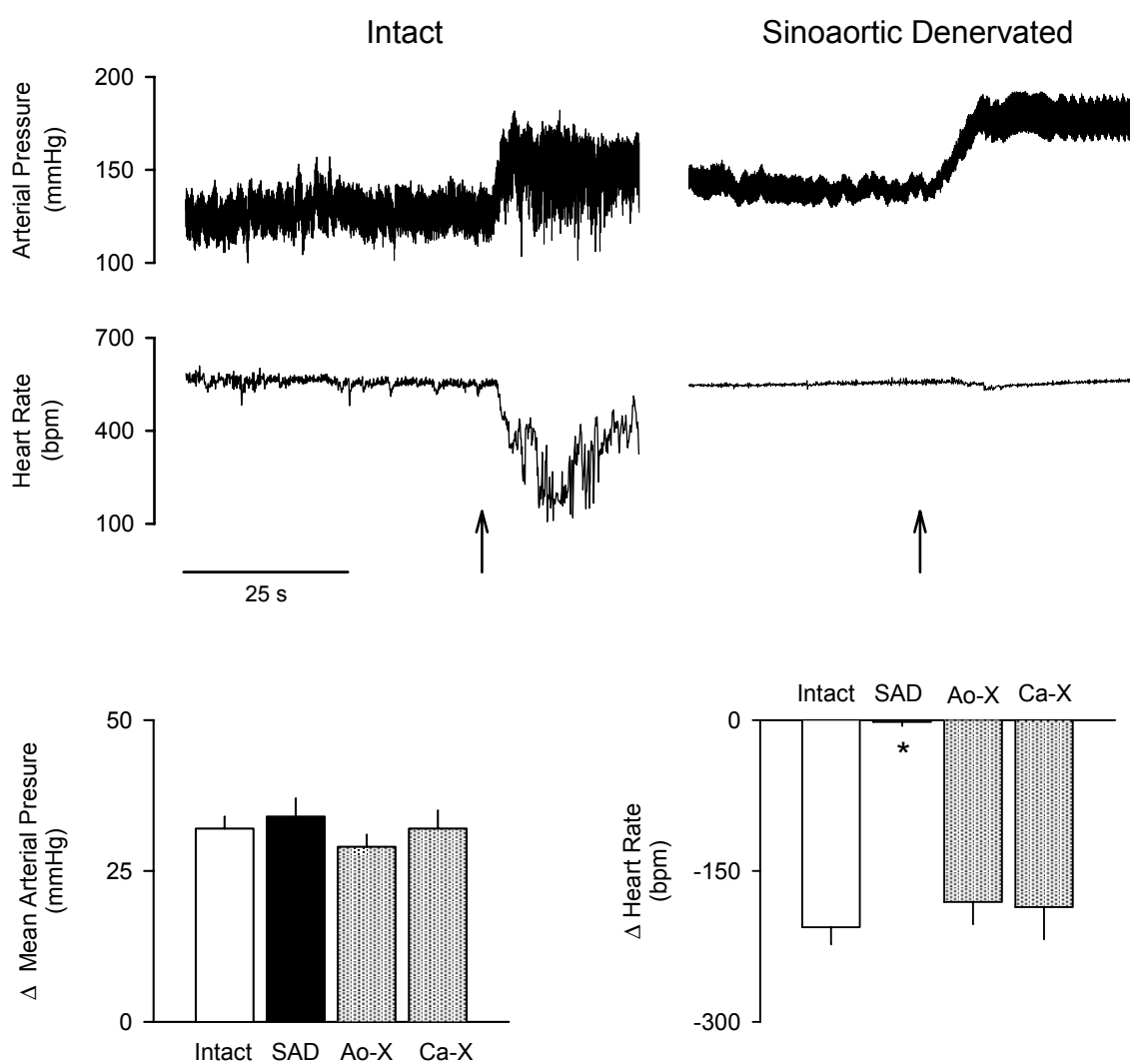


Figure 2

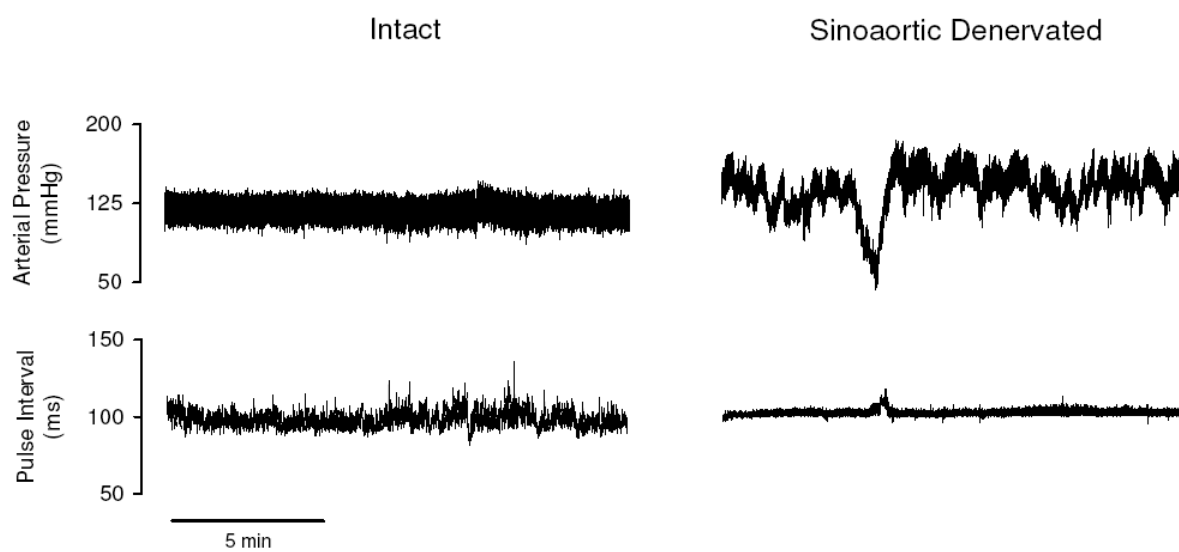
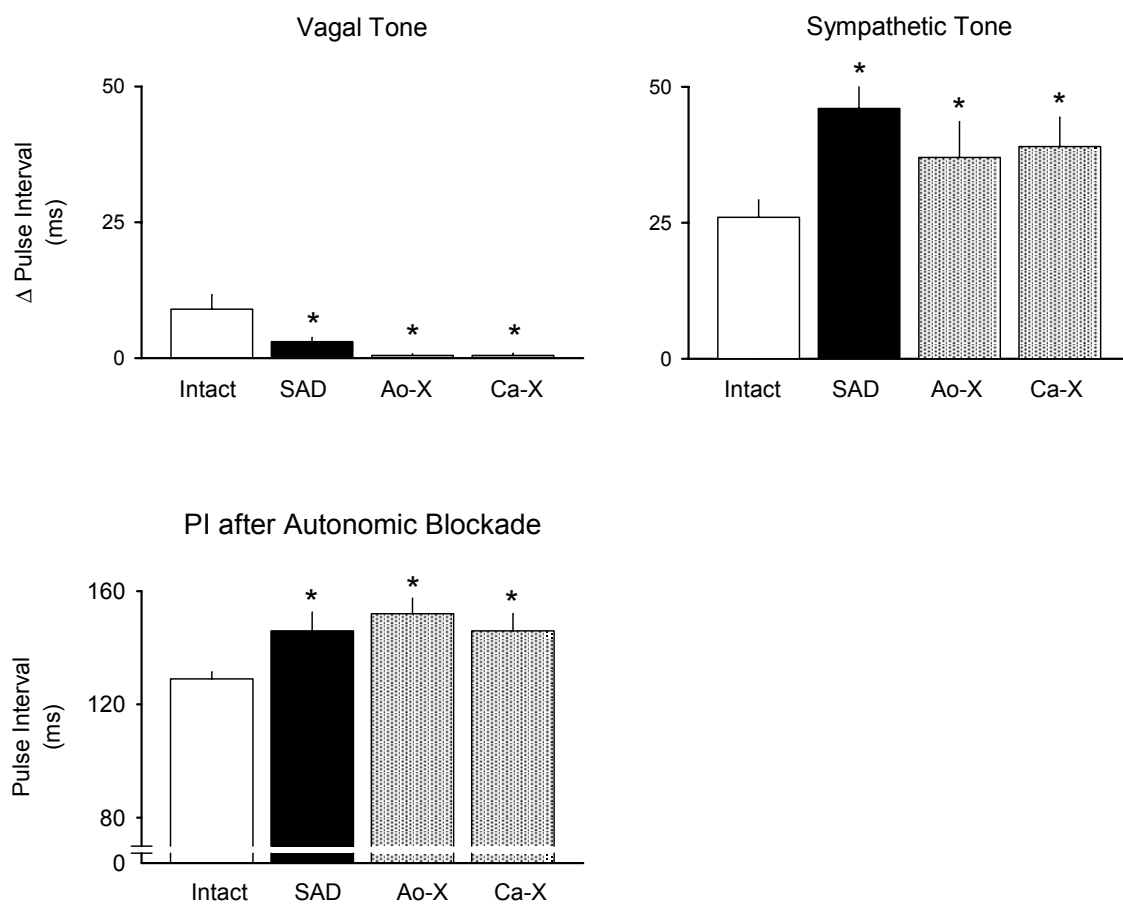


Figure 3



# 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](#)