

UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

ÊNIO RODRIGUES VASQUES

**ANÁLISE ELETROCARDIOGRÁFICA *IN VITRO* PARA
INTERPRETAÇÃO DE ARRITMIAS
FARMACOLOGICAMENTE INDUZIDAS**

**Mogi das Cruzes-SP
2010**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

ÊNIO RODRIGUES VASQUES

**ANÁLISE ELETROCARDIOGRÁFICA *IN VITRO* PARA
INTERPRETAÇÃO DE ARRITMIAS
FARMACOLOGICAMENTE INDUZIDAS**

Tese de Doutorado apresentada à Comissão de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade de Mogi das Cruzes, para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

**Mogi das Cruzes-SP
2010**

FINANCIAMENTO



FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Vasques, Ênio Rodrigues

Análise eletrocardiográfica *in vitro* para interpretação de arritmias farmacologicamente induzidas / Ênio Rodrigues Vasques. – 2010.

97 f.

Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) - Universidade de Mogi das Cruzes, 2010

Área de concentração: Bioengenharia

Orientador: Profº Drº Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

1. Arritmia ventricular 2. Arritmogênese 3. Intervalo QT 4. Tp-Te 5. Langerdorff I. Godoy, Marcelo Gurjão de

CDD 619.93

ADENDO

ADENDO À ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE APRESENTAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA DA UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

Aos trinta dias do mês de julho de dois mil e dez, na Universidade de Mogi das Cruzes, realizou-se a defesa de tese do candidato Ênio Rodrigues Vasques para obtenção do grau de Doutor.

Em adendo, informo que a banca sugeriu alteração no título da tese, que foi acatada. Portanto o título correto é **“Análise eletrocardiográfica *in vitro* para interpretação de arritmias farmacologicamente induzidas”**.

Mogi das Cruzes, 30 de julho de 2010.



Profª Drª Annie France Frère Slaets
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

**DEFESA DE TESE DO DOUTORADO
 EM ENGENHARIA BIOMÉDICA**

No dia 30/07/10 o candidato *Énio Rodrigues Vasques*, após realizar os créditos exigidos, ser aprovada no exame de Proficiência em Inglês, e no exame de Qualificação, apresentou o trabalho "Análise eletrocardiográfica *in vitro* para apoio à compreensão de arritmias ventriculares e de testes farmacológicos" para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Os membros da banca consideram o candidato:

Dr. Tiago Rodrigues
 Dr. Luciano Allegretti Mercadante
 Dr. Roberto Lago
 Dr. Henrique Jesus Quintino de Oliveira
 Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

Conceito

Aprovado


Aprovado

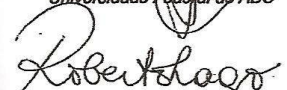
Aprovado

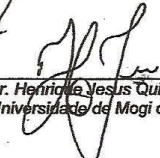
Aprovado

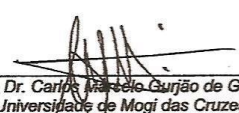
Aprovado


 Prof. Dr. Tiago Rodrigues
 Universidade Federal do ABC


 Prof. Dr. Luciano Allegretti Mercadante
 Universidade Estadual de Campinas


 Prof. Dr. Roberto Lago
 Universidade de Mogi das Cruzes


 Prof. Dr. Henrique Jesus Quintino de Oliveira
 Universidade de Mogi das Cruzes


 Prof. Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy
 Universidade de Mogi das Cruzes

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha esposa Jin, que lutou sempre ao meu lado em todos os momentos com ternura e compreensão... Aos meus filhos André e Bruna, pela compreensão de todas as horas ausentes e pelo carinho e energia nos momentos mais críticos desta pequena batalha... Aos meus pais, Enir e Marili, que construíram as bases para minha existência...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr Carlos Marcelo Gurjão de Godoy, orientador deste trabalho, pela dedicação, paciência e competência diante de todos os desafios enfrentados, com orientação amigável e segura.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, Prof^ª. Dr^ª. Annie France Frère Slaets, pela dedicação e entusiasmo com seus alunos.

À todos os colegas de Mestrado e Doutorado, pelas trocas de informações e companheirismo, com abraços especiais ao José Gustavo Padrão Tavares, Beatriz Jordão ,João Effiting Jr., Pedro Braga e Marília Pissato Ferreira.

Aos meus orientadores eternos, Prof^ª. Dr^ª. Yara Maria Lucisano e Prof. Dr. Bernardo Mantovani, que semearam a vontade de ser pesquisador.

À minha querida Família, minha esposa Jin Vasques, meu filho André, minha filha Bruna, meus pais Enir e Marili, que dedicaram parte de suas vidas para a concretização do meu sonho e são meu estímulo para a continuidade e procura de novos desafios .

Obrigado a todos!

Ênio Rodrigues Vasques

RESUMO

Introdução: A ativação elétrica do coração, conhecida com potencial de ação (PA) cardíaco, pode ser afetada farmacologicamente de maneira característica, levando a alterações mensuráveis e importantes no eletrocardiograma (ECG), como aumento no intervalo QT e arritmias. Em vista disso, propusemos nesta tese de doutorado avaliar, em corações isolados de rato (montagem de Langendorff), o efeito das fenotiazinas em condições que mimetizam normocalemia, hipercalemia e hipocalemia sobre intervalos eletrocardiográficos. Buscamos com isso indícios dos mecanismos arritmogênicos envolvidos, uma vez que estas condições afetam o PA cardíaco de maneira previsível teórica e experimentalmente. **Metodologia:** A fenotiazina utilizada, após experimentos exploratórios, foi a tioridazina 20 μM , em decorrência do seu comportamento em termos de velocidade do surgimento das alterações eletrocardiográficas e arritmias desencadeadas. Corações foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit com concentração normal de potássio, hipercalêmica e hipocalêmica, por 40 minutos e, a seguir, adicionado tioridazina na solução, para análise do comportamento eletrocardiográfico. O eletrocardiograma (ECG) foi adquirido na derivação D2, para análise de todos os parâmetros eletrocardiográficos, com ênfase em dois intervalos: O intervalo QT-QRS, que propusemos nesta tese como um parâmetro a ser incorporado aos demais parâmetros para detecção de arritmogênese, e o segundo intervalo, denominado Tp-Te, conhecido na literatura pela sua utilização para caracterizar arritmogenicidade em testes farmacológicos. **Resultados:** Nas situações de normocalemia e hipocalemia com tioridazina tivemos um aumento dos intervalos QT-QRS e Tp-Te em relação ao grupo controle, indicando um aumento no tempo de repolarização ventricular provocado pela tioridazina e potencialização deste aumento na presença de hipocalemia. **Conclusões:** O aumento do intervalo QT-QRS e Tp-Te na presença de tioridazina, e de tioridazina com hipocalemia, indica que o fenômeno arritmogênico envolvido nos experimentos é gerado por mecanismo de “atividade deflagrada” no PA cardíaco (não por reentrância). A análise conjunta destes parâmetros pode contribuir para diagnóstico diferencial dos mecanismos de arritmia e indicar potencial arritmogênico de fármacos, constituindo ferramenta para avaliação de arritmogenicidade.

Palavras chave: Arritmia cardíaca, fenotiazinas, Tp-Te, arritmogenicidade, Preparação de Langendorff,

ABSTRACT

Introduction: The electrical activity of the heart, called heart action potential, can be affected in a characteristic way, leading to significant changes in the action potential that can be measured in electrocardiographic (ECG) traces. Taking into account these changes, we proposed in this thesis to evaluate in isolated hearts from Wistar rats (Langendorff Assembly), the effect of phenothiazine (thioridazine) in the following conditions: normokalemia, hypokalemia and hyperkalemia at electrocardiographic intervals. We searched for evidence of arrhythmogenic mechanisms since it is expected that these conditions lead to variances in heart action potential, theoretically an experimentally. **Material and Methods:** After exploratory experiments, we used thioridazine 20 μ M, due to the velocity of electrocardiography changes and triggered arrhythmias. Hearts were perfused with Krebs-Henseleit solution normokalemic, hypokalemic and hyperkalemic during 40 minutes. Then, each solution was supplemented with thioridazine and the ECG was analysed. The ECG was acquired in D2 derivation, in order to analyse all ECG parameters, with emphasis in the following intervals: The QT – QRS interval, which we proposed in this thesis like a new ECG parameter, besides other parameters, to evaluate the possibility of arrhythmias and T peak – Tend, which is commonly used in screening tests to detect drugs that can cause arrhythmias. **Results:** In the normokalemia and Hypokalemia groups, both with thioridazine, there was an increase of QT – QRS and Tpeak – Tend intervals, when compared with the control group, which also means an increase in the ventricular repolarization and dispersion time, caused by thioridazine and potentized by hypokalemia. **Conclusions:** The results showed a raise in QT - QRS and Tpeak – Tend intervals, explained by the elevation of repolarization time and dispersion, and the arrhythmogenic phenomenon occurred because of the mechanism called triggered activity (not reentrancy). The combined analysis of all researched parameters can contribute to differentiate the arrhythmias mechanisms (triggered activity and reentrancy), and indicate the arrhythmogenic potency of drugs or clinical situations, establishing a diagnostic tool for arrhythmogenicity.

Key words: arrhythmias, triggered activity, reentrancy, thioridazine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: Representação esquemática sem escalas do Potencial de Ação, nas suas fases 0, 1, 2, 3 e 4 e respectivos canais iônicos.
Fonte: Tratado de Cardiologia da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo (2005).
- Figura 2: Representação esquemática dos intervalos eletrocardiográficos.
Fonte: Modificado de Braunwald, Tratado de Cardiologia (2010).
- Figura 3: Esquematização dos mecanismos de reentrada: (A): impulso bloqueado, sendo conduzido por outra via, caracterizando bloqueio unidirecional. Se esta área com bloqueio estiver recuperando sua excitabilidade (B), o impulso retornará à origem, sendo então novamente conduzido, reentrando no circuito (C)
- Figura4: Representação esquemática das velocidades de condução do P.A. no tecido miocárdico, sendo a velocidade de condução maior no sentido longitudinal que no sentido transversal.
Fonte: Livro texto: Bioelectromagnetism (1995).
- Figura 5: Ilustração de um potencial de ação desenvolvendo atividade deflagrada. O pós-potencial não atingiu o limiar no primeiro batimento, atingindo-o no segundo batimento, dando origem a uma extrassístole.
- Figura 6: Representação esquemática do ECG em relação ao P.A., no mesmo eixo de tempo, sendo o P.A. representado em suas diferentes morfologias encontradas no tecido miocárdico. O ECG e suas ondas (P, Q, R, S e T) estão representados com cores que se correlacionam com o P.A. da área do miocárdio por onde percorre o impulso.
Fonte: Modificado de Biomagnectism, Textbook (1985).
- Figura 7: Representação esquemática de Triangulação.
Fonte: Modificada de Valentim et al (2004).
- Figura 8: Representação esquemática genérica sem escalas, do efeito de fármacos que alteram o P.A. e aumentam Tp-Te.
Fonte: Modificado de Valentim (2004).

- Figura 9: Representação esquemática do intervalo QT
Fonte: Arquivo de Cardiogeriatrics (2008).
- Figura 10: Traçado eletrocardiográfico de Torsades de Pointes.
Fonte: Modificado de Journal of Cardiovascular Electrophysiology (2007).
- Figura 11: Esquema de Preparação de Langendorff.
Fonte: J. Vianei (2008).
- Figura 12: Parâmetros eletrocardiográficos medidos : P, PR, QRS, QT e Tp-Te.
Fonte: Modificado de Braunwald, Tratado de Cardiologia (2010).
- Figura 13: Traçado eletrocardiográfico de um coração isolado de rato no qual se indica os intervalos medidos - Grupo milimolar, em que temos A: ausência de tioridazina e B: presença de tioridazina (2 milimolar), aos 5 minutos de perfusão. Os valores dos intervalos na ausência e na presença de droga foram respectivamente (RR 451 ms / 484 ms; PR 97 ms / 113 ms, QRS 97ms / 113ms, QT 210 ms / 242 ms).
- Figura 14: Traçado eletrocardiográfico de um coração isolado de rato exibindo bloqueio atrioventricular total pós torsades de pointes,, induzida por tioridazina (2 mM), com 10 minutos de perfusão de tioridazina.
- Figura 15: Traçado eletrocardiográfico de um coração isolado de rato exibindo taquicardia ventricular, induzida por tioridazina (2 mM).
- Figura 16: Traçado eletrocardiográfico de um coração isolado de rato com indicação dos intervalos medidos. Grupo micromolar, em que temos A: ausência de tioridazina e B: presença de tioridazina 20 micromolar, com 15 minutos de perfusão. Os valores dos intervalos na ausência e na presença da droga foram respectivamente: RR (451 ms/645ms; PR 64 ms / 161 ms; QRS 120ms / 274 ms; QT 193 ms /435 ms).
- Figura 17: Intervalos RR, PR, QRS e QT em função do tempo de exposição aos fármacos do Grupo microMolar (Tioridazina, 20 μ M. Medidas expressas como média(N=5).
- Figura 18: Pontos de referência para medição do QT-QRS, obtidos no traçado experimental de rato Wistar.

- Figura 19: Valores de intervalos eletrocardiográficos nas diferentes amostras experimentais (dados expressos como média \pm desvio padrão).
- Figura 20: Intervalo QT-QRS em exemplo de ECG na condição experimental: controle.
- Figura 21: Intervalo QT-QRS em exemplo de condição experimental: perfusão de Tioridazina.
- Figura 22: Intervalo QT-QRS em exemplo de condição experimental: perfusão de Tioridazina + solução hipocalêmica.
- Figura 23: Duração do intervalo QT-QRS, com média e desvio padrão nas diversas amostras experimentais. Os símbolos *, # e & expressam diferenças estatísticas entre as médias ($p < 0,05$).
- Figura 24: Traçado representativo de Tp-Te na presença de Tioridazina.
- Figura 25: Traçado representativo de Tp-Te na presença de Tioridazina e Hipocalemia.
- Figura 26: Representação gráfica do intervalo Tp-Te e nas amostras experimentais (hipo=hipocalemia; TR=tioridazina).

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Média (\pm desvio padrão) dos intervalos eletrocardiográficos (em ms).

LISTA DE ABREVIACOES

ECG	Eletrocardiograma
PA	Potencial de Ação
K-H	krebs-Henseleit
BAVT	Bloqueio atrioventricular total
EAD	“Early Afterdepolarizations”
DAD	“Delayed afterdepolarizations”
RS	Retículo Sarcoplasmático

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVO.....	20
3 ASPECTOS BIOFÍSICOS DA ARRITMOGÊNESE.....	21
3.1 GERAÇÃO DO POTENCIAL DE AÇÃO.....	21
3.2 ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO.....	24
3.3 O ELETROCARDIOGRAMA NORMAL.....	25
4 GÊNESE DA ARRITMIA.....	26
4.1 REENTRADA.....	26
4.1.1 Funcional.....	27
4.1.2 Anatômica.....	28
4.1.3 Anisotrópica.....	28
4.2 “TRIGGERED ACTIVITY” (ATIVIDADE DEFLAGRADA).....	29
4.2.1 Pós-potenciais precoces (EAD).....	30
4.2.2 Pós-potenciais tardios (DAD).....	31
4.3 AUTOMATICIDADE.....	32
4.4 MORFOLOGIA DE ONDAS T E SUA RELAÇÃO COM FENÔMENO ARRÍTMICOS.....	32
4.4.1 Triangulação.....	35
4.4.2 Intervalo Tp-Te.....	37
4.4.3 Aumento do intervalo QT.....	39
4.5 ANTIPSICÓTICOS E ARRITMIAS.....	41
5 MATERIAIS E MÉTODO.....	43
5.1: MONTAGEM EXPERIMENTAL.....	43
5.2: OBTENÇÃO DE DADOS: PRIMEIRA FASE EXPERIMENTAL.....	45

5.2.1 Experimentos exploratórios.....	45
<i>5.2.1.1 Tioridazina em “bolus”.....</i>	<i>46</i>
<i>5.2.1.2 Tioridazina em perfusão contínua.....</i>	<i>46</i>
5.3 OBTENÇÃO DE DADOS: SEGUNDA FASE EXPERIMENTAL	47
5.4 MEDIÇÕES DOS INTERVALOS.....	49
5.5 MÉTODO DE ANÁLISE DE DADOS.....	50
6 RESULTADOS.....	51
EFEITOS DE FENOTIAZINAS SOBRE OS INTERVALOS ELETROCARDIOGRÁFICOS	51
6.1 EXPERIMENTOS EXPLORATÓRIOS.....	51
6.2 SEGUNDA FASE DE EXPERIMENTOS.....	55
6.2.1 Efeito da tioridazina sobre os intervalos eletrocardiográficos.....	55
6.2.2 Efeito da tioridazina sobre os intervalos QT – QRS.....	58
6.2.3 Efeito da tioridazina sobre os intervalos Tp-Te.....	61
7 DISCUSSÃO.....	64
8 CONCLUSÕES.....	69
REFERÊNCIAS.....	70
APÊNDICE.....	81
ANEXO.....	96

1 INTRODUÇÃO

A arritmia cardíaca é a principal causa de morte súbita. Nos Estados Unidos há cerca de 400.000 a 460.000 casos de morte súbita ao ano e estatísticas brasileiras apontam que em janeiro de 2009 foram notificados em média 90.000 casos de internação por doenças do aparelho circulatório ao mês, com uma média 4.000 casos ao mês de internação por transtornos do ritmo cardíaco (MINISTÉRIO DA SAÚDE - DATASUS, 2009).

O percentual de morte súbita varia de um a oito casos para cada mil indivíduos ao ano na população em geral, com incidência ainda maior na vigência de infarto agudo do miocárdio e arritmia ventricular (30 casos/1.000 indivíduos/ano). Em 80% dos casos de morte súbita, encontramos doença arterial coronariana com suas consequências como infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca congestiva (MYEBURG *et al*, 2006).

Miocardopatias dilatadas não isquêmicas e miocardopatias hipertróficas estão em segundo lugar como responsáveis pela morte súbita e, em cerca de 5 a 10% dos casos, cardiopatias congênitas e distúrbios geneticamente determinados em canais iônicos de cálcio, sódio e potássio, levando ao desfecho fatal (RUBART *et al*, 2005).

Distúrbios na expressão dos canais iônicos de cálcio, sódio e de potássio são importantes, pois estes canais participam da gênese e da condução da atividade elétrica dos tecidos excitáveis, conhecida como Potencial de Ação (PA). Por exemplo, alterações no PA detectadas na síndrome de Brugada, na qual há um distúrbio no gene SC5NA (que codifica a subunidade alfa dos canais de sódio dependentes de voltagem), podem desencadear arritmias severas por disfunção do canal de sódio (POSTEMA *et al*, 2009).

Situações clínicas não relacionadas às cardiopatias, como o uso de certos fármacos no tratamento de patologias não cardíacas, tais como distúrbios psicóticos e distúrbios hidro-eletrolíticos desencadeados pelas mais diversos patologias (diarréias, por exemplo) podem desencadear arritmias cardíacas (DENVIR *et al* , 1998).

É sabido que pacientes com esquizofrenia que utilizam antipsicóticos podem sofrer arritmias fatais ou até mesmo morte súbita (HUIKIRI *et al* , 2001; SABINE *et al* , 2004; SE-YOUNG *et al* , 2005). A utilização de fármacos antipsicóticos, como a tioridazina, a flufenazina e a trifluoperazina, levam a alterações do PA, que por sua vez

provocam alterações eletrocardiográficas, com variações nos intervalos eletrocardiográficos PR, QRS e principalmente no intervalo QT (SHIMIZU *et al* , 2000).

O aumento do intervalo QT na presença de fenotiazinas é decorrente do aumento do tempo de repolarização, que é principalmente mediado pelas correntes de saída de potássio, sendo uma das principais a corrente I_K , que possui os componentes de ativação rápida e lenta denominados I_{Kr} e I_{Ks} . A ativação da corrente de ativação rápida, (I_{Kr}), inicia a fase de repolarização do potencial de ação. A proteína que constitui o canal de potássio mediador destas correntes é codificada pelo gene humano ether a-go-go (HERG). Mutações neste gene levam à síndrome do QT longo congênita, SQT, que é relacionada à morte súbita desencadeada por arritmias fatais. Os fármacos que atuam sobre a corrente I_K podem mimetizar a síndrome do QT congênito em termos de fenótipo, levando à síndrome do QT longo adquirido, com as mesmas consequências arritmogênicas (ALEXANDER *et al* , 2006).

Assim, a partir do conhecimento de que certos fármacos alteram o potencial de ação de maneira característica, notadamente àquelas relacionadas ao intervalo QT, pode-se, em tese, utilizar esta informação para o estudo das correlações entre o potencial de ação e o eletrocardiograma em condições experimentais controladas. Neste sentido, torna-se pertinente o uso de fenotiazinas (tioridazina, flufenazina e trifluoperazina) para o estudo do comportamento eletrocardiográfico, tanto em fenômenos arrítmicos como em alterações eletrocardiográficas relacionados ao aumento do tempo de repolarização ventricular.

Por outro lado, em situações de hipocalcemia e hipercalemia (diminuição e sobrecarga de potássio, respectivamente, detectadas no plasma humano por métodos bioquímicos), também são registradas alterações eletrocardiográficas que podem levar a alterações do intervalo QT, com predisposição às arritmias, tanto de origem ventriculares, como supraventriculares e bloqueios atrioventriculares (KODAMA *et al* , 1984; FERREIRA *et al* , 2008; OLEG *et al* , 2010). Por exemplo, a hipocalcemia por si só leva ao aumento do intervalo QT, com despolarizações ventriculares prematuras, que por sua vez podem agravar ainda mais os efeitos de fenotiazinas sobre estes intervalos eletrocardiográficos (MALAFRONTTE *et al* , 2004; HELFANT *et al* , 1986).

Na hipocalcemia há o aumento da duração do potencial de ação e da duração do período refratário, sendo ambos os fatores adequados para a arritmogênese. Quando se faz o eletrocardiograma em humanos sob hipocalcemia detectada por análises

bioquímicas, no ECG haverá ondas U com amplitudes maiores que 1 mV e mais largas (maior duração) que as ondas T, associado a depressão do segmento ST, numa mesma derivação. Poderá ocorrer uma relação onda T/onda U menor ou igual a um, sendo a onda U maior que 0,5 mV na derivação D2 ou maior que 1 mV na derivação V3 (HELFANT *et al*, 1986). Portanto, alterações eletrocardiográficas dão indícios da situação de hipocalemia detectada por análises bioquímicas, corroborando a importância do eletrocardiograma no diagnóstico clínico e, indiretamente sendo uma ferramenta para reconhecimento das alterações do potencial de ação induzida pela hipocalemia.

A mesma importância diagnóstica pode ser suposta nas condições de hipercalemia, também reconhecidamente arritmogênica (FRIEDENSOHN *et al*, 1991). Porém, nem sempre existem alterações eletrocardiográficas consistentes que permitam o reconhecimento da hipercalemia. Nas situações de hipercalemia, o eletrocardiograma registra ondas T em forma de sino, cupuliformes. Em níveis de potássio menos elevados, as alterações eletrocardiográficas são inespecíficas, daí a dificuldade do diagnóstico precoce, como observado no estudo realizado no Centro Médico da Universidade de Pittsburgh, onde somente 48% dos pacientes com potássio sérico maiores que 6 mE/L apresentavam alterações no ECG e 55% dos pacientes com nível sérico de potássio maior que 6,8 apresentavam alterações consistentes do ECG (WALTER *et al*, 2006).

Na hipercalemia, o potencial de repouso de membrana é -70 mV quando comparado ao da condição de normocalemia que é -80 mV. Nesta situação, o percentual de canais de Sódio ativáveis decresce, diminuindo a corrente de sódio, levando à lentidão na condução do impulso. Eletrocardiograficamente há prolongamento da onda P, do intervalo PR e alargamento do complexo QRS (WEBSTER *et al*, 2002).

Nas fases 2 e 3 do potencial de ação que se seguem à sua ativação inicial, ocorre a saída do potássio para o meio extracelular sendo a corrente I_{Kr} a responsável por este efluxo. Há, na hipercalemia, declínio nas fases 2 e 3, sendo estas mais rápidas, diminuindo o tempo de repolarização, levando a uma depressão do segmento ST, onda T apiculada e diminuição do intervalo QT. Portanto, mesmo não sendo frequente em todas as situações de hipercalemia, a alteração eletrocardiográfica clinicamente detectada pode ser útil no auxílio diagnóstico (CUMBERBATCH *et al*, 1999).

Avaliações da duração do potencial de ação (PA), do período refratário relativo ventricular e o tempo de condução transmural são utilizados em conjunto na tentativa da compreensão das arritmias (SABIR *et al*, 2007). Um aspecto comum nesta tentativa é a

busca de correlações entre o PA e o ECG. Por exemplo, sabe-se que variações na duração do PA ventricular levam ao aumento ou diminuição no intervalo QT do ECG e alterações na dispersão do PA no endocárdio, midmiocárdio e epicárdio acarretam o aumento da duração da onda T. Esta variabilidade de parâmetros envolvendo a duração dos intervalos eletrocardiográficos pode estar atrelada à ocorrência de diversas arritmias, como por exemplo, taquicardias ventriculares e “torsades de pointes” (YUNLONG *et al*, 2006).

Os estudos expostos acima de Jan Sabir e Yunlong Chia foram essencialmente efetuados em experimentação “*in vitro*”, ajudando a elucidar mecanismos geradores de arritmia, notadamente na correlação entre Potencial de Ação e Eletrocardiograma. Por exemplo, a lentificação do potencial de ação ventricular, identificado eletrocardiograficamente por aumentos no intervalo QT, QT corrigido, triangulação e na duração da onda T (Tp-Te), dão indícios do potencial arritmogênico de fármacos, podendo inclusive levar à gênese de arritmias ventriculares (CHENG *et al*, 1999). No entanto, os resultados obtidos nas experimentações, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, ainda não deixam completamente claro se os mecanismos arritmogênicos observados estão associados a um dos dois fenômenos eletrofisiológicos seminais e distintos: a reentrância ou a atividade deflagrada (“triggered activity”).

O desconhecimento da exata natureza do mecanismo arritmogênico afeta substancialmente a interpretação eletrocardiográfica das arritmias, bem como a indicação correta de fármacos para seu tratamento. Portanto, é possível depreender a importância de indicadores eletrocardiográficos que identifiquem não só o tipo de arritmia (exemplo: taquiarritmia ventricular ou Torsades de Pointes), mas também seu mais provável mecanismo arritmogênico (reentrância ou atividade deflagrada). Desta forma, o objetivo geral é essencialmente ajudar na identificação do possível mecanismo arritmogênico de arritmias ventriculares por meio de análises eletrocardiográficas, propondo um novo parâmetro eletrocardiográfico.

Para isto, consideramos o seguinte raciocínio:

1- A atividade deflagrada está associada às alterações durante a repolarização ventricular que levam ao aumento da duração do PA ventricular. A lentificação na repolarização do PA ventricular aumenta a dispersão da repolarização no ventrículo que, por sua vez, aumenta o tempo de decaimento da onda T, possibilitando o início de atividade deflagrada (MILBERG *et al* , 2005).

2- A “morfologia” da despolarização ventricular por atividade deflagrada afeta a onda T do ECG de forma característica, achatando-a e aumentando sua duração. Ou seja, a lentificação na repolarização do PA ventricular pode ser evidenciada no ECG como alterações na duração do intervalo QT e da onda T (CHANTAL *et al*, 2006).

3- O tempo entre o final do complexo QRS e o final da onda T (QT – QRS) é uma medida indireta da duração dos últimos PA ventriculares após a sístole ventricular (RICHARD *et al*, 2007; GUSSAK *et al*, 2008; NODA *et al*, 2008). Ou seja, o intervalo QT-QRS reflete exclusivamente o eletrocardiograma de cardiomiócitos na fase de repolarização.

A partir deste raciocínio, assumimos que o intervalo QT-QRS juntamente com a duração da onda T poderiam ajudar no reconhecimento de potencial arritmogênico de fármacos e do seu respectivo mecanismo arritmogênico. De fato, pelo raciocínio exposto, os parâmetros eletrocardiográficos representados pela duração do intervalo QT-QRS e duração da onda T, avaliados juntos, podem fornecer subsídios importantes que indiquem suscetibilidade a arritmias ventriculares, cujo mecanismo arritmogênico é especificamente a atividade deflagrada por lentificação na repolarização ventricular. Desta forma, considerando-se a possibilidade da reprodução *in vitro* e controlada da lentificação na repolarização ventricular, seria possível, em princípio, avaliar-se a aplicabilidade destes parâmetros no reconhecimento de arritmias e seu respectivo mecanismo arritmogênico. A análise da aplicabilidade destes parâmetros é, essencialmente, o foco do presente trabalho.

Assim, neste trabalho reproduzimos *in vitro* as condições experimentais que viabilizam lentificar a repolarização ventricular bem como afetar esta lentificação. Como esta lentificação pode ser induzida utilizando-se perfusão de fenotiazinas em corações isolados de animais experimentais na Preparação de Langendorff, e a lentificação também pode ser afetada de maneira controlada por procedimentos experimentais que mimetizam condições de normo, hipo e hipercalemia, estas foram as ferramentas metodológicas utilizadas para se avaliar os parâmetros QT-QRS e onda T.

A seguir apresentamos formalmente o objetivo deste trabalho, seguido dos aspectos teóricos da arritmogênese relacionados à tese propriamente dita.

2 OBJETIVO

Analisar a aplicabilidade da avaliação simultânea das durações do intervalo QT-QRS e da onda T para apoio à interpretação de arritmia ventricular e seu respectivo mecanismo arritmogênico.

REFERENCIAL TEÓRICO E ESTADO DA ARTE

3 ASPECTOS BIOFÍSICOS DA ARRITMOGÊNESE

3.1 GERAÇÃO DO POTENCIAL DE AÇÃO

A matriz lipídica das membranas biológicas permite com que a membrana possua propriedades capacitivas, conferindo uma rigidez dielétrica. Além disso, apresentam uma resistência, tornando a membrana semelhante a um circuito elétrico do tipo resistor-capacitor em paralelo. A presença de proteínas nesta estrutura lipídica faz baixar a resistência, sendo que a corrente total da membrana é resultante da soma da corrente iônica (que obedece a lei de Ohm e está associada aos canais iônicos) somada à corrente capacitiva (que corresponde ao dielétrico lipídico). A permeabilidade seletiva aos diversos íons e distribuição assimétrica de suas concentrações entre os lados intra e extracelulares geram o chamado potencial de repouso.

O Potencial de Ação é uma ativação elétrica que se propaga a partir do potencial de repouso pelas células excitáveis para a transmissão de uma informação ou para iniciar uma contração. As membranas das células vivas possuem uma diferença de potencial elétrico entre as superfícies interna e externa que variam de -60 mV a -90 mV (células nodais e células de Purkinje, respectivamente).

Para que o potencial de ação seja deflagrado existe uma movimentação organizada de cargas elétricas no interior da membrana plasmática. O modelo de “gating current” (HODGKIN & HUXLEY *et al*, 1955) tem como fundamento a cinética entre dois compartimentos diferentes, com a condutância iônica variando com o tempo e com a diferença de potencial aplicada sobre uma membrana. As variáveis implicadas são:

g_{Na} : Condutância ao Sódio num tempo t .

G_{Na} : Condutância máxima da membrana ao Sódio.

g_{K} : Condutância ao Potássio num tempo t .

G_{K} : Condutância máxima ao Potássio

m, h, n : Variáveis responsáveis pela ativação e inativação dos canais de Sódio e ativação dos canais de Potássio, respectivamente.

As correntes transportadas pelo sódio e pelo potássio foram matematicamente descritas da seguinte forma:

$$I_{Na} = G_{Na} \cdot m^3 \cdot h(V_m - V_{Na})$$

$$I_K = G_K \cdot n^4(V_m - V_K)$$

V_m : diferença de potencial através da membrana

V_{Na} : potencial de equilíbrio do sódio

V_K : potencial de equilíbrio do potássio

Nas células cardíacas há uma diferença de potencial de -90 mV, sendo este o potencial de repouso. Quando há uma excitação da célula, ocorre o disparo do potencial de ação, (figura 1) caracterizada por fases: despolarização (fase zero), repolarização incompleta e precoce, (fase um), platô (fase dois), repolarização (fase três) e a diástole elétrica (fase quatro). O potencial de ação, diferente do potencial de repouso, se propaga pela membrana das células e de célula a célula.

Podemos subdividir em Potencial de Ação com componente rápido (tipo A) ou lento (tipo B) (PAES DE CARVALHO *et al*, 1966). No cardiomiócito e no tecido de condução cardíaca existem potenciais de ação tipo A, com componente rápido bem desenvolvido, onde há entrada de sódio pelos canais de sódio de cinética rápida.

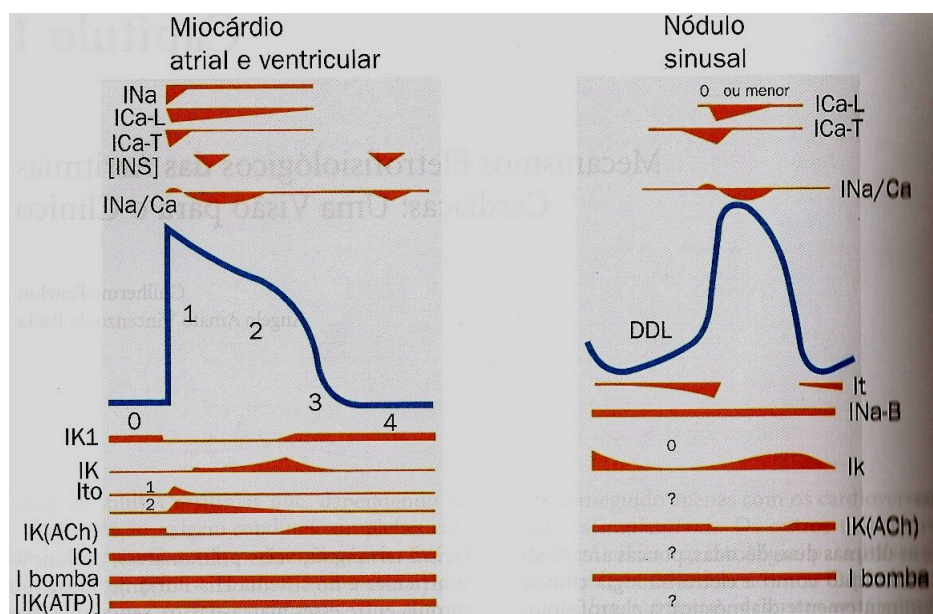


Figura 1: Representação esquemática sem escalas do Potencial de Ação, nas suas fases 0, 1, 2, 3 e 4 e respectivos canais iônicos.

Fonte: Tratado de Cardiologia da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo (2005).

Nas células de transição do entorno do nodo sinusal e atrioventricular há potenciais de ação Tipo B, com componente rápido pouco desenvolvido, taxa de despolarização menor, com menor velocidade de propagação.

Durante o PA, a mudança de resistência da membrana de um estado passivo, (onde a resistência é constante), para um estado ativado (com resistência variável), leva à alteração da condutância aos diferentes íons e, após um pulso despolarizante e supralimiar ocorrerão sequencialmente:

Para o íon Sódio:

-Aumento da condutância ao Sódio (cerca de 30 vezes maior que a condutância ao Potássio);

-Inativação dos canais de sódio;

-Manutenção de permeabilidade de canais lentos de sódio durante o platô;

-Com a repolarização completa há o retorno da condutância de sódio ao seu valor de repouso.

Para o Potássio têm-se:

-Na despolarização há redução da condutância ao potássio;

-A condutância aumenta com o passar do tempo, até atingir o seu valor de repouso, quando ocorre um grande fluxo de saída de potássio decorrente de gradiente de concentração e gradiente elétrico, facilitando a saída de cargas positivas, negativando o citoplasma e repolarizando a célula.

No repouso elétrico, há uma corrente de Potássio em direção para o exterior da célula, através de canais que retificam com a despolarização, denominados canais tipo K_1 (Canal Retificado de Saída). Na fase zero do potencial de ação a condutância deste canal diminui, contribuindo com a fase de platô do potencial de ação.

Quando a membrana atinge -20 mV, os canais de Potássio entram novamente em ação, sendo então o principal responsável pela repolarização (fase 3 do potencial de ação). O Canal de Ativação Transitório (Canal K_{to}) abre-se e também se inativa rapidamente na fase Zero do Potencial de Ação, não sendo eficaz na repolarização da célula. O Canal K (Canal de Potássio retificador com retardo) por sua vez apresenta aumento progressivo de condutância ao Potássio, levando a uma corrente de saída de Potássio máxima próximo ao término do platô e conjuntamente com os canais tipo K_1 (que estavam desativados neste momento e voltam a ser funcionantes), levam a célula à repolarização.

Dois subtipos principais de canais K são o K_s (não responsivo ao sotalol) e K_r (sensível ao sotalol).

Para o Cálcio:

-Durante o repouso a condutância ao Cálcio é pequena, elevando-se durante o platô. Como seu potencial de equilíbrio é positivo, em torno de +130 mV, há manutenção do estado de despolarização e contração do cardiomiócito.

Os canais de cálcio tipo L (“Large depolarization”) e tipo T (“threshold”) foram identificados por técnica de “clamp” de voltagem desde a década de 60, sendo atualmente também conhecidos canais denominados tipo N, P, Q, R (REUTER *et al*, 1967, 1977).

O conhecimento das estruturas envolvidas na dinâmica iônica, principalmente envolvendo o íon cálcio, responsável direto pelo mecanismo de acoplamento excitação contração permite a compreensão dos possíveis mecanismos de arritmias. Estas estruturas são discutidas a seguir.

3.2 ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO

Durante o PA, há a entrada do cálcio para o interior da célula pelos canais de cálcio tipo L. Estima-se 15 canais por micrômetro² em cardiomiócitos ventriculares (LEW *et al*, 1991), sendo que somente 3% estarão abertos no potencial de repouso. Quando este cálcio entra no miócito dá-se o início do acoplamento excitação-contração através do contato deste cálcio com o retículo sarcoplasmático, estimulando a liberação do cálcio do retículo dando substrato aos filamentos contráteis para que a contração ocorra. Este fenômeno é denominado cálcio induzindo liberação de cálcio, ocorrendo pelo contato do cálcio com canais de cálcio localizados nas cisternas terminais do retículo sarcoplasmático denominados RyRs, que possuem alta afinidade pela rianodina. Estes estão estruturalmente muito próximos aos canais de cálcio tipo L da membrana plasmática.

A força de contração muscular dependerá da quantidade do cálcio intracelular liberada pelo retículo sarcoplasmático, da frequência cardíaca, da duração do potencial de ação e do intervalo diastólico, períodos estes que propiciarão a reposição dos estoques do cálcio do retículo (BERS *et al*, 2002).

3.3 O ELETROCARDIOGRAMA NORMAL

O eletrocardiograma normal realizado de forma padronizada (KLIGFIELD *et al*, 2007) é constituído pelas seguintes ondas: P, Q, R, S, J, T e U (figura 2). Quando um impulso elétrico sai do nodo sino-atrial, espalha-se pelo átrio direito e átrio esquerdo e septo interatrial, originando a onda P. A condução pelo nodo atrioventricular é registrada como uma linha isoeletrica que começa no final da onda P até o início do complexo QRS, formando o segmento PR, que é parte do intervalo PR, que se estende do início da onda P até o início do complexo QRS. A sequência de ativação endocárdica e transmural dos ventrículos resultam nas ondas características do complexo QRS. O segmento ST começa com uma onda de baixa amplitude a partir do término da onda S, denominado este local de ponto J (ESKOLA *et al*, 2005).

A seguir, há inscrição da onda T, que representa a repolarização ventricular. A onda U ainda tem base eletrofisiológica incerta, possivelmente originada pela repolarização das fibras de Purkinje, pelo longo potencial de ação das células M (midimiocárdicas) ou pela despolarização tardia em áreas de ventrículo (WU *et al*, 2002). O intervalo QT inclui a duração total da ativação e recuperação ventricular, sendo diminuído quando a frequência cardíaca aumenta (LUO *et al*, 2004).

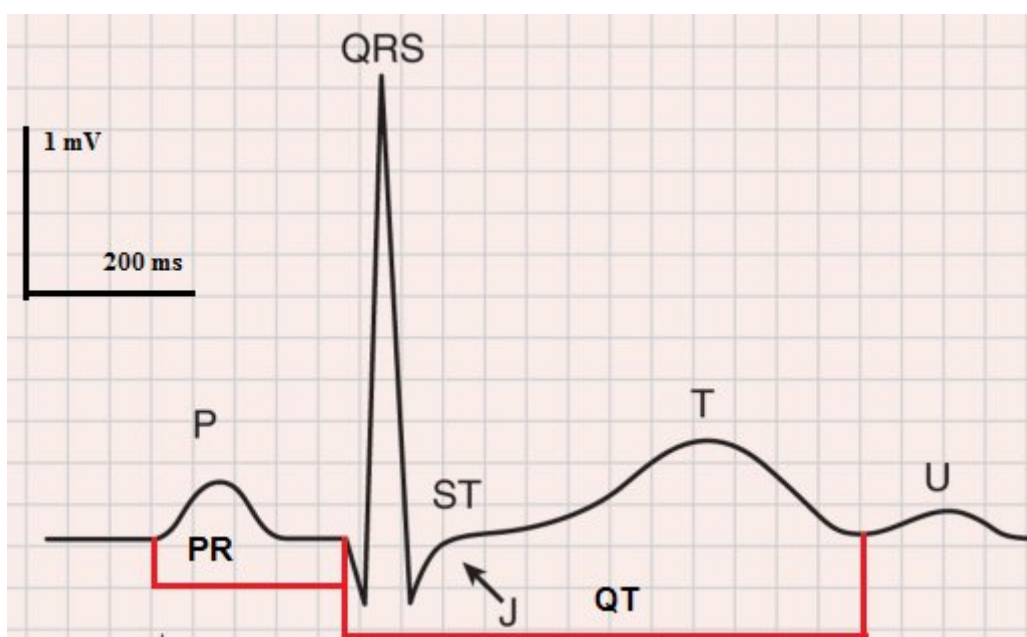


Figura 2: Representação esquemática dos intervalos eletrocardiográficos.

Fonte: Modificado de Braunwald, Tratado de Doenças Cardiovasculares (2010).

4 GÊNESE DA ARRITMIA

Os mecanismos fundamentais que desenvolvem fenômenos arrítmicos responsáveis por alterações no ciclo cardíaco normal envolvem os fenômenos de reentrada, atividade deflagrada e automaticidade.

4.1 REENTRADA

A reentrada (figura 3) existe quando o impulso cardíaco em vez de se extinguir, encontra um caminho de tecido fora do período refratário, permitindo o seu retorno e nova despolarização total ou parcial do coração (JANSE *et al*, 1989).

Para que ocorra a reentrada são necessários:

- a) Bloqueio unidirecional da condução;
- b) Tempo de recirculação do impulso até o local de origem seja mais longo que o período refratário do seguimento proximal do circuito.

Caso este tempo seja mais curto, encontrará a origem em período refratário e não haverá reentrada.

Para que ocorra bloqueio de condução unidirecional, um extra-estímulo poderá atingir o período refratário do tecido miocárdico. A estimulação durante este período vulnerável resultaria no bloqueio de condução em direção anterógrada, pois as células estão no seu período refratário. Porém, em direção retrógrada haverá condutância ao Sódio adequada para que o impulso se transmita nessa direção (SHAW *et al*, 1995).

O comprimento anatômico do circuito precisa ser igual ou mais longo que a distância percorrida pela onda de ativação durante o período refratário. Comprimentos de onda curtos, resultantes de períodos refratários curtos e/ou velocidade de condução lenta são mais propícios à reentrada.

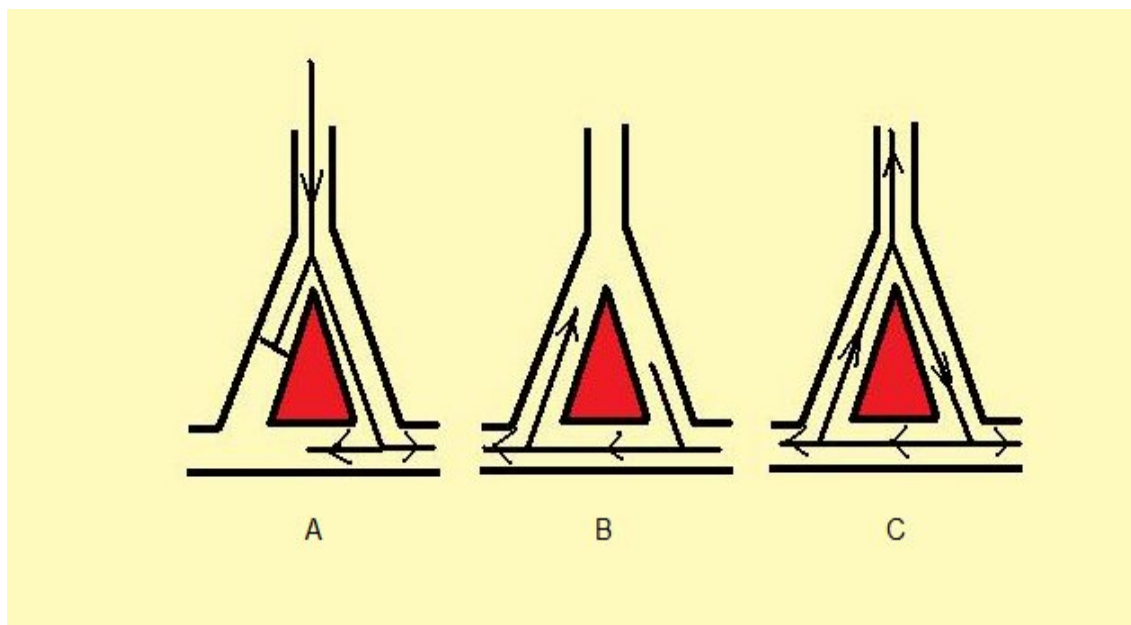


Figura 3: Esquemática dos mecanismos de reentrada: (A): impulso bloqueado, sendo conduzido por outra via, caracterizando bloqueio unidirecional. Se esta área com bloqueio estiver recuperando sua excitabilidade (B), o impulso retornará à origem, sendo então novamente conduzido, reentrando no circuito (C)

Tipos de Reentrada

4.1.1 Funcional

Na reentrada funcional o impulso trafega em tecido parcialmente refratário (que é mais propenso ao bloqueio de condução). Se as condições de condução e refratariedade forem propícias, um impulso pode desencadear um circuito reentrante na ausência de obstáculo anatômico. A reentrada é instável, pois o circuito pode mudar de tamanho, forma e localização a cada ciclo, tendo como exemplo a fibrilação atrial. A própria revolução do impulso ativa constantemente uma área de bloqueio central, mantendo-a refratária (reentrada tipo círculo condutor).

Se houver duas áreas com PA prolongados e diferentes, ocorrerá, por ex: Uma área com PA na fase 2 e uma segunda área com PA na fase 4. A diferença de potencial gera uma corrente capaz de despolarizar a região já repolarizada, produzindo um PA que ao atingir a fase 2, perpetua a reentrada. Há um aumento anormal da corrente de potássio I_{to} e/ou decréscimo da corrente de cálcio I_{Ca} , podendo não acontecer a fase 2 do potencial de ação subepicárdico, resultando em rápida repolarização precoce e

dispersão do potencial de ação transmural, sendo este tipo de reentrada denominada reentrada de fase 2 (LUCAS *et al*, 1996).

4.1.2 Anatômica

O impulso circula ao redor de uma barreira anatômica fixa e bem definida, como por exemplo: taquicardia atrioventricular reentrante na pré-excitação ventricular tipo Wolf-Parkinson-White.

O impulso passa pelos átrios, nodo atrioventricular, ventrículos, via acessória e novamente átrios levando, por exemplo, a taquicardias atriais por correção cirúrgica de cardiopatia congênita, denominadas taquicardias atriais incisionais. Outro exemplo é a taquicardia ventricular por reentrada ramo a ramo, em geral conduzido pelo ramo direito do feixe de Hiss e retornando pelos fascículos esquerdos.

4.1.3 Anisotrópica

Fisiologicamente, a velocidade de condução do impulso no coração é maior no sentido longitudinal que no transversal (figura 4), sendo que o estímulo é bloqueado mais facilmente no sentido longitudinal (NICHOLAS *et al*, 1998). A condução de impulsos de forma desigual em virtude da orientação espacial da fibra é chamada anisotropia. A exacerbação desta anisotropia pode gerar circuitos reentrantes.

Arritmias ventriculares na fase crônica do infarto agudo do miocárdio, taquicardias supraventriculares paroxísticas, “flutter” atrial e taquicardia por reentrada nodal são exemplos de arritmias que podem ocorrer por este mecanismo.

De forma geral, reentradas anatômicas e anisotrópicas são estáveis, persistentes e possuem intervalo de excitabilidade culminando com arritmias monomórficas. Reentradas funcionais são instáveis, sem intervalo de excitabilidade (propagação do estímulo em tecido parcialmente excitável), podendo terminar espontaneamente em ritmos fibrilatórios (BRAUNWALD *et al*, 2010).

Classifica-se a reentrada anisotrópica em:

-Macrorreentradas que são circuitos anatômicos de grande extensão como o “flutter” atrial, Wolf-Parkinson-White e taquicardias ventriculares com reentrada ramo a ramo;

-Microrreentradas que são circuitos menores como a Taquicardia Ventricular na fase crônica do Infarto Agudo do Miocárdio, as Taquicardias atriais e a Fibrilação Atrial.

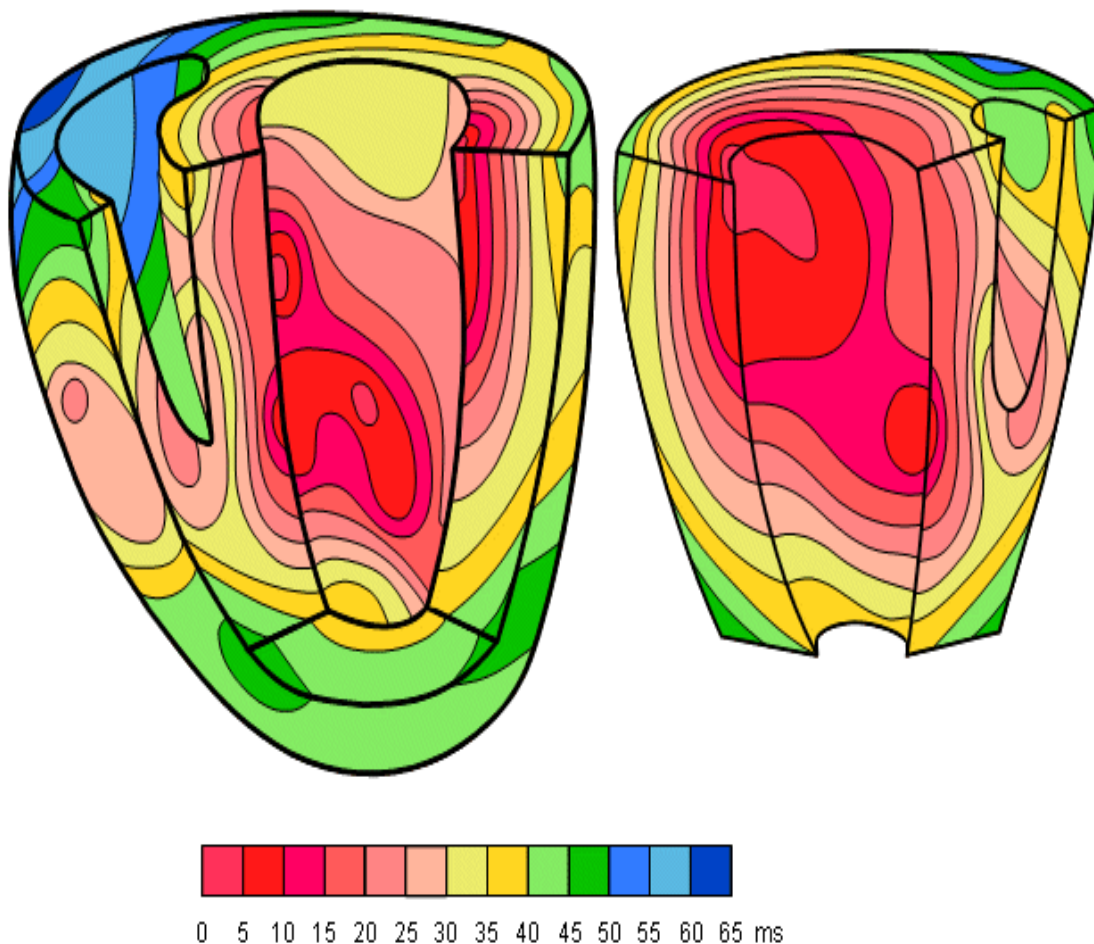


Figura 4: Representação esquemática das velocidades de condução do PA no tecido miocárdico, sendo a velocidade de condução maior no sentido longitudinal que no sentido transversal.

Fonte: Livro texto: Bioelectromagnetism (1995)

4.2 “TRIGGERED ACTIVITY” (ATIVIDADE DEFLAGRADA)

A “Triggered Activity”, ou atividade deflagrada, é caracterizada pela presença de um estímulo externo, diferente do automatismo, com pós-potenciais precoces (“Early Afterdepolarizations-EAD”) e pós-potenciais tardios (“Delayed afterdepolarization-DAD”) (KUMAR *et al*, 1995).

4.2.1 Pós Potenciais Precoces (EAD)

Os Pós-Potenciais Precoces são despolarizações que se originam durante o platô do Potencial de Ação ou no final da repolarização, com os seguintes mecanismos envolvidos:

- Aumento na condutância do Cálcio nos canais de cálcio Tipo L
- Ativação rápida do transiente da corrente do trocador Sódio-Cálcio, com liberação secundária de cálcio pelo retículo sarcoplasmático (MING *et al*, 1994).

a) Aumento da condutância do Cálcio:

Quando ocorre durante o platô do potencial de ação uma repolarização lenta, I_{Ca} pode ser reativada, gerando uma corrente de entrada (SIPIDO *et al*, 1995), formando um pós-potencial precoce. Este fenômeno é decorrente da recuperação dos canais de cálcio voltagem dependentes e da recuperação dos canais de cálcio inativados, sendo este último determinado pela atividade do trocador Sódio-Cálcio e da Ca^{++} ATPase do retículo sarcoplasmático.

Portanto, com a lentificação do processo de repolarização, há o favorecimento da reativação de I_{Ca} e o aparecimento de pós-potenciais, fato que ocorre na presença de algumas substâncias e situações como na acidose metabólica, drogas que bloqueiam correntes de Potássio e substâncias como o BAYK 8644, que aumentam a I_{Ca} (JANUARY *et al*, 1989)

É lógico pensar que, na situação inversa, onde a velocidade da repolarização aumenta, há a supressão das pós-despolarizações precoces, o que ocorre na presença de bloqueadores de canais de cálcio, hipercalemia e estimulação elétrica com frequência elevada (PRIORI *et al*, 1990).

b) Papel do trocador Sódio-Cálcio

Quando há a ativação do trocador Sódio-Cálcio no modo reverso, ocorre a entrada de cálcio no meio intracelular, com liberação do Cálcio pelo retículo sarcoplasmático através do mecanismo denominado cálcio induzindo liberação de cálcio. Nestas condições, o cálcio que adentrou a célula, ao contato com canais de Rianodina do Retículo sarcoplasmático induzem a liberação pelo retículo dos estoques de cálcio em fases mais tardias do platô (fase 3) ou no final da repolarização,

contrastando com o que fisiologicamente ocorre, que é a liberação do cálcio no início da sístole (SITSAPESAN *et al*, 1995). Estas ondas de cálcio irão favorecer o desencadeamento de potencial de ação, levando à extrassístoles.

4.2.2 Pós-Potenciais Tardios (DAD)

Quando há uma despolarização suficiente para alcançar o limiar e elevar a condutância ao sódio, gera-se uma extrassístole que poderá se perpetuar, replicando-se, resultando uma sucessão de potenciais de ação (figura 5). Isso ocorre na sobrecarga de cálcio, exemplificada nos casos de intoxicação digitálica e corroborada em experimentos envolvendo hipercalemia com hipocalcemia, hiponatremia, agonistas de canais de cálcio, excesso de catecolaminas e eletro-estimulação (JANSE *et al*, 1989).

Nesta situação, existe um potencial de membrana em torno de -60 mV e as principais correntes envolvidas neste potencial são determinadas pelo trocador Sódio-Cálcio, por entrada de cálcio em canais não seletivos e cálcio intracelular induzindo correntes de cloro (PAPP *et al*, 1995).

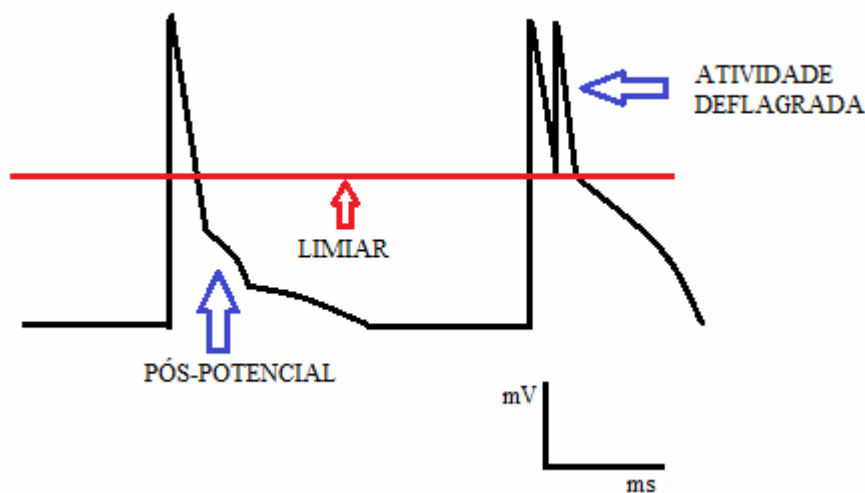


Figura 5: Ilustração de um potencial de ação desenvolvendo atividade deflagrada. O pós-potencial não atingiu o limiar no primeiro batimento, atingindo-o no segundo batimento, dando origem a uma extrassístole.

4.3 AUTOMATICIDADE

A automaticidade no nódulo sinusal reflete uma atividade elétrica espontânea, resultantes de várias correntes (I_{Kr} , I_f , I_{CaL} , I_{CaT} , I_{Na} , I_{KAch} , $I_{K Atp}$, $I_{Na,K}$) (HAN *et al*, 1996, BARUSCOTTI *et al*, 1996). A despolarização diastólica precoce é determinada pela ativação da I_f e pela desativação da I_K (ONO *et al*, 1995).

A automaticidade fora do nódulo sinusal pode ser consequência da ativação da I_f , liberação lenta de cálcio pelo retículo sarcoplasmático, ativação da corrente do trocador Na-Ca e ativação de correntes sensíveis ao estresse, dano ou curto-circuitos. Na sobrecarga de cálcio, a liberação lenta e espontânea de cálcio pelo retículo sarcoplasmático aumenta o nível do cálcio citoplasmático livre, estimula o trocador Na-Ca, correntes de canais não seletivos e I_{Cl} , despolarizando a célula ou aumentando a frequência de despolarizações diastólicas tardias em marcapassos subsidiários. Quando uma destas despolarizações é grande o suficiente para atingir o limiar de excitabilidade, inicia-se a arritmia cardíaca. Como exemplo, podemos citar despolarização induzindo automaticidade nas bordas de uma região infartada, com atividade arritmica sustentada.

4.4 MORFOLOGIA DE ONDAS T E SUA RELAÇÃO COM FENÔMENOS ARRÍTMICOS

A despolarização ventricular representada pelo complexo QRS no eletrocardiograma (ECG), em relação ao potencial de ação (figura 6), é a denominada fase Zero, enquanto que a repolarização ventricular (onda T no ECG) é a fase 3 do potencial de ação.

A fase 4 é a linha de base entre cada batimento, correspondendo à diástole. Bloqueando farmacologicamente o canal de sódio, há o alargamento do potencial de ação na fase Zero, e o complexo QRS também poderá se alargar. Bloqueando farmacologicamente os canais de potássio, a fase 3 sofrerá um atraso, com prolongamento da fase 2 do potencial de ação e com aumento do segmento ST e QT sem alargamento do QRS.

O período refratário absoluto ocorre entre as fases 1 e a metade da fase 3 e o período refratário relativo ocorre no final da fase 3. Portanto, se um estímulo elétrico atingir o tecido neste período, poderá desencadear-se um fenômeno arritmico.

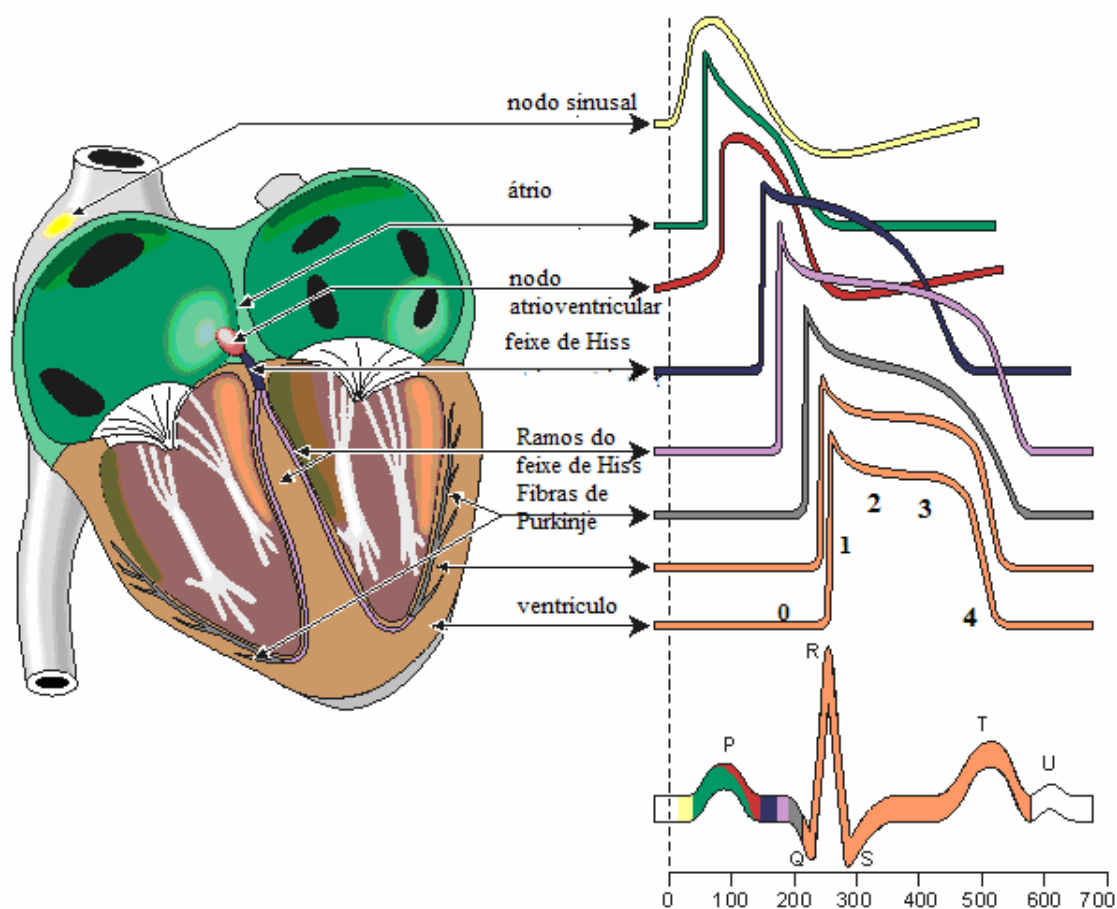


Figura 6: Representação esquemática do ECG em relação ao PA, no mesmo eixo de tempo, sendo o PA representado em suas diferentes morfologias encontradas no tecido miocárdico. O ECG e suas ondas (P, Q, R, S e T) estão representados com cores que se correlacionam com o PA da área do miocárdio por onde percorre o impulso. Fonte: Modificado de Bioelectromagnetism, Textbook (1985).

A onda T, associada com a fase de repolarização do potencial de ação, tem morfologia assimétrica em indivíduos saudáveis e, na presença de cardiopatia, tende a ser simétrica como resultado da dispersão da repolarização no músculo cardíaco (INUYAMA *et al*, 2000).

Assumindo, num modelo de ECG de superfície que a condutividade miocárdica é uniforme, a repolarização do ventrículo esquerdo sequencialmente ocorre no epicárdio, a seguir atinge parede septal e apex, finalmente atingindo o endocárdio. Quando há baixa dispersão das ondas, a onda T tende a ser assimétrica e, na presença de grande dispersão, a onda T tende a ser simétrica e elevada, havendo uma relação entre morte súbita e alta dispersão de onda T avaliada no ECG de 12 derivações.

Recentemente, a repolarização ventricular precoce caracterizada pela elevação da junção QRS com ST (denominado ponto J) em derivações diferentes da derivação

V1 do ECG em humanos, foi associada ao aumento de vulnerabilidade à fibrilação ventricular, num estudo que envolveu 10864 pessoas com idade média de 44 (+/- 8) anos. Neste estudo a repolarização precoce foi estratificada como uma elevação no ponto J maior ou igual a 0,1 mV ou maior que 0,2 mV nas derivações inferiores (D2, D3 e AVF) e laterais (D1, AVL, V5, V6). (TIKKANEN *et al*, 2009).

Os três principais tipos de células envolvidos na dispersão da repolarização (epicárdio, miocárdio e endocárdio), possuem características eletrofisiológicas que os diferem entre si (ANTZELEVITCH *et al*, 1999). As células do epicárdio e do miocárdio possuem fase um do potencial de ação proeminente, como consequência a uma grande corrente de saída I_{to} sensível a 4 aminopiridina, dando ao potencial de ação a forma de uma espícula elevada ou cupuliforme (NABAUER *et al*, 1996). O mesmo não ocorre com as células do endocárdio. Isto leva a diferenças de magnitude no potencial de ação, com morfologias diferentes.

Diferenças de magnitude no potencial de ação que envolve a onda T e, conseqüentemente a corrente I_{to} , também são observadas entre as células do miocárdio do epicárdio do ventrículo direito e esquerdo (VOLDERS *et al*, 1999). Entre o epicárdio e o endocárdio, situa-se o miocárdio cujo potencial de ação pode prolongar-se em decorrência da queda da frequência cardíaca ou em resposta à fármacos que prolonguem este potencial de ação, sendo que, em cães, a base iônica deste fato é uma atividade diminuída da corrente retificadora de potássio tardia (I_{Ks}), um grande atraso da corrente de sódio (I_{Na}) e aumento da corrente I_{Na-Ca} , proveniente do trocador Na-Ca. (LIW *et al*, 1995; ZYGMUNT *et al*, 2000, 2001). As correntes I_{Kr} (corrente retificadora tardia rápida) e a corrente retificadora I_{K1} são semelhantes nas camadas musculares estudadas em cães.

Sob condições normais e em casos de aumento do segmento QT, o epicárdio repolariza mais cedo, sendo o responsável pela inscrição do pico de amplitude da onda T, e o miocárdio por último, sendo o responsável pelo término da onda T. Assim, o intervalo QT é determinado pela repolarização do miocárdio, sendo que o intervalo entre o pico e o fim da onda T pode ser um índice de dispersão de repolarização transmural, com possível valor prognóstico (YAN *et al*, 1998).

Se o complexo QRS e, mais precisamente a onda S é representante do último potencial de ação ventricular representando a última despolarização ventricular, e o intervalo QT é representante da repolarização ventricular, onde estão presentes miócitos despolarizados e repolarizados conjuntamente, é possível depreender que a subtração

QT-QRS é uma medida indireta da duração da repolarização ventricular dos últimos grupos musculares que despolarizaram e repolarizaram, com células somente na fase de repolarização.

Se no estudo do segmento ST ocorre um período exclusivo que expressa somente a repolarização ventricular, o estudo da variação deste segmento poderia ser uma medida indireta da variação da duração do potencial de ação, auxiliando no estudo da fisiologia dos fenômenos arrítmicos. Para corroborar esta hipótese, são descritos na literatura os estudos de diversos parâmetros para análise de potencial pró-arrítmico. Pode-se realizar o estudo de potencial pró-arrítmico de drogas em modelos animais com o coração isolado de animal (Preparação de Langendorff), através de uma abordagem metodológica denominada "Screenit System" (HONDEGHEM *et al*, 1994), a qual consiste na avaliação de propriedades eletrofisiológicas e suas alterações na presença de fármacos e sua potencialidade pró-arrítmica, com avaliação por Triangulação, "Drug-use reverse" e Instabilidade.

Para a compreensão e avaliação de mecanismos arritmogênicos há, de maneira geral, os seguintes fenômenos que relacionam o potencial de ação com padrões eletrocardiográficos (HONDGEHEM *et al*, 2001, 2003a):

- Triangulação.
- T peak - T end (Tp-Te).
- Aumento do intervalo QT.

4.4.1 Triangulação (T)

A Triangulação é derivada de uma análise qualitativa do Potencial de Ação, que tem repercussão no ECG. O período que compreende o tempo entre 30 ms e 90 ms da repolarização chamado APD30 e APD90 reflete a fase 3 do potencial de ação e , algumas drogas que atrasam essa fase de repolarização modificam sua aparência "quadrada", transformando-a em aparência "triangular"(figura 7).

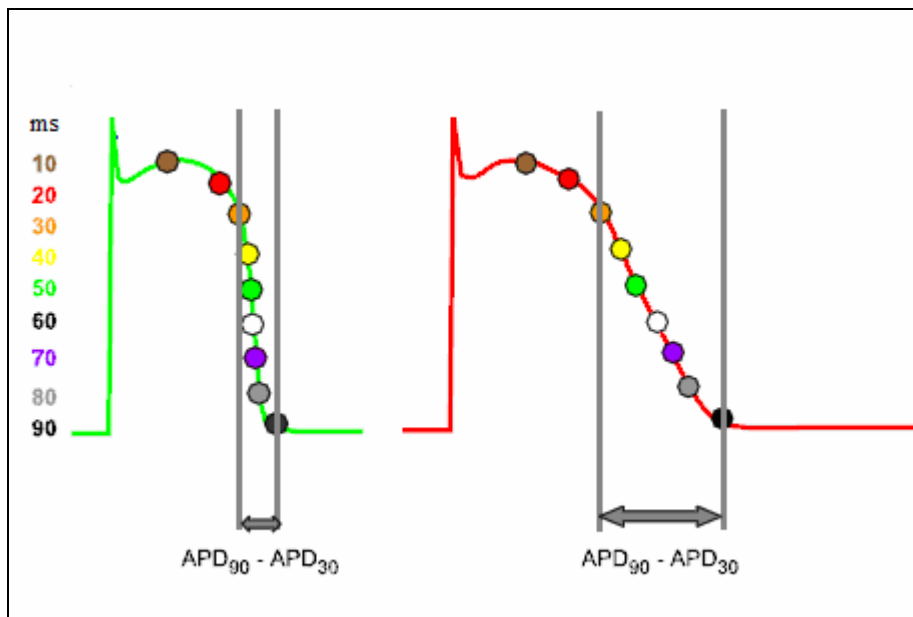


Figura 7: Representação esquemática de Triangulação. Fonte: Modificada de Valentim (2004).

A triangulação pode ser explicada pelos seguintes fenômenos na célula e no tecido miocárdico como um todo:

a) Aumento do tempo das correntes de cálcio levando à formação de pós-potenciais precoces (JANUARY *et al*, 1991).

b) Aumento do tempo das Correntes de sódio levando à formação de pós-potenciais precoces (KATZUNG *et al*, 1975).

c) Aumento do tempo de recuperação dos canais de sódio inativados, propiciando tempo para pós-potenciais precoces ou reentradas.

d) Diminuição de impedância entre as células na fase 3 do potencial de ação e início da diástole em virtude da variabilidade do tempo dos diversos potenciais de ação e, conseqüentemente, da abertura de canais de potássio, podendo levar à ativação celular.

Portanto, um aumento no potencial de ação pelo aumento do tempo de repolarização, determinado pela triangulação poderá levar à arritmia como a “torsades de pointes”.

Já o aumento do potencial de ação por aumento da fase de plateau é menos arritmogênico, pois nessa fase a célula está no período refratário.

Assim, bloqueando-se correntes iônicas na fase 3 do potencial de ação e provocando triangulação, haverá o substrato biofísico para distúrbios de condução que

levarão à pós-despolarizações tardias e reentradas, culminando com arritmias tais como “torsades de pointes” e fibrilação .

4.4.2 Intervalo Tp – Te

O músculo cardíaco possui três diferentes tipos celulares, que diferem entre si nas características de repolarização nas fases um e três, sendo denominadas células epicárdicas, células M e células endocárdicas. (ANTZELEVITCH *et al*, 1991).

Células epicárdicas e células M (de midimiocárdio) possuem fase um do potencial de ação proeminente, fato não observado nas células endocárdicas, que não possuem esta proeminência. Este comportamento é devido ao transiente da corrente de saída I_{to} , muito sensível a 4-aminopiridina e leva o potencial de ação a uma forma de espícula ou cúpula (ou configuração do entalhe) (LITOVSKY *et al*, 1988).

Portanto, as diferenças na magnitude da morfologia do potencial de ação, seja cupuliforme ou apiculada, correspondem a diferenças na corrente I_{to} em seus diversos sítios nos ventrículos direito e esquerdo e nas células epicárdicas e células M (VOLDERS *et al*, 1999).

Entre a superfície epicárdica e endocárdica existem camadas de células transicionais e células M (midimiocárdio). As células M podem ter seu potencial de ação prolongado em relação ao potencial de ação de outras células miocárdicas em situações onde há uma queda da frequência cardíaca ou em resposta a agentes que prolonguem a duração do potencial de ação, sendo que a base iônica que sustenta este fato (observada em cães) é a presença de uma pequena atividade da I_{ks} (corrente retificadora lenta tardia de potássio), de uma corrente tardia de sódio I_{Na} e uma corrente do trocador Na-Ca (I_{Na-Ca}) (LIU *et al*, 1995; ZYGMUNT *et al*, 2001).

A inscrição da onda T no eletrocardiograma reflete a heterogeneidade da repolarização transmural, transeptal e ápico-basal do potencial de ação. Estudos realizados em preparações de ventrículos em cães mostram que correntes que se afastam de gradientes de voltagem de cada lado da preparação da região M são os responsáveis pela maior parte da inscrição da onda T e as forças opostas que se estabelecem entre estas correntes é que determinam o tamanho e a largura da onda T e seu grau de ascensão e descenso (YAN *et al*, 1998).

Sob condições normais, as células epicárdicas são as primeiras a se repolarizar e as células M as últimas.

A repolarização total do epicárdio coincide com o pico da onda T e a repolarização das células M com o fim da onda T. Portanto, a repolarização das células M determina o intervalo QT e o intervalo entre o pico da onda T e o fim da onda T ($T_p - T_e$) é índice de dispersão transmural da repolarização ventricular (ANTZELEVITCH *et al*, 1997).

Nestas mesmas preparações de tecido ventricular, os gradientes de repolarização ápico-basal não possuem um papel importante no registro da onda T. Porém, ainda não podemos cegamente extrapolar estes dados para o ECG realizado in vivo.

Xia, em 2005, demonstrou em suínos que a medida $T_p - T_e$ não é uma medida absoluta da dispersão transmural in vivo, porém ela reflete a dispersão espacial da repolarização e a dispersão da repolarização transmural, podendo ser utilizada como prognóstico de risco para arritmia (WATANABE *et al*, 2004).

A acentuação do $T_p - T_e$ (portanto, o aumento da dispersão transmural) em pacientes com síndrome LQT1, patologia responsável por arritmias fatais quando em atividade física, eleva o risco de “torsades de pointes” (TAKENAKA *et al*, 2003). Se forem comparados o aumento do intervalo $T_p - T_e$ em relação ao aumento do intervalo QT ou QT corrigido (QTc), o $T_p - T_e$ tem maior valor como preditor de “Torsades de Pointes” do que o QT corrigido em patologias como síndrome do QT longo (YAMAGUCHI *et al*, 2003). Da mesma forma, também se observa este comportamento do $T_p - T_e$ em relação ao QT ou QTc quando estudado em miocardiopatia hipertrófica, com o aumento do intervalo $T_p - T_e$ indicando maior risco de morte súbita em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica do que o QTc (SHIMIZU *et al*, 2002). Estes estudos indicam que o aumento do $T_p - T_e$ tem relação com o risco de arritmias, devido à dispersão de repolarização transmural (figura 8).

Um aumento da dispersão transmural da repolarização estaria ligado a fenômenos arritmogênicos porque a dispersão da repolarização e da refratariedade ocorreria em curtas distâncias (na largura da parede ventricular, precisamente), criando profundos gradientes de repolarização, sendo esta variação nos tempos de repolarização mais importantes que a magnitude da dispersão da repolarização determinando assim um potencial arritmogênico (AIBA *et al*, 2006).

A dispersão ápico-basal ou a dispersão interventricular da repolarização pode ou não estar associada com as variações dos gradientes de repolarização, ainda não sendo possível associá-las ao risco arritmogênico.

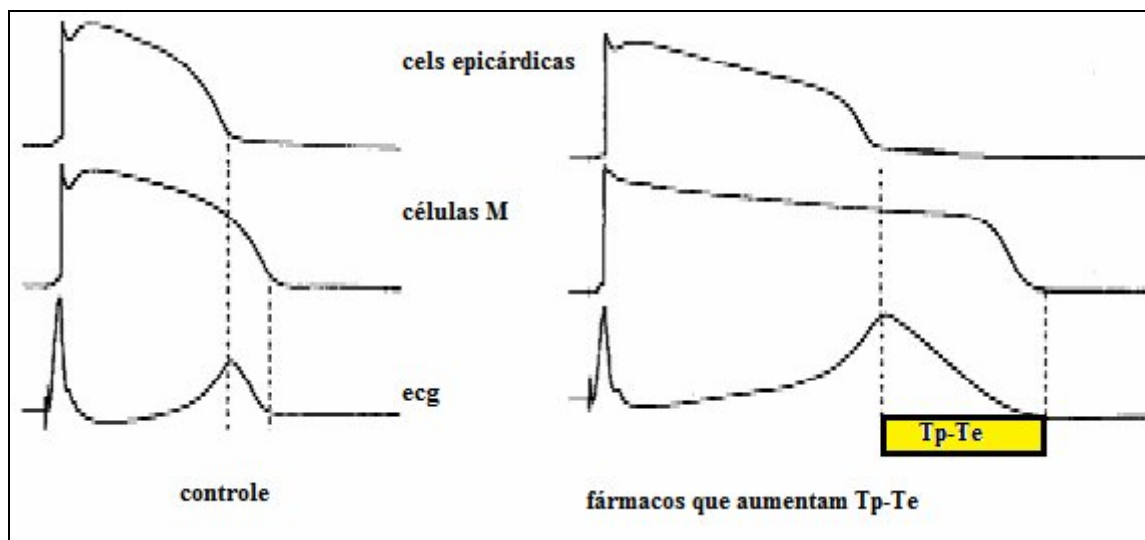


Figura 8: Representação esquemática genérica sem escalas, do efeito de fármacos que alteram o PA e aumentam Tp-Te. Fonte: Modificado de Valentim (2004).

4.4.3 Aumento do Intervalo QT

O prolongamento do intervalo QT é uma representação eletrocardiográfica do aumento da duração do potencial de ação nas células M, sendo o intervalo entre a despolarização e a repolarização ventricular (figura 9). Este intervalo pode elevar-se em situações envolvendo canalopatias congênicas ou em resposta a substâncias que prolonguem a duração do tempo do potencial de ação por meio da redução das correntes I_{Ks} , I_{Kr} , I_{K1} , aumento da I_{Ca} ou I_{Na} .

Modelos experimentais com fármacos mimetizam síndromes congênicas de síndromes do QT longo. Por exemplo, bloqueando I_{Kr} usando sotalol, mimetiza-se a síndrome LQT2 (SHIMIZU *et al*, 1997). Há grande prolongamento do tempo do potencial de ação das células M e aumento da duração do PA dos três tipos celulares (epicárdica, M e endocárdica), resultando numa baixa amplitude de onda T, aumento do intervalo QT, aumento da dispersão transmural de repolarização e desenvolvimento de “torsades de pointes”. Na presença de hipocalcemia, a onda T tem uma maior depressão,

com aparência entalhada similar à síndrome LQT2. Com o uso de isoproterenol, há o aumento da dispersão transmural da repolarização elevando a incidência de “Torsades de Pointes” (SHIMIZU *et al*, 2000).

No entanto, fármacos que prolongam o intervalo QT tais como a amiodarona, a dronedarona e o cisapril raramente estão associados à “Torsades de Pointes” (ANTZELEVITCH *et al*, 2005). A amiodarona bloqueia I_{Ks} , I_{Kr} e I_{Na} , produzindo um aumento do potencial de ação no epicárdio e no endocárdio, prolongando o QT, porém a dispersão de repolarização transmural é reduzida e a “torsades de pointes” não ocorre.

Isto sugere que a dispersão espacial da repolarização é mais importante que o prolongamento do intervalo QT para a ocorrência de “torsades de pointes” (figura 10). Desta forma, a presença isolada do aumento do intervalo QT não necessariamente está associada à presença destas arritmias.

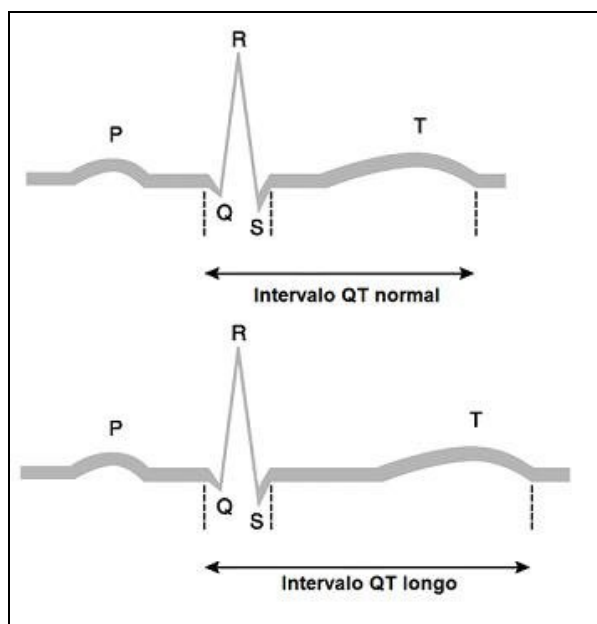


Figura 9: Representação esquemática do intervalo QT

Fonte: Arquivo de Cardiogeriatrics (2008).

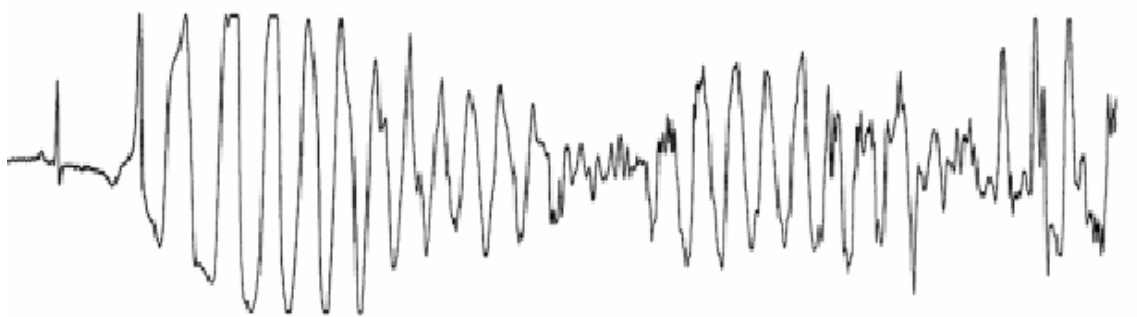


Figura 10: Traçado eletrocardiográfico de Torsades de Pointes. Fonte: Modificado de Journal of Cardiovascular Electrophysiology (2007).

4.5 ANTIPSICÓTICOS E ARRITMIAS

As fenotiazinas são fármacos utilizados no tratamento de distúrbios psicóticos, tendo como um dos seus representantes a tioridazina, cuja fórmula molecular $C_{21}H_{26}N_2S_2 \cdot HCl$, com peso molecular 407, utilizada em comprimidos 10, 25, 50 ou 100 mg, para uso oral. O efeito pró-arrítmico do fármaco é descrito desde a década de 60, com casos de morte súbita, com taquicardia ventricular e torsades de pointes, consequentemente ao bloqueio das correntes de potássio pelos canais de potássio tipo HERG (MILNES *et al*, 2006). O bloqueio dos canais de potássio e a lentificação do potencial de ação, com representação eletrocardiográfica pelo intervalo QT aumentado é dependente da dose de tioridazina utilizada. Isto explica o aumento do intervalo QT em alguns pacientes, e a ausência deste aumento em outros pacientes, com doses relativamente menores (BENOIT *et al*, 1999).

A trifluoperazina também é representante da classe das fenotiazinas com seus efeitos terapêuticos nos casos de psicose relacionados à sua ação central anti-adrenérgica e anti-dopaminérgica. Antagoniza a calmodulina e interfere com as ligações do cálcio com a calsequestrina, dificultando a recaptção de cálcio pelo retículo sarcoplasmático além de atuar sobre os canais RyR2, sensíveis à rianodina, no retículo sarcoplasmático, levando à abertura destes canais, com liberação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático. Em conjunto, estas ações levam ao aumento do cálcio citoplasmático, podendo levar à arritmias (JIA QIN *et al*, 2009).

A flufenazina é uma fenotiazina, utilizada em quadros psicóticos e possui ação no bloqueio de receptores alfa-adrenérgicos, com hipotensão e taquicardia reflexa, sendo também um potente bloqueador de canais de sódio voltagem dependente (XIAO, 2007).

Dentre estes três representantes das fenotiazinas, a tioridazina é o fármaco com grande potencial arritmogênico, sendo seu uso na prática clínica pertinente, porém reservado às situações de surtos psicóticos que não respondem de maneira adequada a outros fármacos antipsicóticos, com recomendação expressa em bula para monitorização de intervalos eletrocardiográficos, principalmente o intervalo QT, com risco de morte súbita provocada por taquicardia ventricular e torsades de pointes (WAYNE *et al*, 2002).

5 MATERIAIS E MÉTODO

Para atingir os objetivos propostos, propusemos os seguintes passos metodológicos, a seguir resumidamente e, na montagem experimental, o detalhamento de cada passo:

- Utilização de Metodologia de Langendorff, com coração isolado de rato para testes de fármacos e soluções com diferentes concentrações de Potássio, para mimetizar condições de hipo e hipercalémia.
- Experimentos exploratórios para definição do fármaco antipsicótico e sua dosagem para o estudo das alterações dos parâmetros eletrocardiográficos e arritmias encontradas. Realizados experimentos com tioridazina, trifluoperazina e flufenazina e, após análise de comportamento eletrocardiográfico e arritmias, optado por tioridazina.
- Análise de intervalos eletrocardiográficos na presença e na ausência de Tioridazina (droga escolhida), com o coração sendo perfundido com solução de Krebs-Henseleit normocalêmica, hipocalêmica e hipercalêmica.
- A partir dos traçados eletrocardiográficos com alterações significativas nas diferentes condições experimentais, definiu-se um novo parâmetro eletrocardiográfico indicativo de arritmogênese.

5.1 MONTAGEM EXPERIMENTAL

Para estudar o papel da Tioridazina, associada ou não às variações na concentração do Potássio, utilizou-se corações isolados de Ratos Wistar, machos, adultos, com 5 meses de idade, sacrificados por concussão cerebral. Este protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UMC (anexo). A solução de perfusão utilizada é a de Krebs-Henseleit (NaCl 126,4 mM; KCl 4,6 mM; KH₂PO₄ 1,2 mM; MgSO₄ 1,2 mM; NaHCO₃ 13,6 mM e Glicose 11,11 mM, em água destilada), pH 7,4, aquecida a 34°C e constantemente carbogenada (95% O₂ + 5% CO₂).

Os corações isolados foram montados na preparação de Langendorff em perfusão aberta (figura 11). Um reservatório de solução de Krebs-Henseleit (K-H) com capacidade de 150 ml de solução ligado à uma coluna de perfusão de polietileno com 82 cm de altura propiciam uma pressão hidrostática de 82 cm de água. O término desta coluna de perfusão está ligado à uma cânula que é posicionada na aorta, para perfundir o coração através das artérias coronárias.

O coração canulado permanece dentro de uma cuba de vidro, com dimensões de 3cm/3cm/3cm, onde a solução de K-H se deposita após a perfusão do coração e o excesso é aspirado por sucção à vácuo. A base e as laterais deste cubo estão envolvidas por estrutura de vidro que permite passagem de solução aquecida, mantendo a preparação a 34° C.

Dentro da cuba de vidro, posicionou-se dois eletrodos de prata de captação do sinal eletrocardiográfico e um eletrodo de prata de referência, posicionados próximo ao coração. Os eletrodos estão conectados ao Amplificador de Biopotenciais produzidos no Laboratório de Instrumentação Biomédica, com filtro de 1ª ordem passa - alta (3Hz), filtro de 3ª ordem passa-baixa (100Hz) e Filtro Notch (60Hz), acoplados em série.

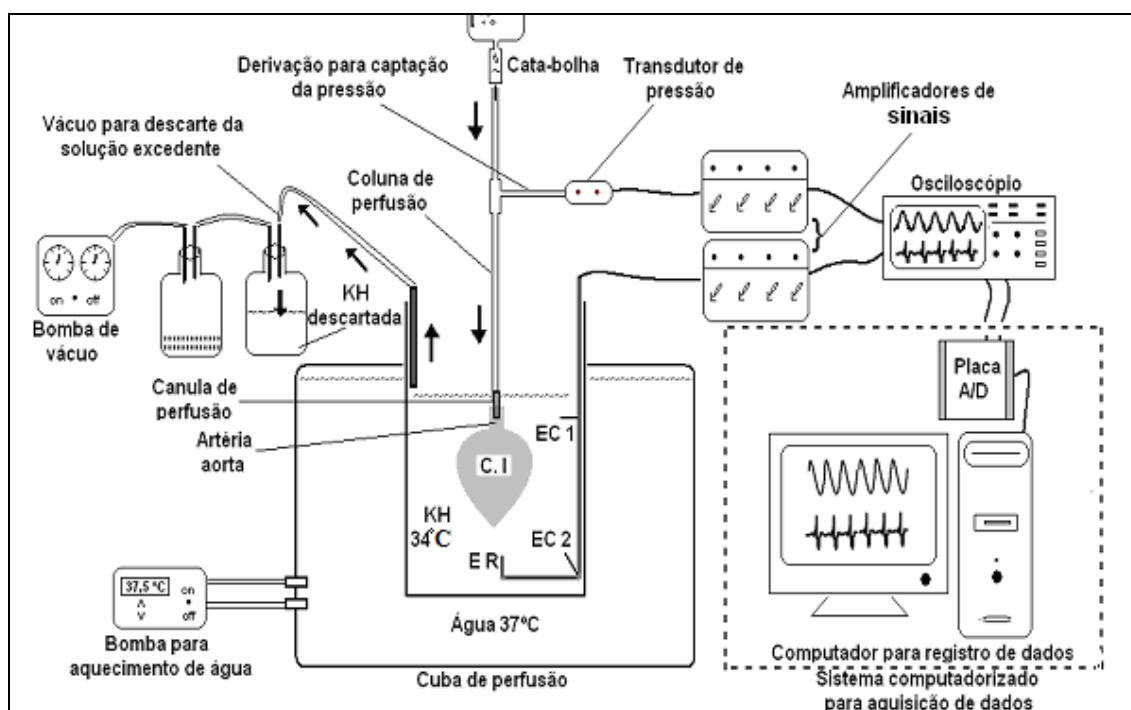


Figura 11: Esquema de Preparação de Langendorff.
Fonte: J. Viannei (2008).

Para cada coração isolado, fez-se perfusão de solução de Krebs-Henseleit por 40 minutos, denominado esta fase de período de estabilização do coração. O eletrocardiograma foi gravado continuamente, sendo utilizado o traçado referente aos 40 minutos de gravação. A seguir, a solução de Krebs-Henseleit foi trocado por solução de Krebs-Henseleit normocalêmica, hipocalêmica ou hipercalêmica, contendo ou não tioridazina, de acordo com o experimento realizado.

Os seguintes parâmetros foram medidos nos sinais eletrocardiográficos em intervalos de 1 a 5 minutos:

1- Intervalos eletrocardiográficos RR, PR, QRS e QT. A captura do sinal eletrocardiográfico é feita através de eletrodos de captação e referência conectados ao amplificador de biopotenciais (WPI-World Precision Instruments, Inc; ISO-DAM8);

2- Pressão ventricular esquerda. Este parâmetro foi obtido através de transdutor de pressão conectado à cânula de perfusão na aorta e ao amplificador de biopotencial (WPI), com medição contínua captada durante a sístole ventricular, por transmissão retrograda da pressão hidráulica na cânula de perfusão;

3- Fluxo de perfusão: Este parâmetro foi obtido através da contagem do gotejamento, em um minuto, no “cata-bolha” colocado em série com a linha de perfusão do coração, sendo que em cada 24 gotas representa o volume de um mililitro.

A pressão ventricular esquerda e o fluxo de perfusão foram medidos para acompanhar a viabilidade da amostra biológica durante os experimentos, e juntamente com o eletrocardiograma, armazenados por sistema de aquisição de dados (AqDados 7.02) e analisados no programa AqDAnalysis 7 (Lynx Tecnologia Eletrônica Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

5.2 OBTENÇÕES DE DADOS: PRIMEIRA FASE EXPERIMENTAL

5.2.1 Experimentos exploratórios

Inicialmente, com o conhecimento do potencial arritmogênico da tioridazina, perfundimos corações com solução de K-H, por 40 minutos e, a seguir, infundi-se tioridazina de duas formas, em “bolus” e por perfusão contínua, com diferentes concentrações, no intuito de avaliar a melhor forma de infusão do fármaco.

5.2.1.1 Tioridazina em “bolus”

A injeção em “bolus” da tioridazina é feita no tempo de 30 segundos, com 2 ml de solução na concentração desejada. Neste tempo de infusão mimetizamos o volume que correria na perfusão contínua em 30 segundos para minimizar artefatos decorrentes de aumento de pressão ventricular ou de perfusão do coração.

Com tioridazina na concentração 100 mM, houve morte imediata do coração, desencadeada por “Torsades de Pointes”. O mesmo ocorreu nas concentrações de 50 e 20 mM. Nas concentrações de 10 mM, houve a morte do coração, porém não de forma imediata, sendo possível análise eletrocardiográfica, porém as mudanças do traçado também eram súbitas. Concentrações de 1 a 2 mM desencadearam arritmias e alterações eletrocardiográficas de forma mais lenta, com melhor análise eletrocardiográfica.

5.2.1.2 Tioridazina em perfusão contínua

As concentrações empregadas foram de 1mM, 2mM, 2 μ M e 20 μ M, pois concentrações mais elevadas levam à morte imediata do coração na preparação de Langendorff. Testamos outras fenotiazinas, na forma de perfusão contínua, sem aplicação de “bolus”, também com o objetivo de escolha do melhor fármaco em termos de análise de parâmetros eletrocardiográficos e inducibilidade de arritmias.

A obtenção dos dados eletrocardiográficos realizou-se na ausência dos fármacos (grupo controle) e na presença das seguintes drogas dos grupos das fenotiazinas: tioridazina (Sigma Pharmaceutical, EUA), trifluoperazina (Sigma Pharmaceutical, EUA) e flufenazina (Sigma Pharmaceutical, EUA), com um conjunto de experimentos para a padronização da dose necessária e do tempo de perfusão para a indução de arritmias:

-Grupo Milimolar: Tioridazina, com concentração 1mM e 2 mM.

-Grupo Micro molar: Tioridazina, Trifluoperazina e Flufenazina com concentração 2 μ M e 20 μ M, sendo n=5 para cada fármaco e concentração.

Os dados eletrocardiográficos foram obtidos a partir de experimentos realizados em nosso laboratório juntamente com Marília Pissato Ferreira, aluna de graduação, bolsista do programa de iniciação científica da Universidade de Mogi das Cruzes, nos anos de 2008 e 2009).

Para todos os fármacos estudados, foi utilizada uma solução inicial de 10 mM, preparados no CIIB (Centro Interdisciplinar de Investigação Bioquímica) da Universidade de Mogi das Cruzes e gentilmente cedidos pelo Prof. Dr. Tiago Rodrigues, sendo então diluídas em Solução de Krebs para utilização na concentração desejada, num volume total de 150 ml, para perfundir o coração, calculado a partir da fórmula $C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$, onde C1 é a concentração inicial de Tioridazina (10mM), C2 é a concentração final desejada de tioridazina (20 μ M), V1 é o volume da solução inicial (em ml) a ser utilizado para que a concentração final seja alcançada e V2 é o volume final da solução (150ml). Assim, $10 \cdot V1 = 20 \cdot 10^{-3} \cdot 150$, portanto $V1 = 0,3$ ml. Portanto, utilizou-se 0,3ml de solução de Tioridazina 10 mM, em 149,7 ml de solução de Krebs para obter a concentração desejada no volume total de 150 ml.

Feito o mesmo cálculo para os demais fármacos, sempre no volume final de 150 ml para perfusão. Para a Tioridazina, utilizamos as concentrações de 1 e 2 mM e 2 e 20 μ M. Para a Trifluoperazina e Flufenazina, utilizamos 20 μ M.

Após os experimentos exploratórios, concluímos que a melhor opção é a tioridazina sob perfusão contínua, na concentração de 20 μ M, devido ao tempo de aparecimento das alterações eletrocardiográficas e arritmias desencadeadas, permitindo análise de todos os parâmetros eletrocardiográficos necessários.

5.3 OBTENÇÕES DE DADOS: SEGUNDA FASE EXPERIMENTAL

Uma vez estabelecido que a Tioridazina é a melhor opção para estudo, já com a opção da Tioridazina 20 μ M como fármaco de eleição, foram feitos experimentos para avaliação dos intervalos eletrocardiográficos P, PR, QRS, QT e RR, trabalho este realizado em conjunto com a aluna de iniciação científica da UMC Marília Ferreira Pissato, nas situações que mimetizam: normocalemia, hipocalemia, hipercalemia, hipocalemia associada à tioridazina, hipercalemia associada à tioridazina e somente tioridazina. A partir dos traçados eletrocardiográficos obtidos, foram reanalisados os eletrocardiogramas, agora com o intuito de estudar a variação do intervalo QT-QRS naquelas situações e, a seguir, Tp-Te nas situações onde houve variação estatisticamente significativa do QT-QRS, para o estabelecimento de correlações entre estes dois parâmetros. Vale lembrar que os termos hipocalemia e hipercalemia são termos utilizados na prática clínica, onde há diminuição ou aumento do potássio detectado em análise bioquímica de sangue e, nesta tese estes termos são utilizados para descrever

soluções perfusoras de Krebs-Henseleit com concentração de KCl 3mM e 6 mM, respectivamente.

Assim, para corações isolados em Langendorf, montamos os grupos com as seguintes soluções de perfusão:

- 1:Grupo controle com solução de Krebs-Henseleit normocalêmica (CONTROLE) (n=10)
- 2: Perfusão com solução de Krebs-Henseleit hipocalêmica (HIPO). (n=5)
- 3:Perfusão com solução de Krebs-Henseleit hipercalêmica (HIPER).(n=5)
- 4:Perfusão com solução de Krebs-Henseleit hipercalêmica associada à Tioridazina (HIPER+TR). (n=5)
- 5:Perfusão com solução de Krebs-Henseleit hipocalêmica associada à Tioridazina (HIPO+TR).(n=5)
- 6:Perfusão com solução de Krebs-Henseleit associada à Tioridazina (TR) .(n=5)

As soluções de Krebs-Henseleit tiveram como única mudança a variação do potássio proveniente do KCl, sendo considerada hipocalêmica com KCl 3,0 mM e hipercalêmica com KCl 6,0 mM.

O protocolo desta segunda parte do estudo, da mesma forma que nos estudos experimentais sob perfusão, foi o isolamento do coração e perfusão do mesmo em K-H normocalêmica. Após 40 minutos de estabilização do coração, modificou-se as soluções que o perfundem para a solução desejada (normo, hipo ou hipercalêmica), na presença ou ausência de tioridazina.

A perfusão pós-estabilização durou até 15 minutos, com eletrocardiograma gravado continuamente. Como a incidência de arritmias e morte foi em 100% dos corações analisados, com bloqueio atrioventricular total e arritmias ventriculares entre o 6^o e 7^o minutos de perfusão, escolhemos o tempo 5 minutos como parâmetro eletrocardiográfico ideal, previamente ao fenômeno fatal, sendo este o registro utilizado para medidas de QT-QRS e Tp-Te.

Nas medidas de QT-QRS e Tp-Te encontramos somente tecido cardíaco no estado de repolarização. A retirada do intervalo QRS tem por objetivo a exclusão de cardiomiócitos em estado de despolarização, já que se torna impossível eletrocardiograficamente definir quais estão em despolarização e quais já despolarizaram e iniciaram sua repolarização dentro deste intervalo.

O intervalo QT-QRS é uma proposta de análise eletrocardiográfica para o estudo do potencial de ação exclusivamente na sua fase de repolarização. Este intervalo foi avaliado em todos os grupos experimentais.

Após a análise estatística dos grupos, a escolha das situações envolvendo Tioridazina, associada ou não à condição de hipocalêmia, deu-se devido ao comportamento eletrocardiográfico com alterações significativas dos intervalos eletrocardiográficos PR, QRS, QT e QT-QRS e presença de arritmias, em relação ao grupo controle, onde há apenas a perfusão do coração com solução de Krebs normocalêmica, na ausência de fármacos. Nestes grupos, realizou-se a medição do intervalo Tp-Te, para estabelecer uma possível correlação entre a variação dos intervalos QT- QRS e Tp- Te com mecanismos de arritmia, particularmente a atividade deflagrada.

Para tanto, separou-se os seguintes traçados eletrocardiográficos dos grupos de animais para a medição dos intervalos QT-QRS e Tp-Te:

Controle: N= 10

Hipocalêmia com Tioridazina: N= 05

Tioridazina N= 05

5.4 MEDIÇÕES DOS INTERVALOS

Foram realizadas as medidas dos intervalos P, PR, QRS, QT na derivação eletrocardiográfica equivalente à D2. Especificamente para QT e QRS, as medidas dos intervalos foram realizadas em milissegundos, com uma média de 3 batimentos consecutivos. A subtração do período do QRS do intervalo QT foi denominada de “QT-QRS”, sendo seu resultado dado em milissegundos e medidas com 5 minutos de perfusão de tioridazina.

A análise da morfologia da onda T (figura 12) foi realizada com um traçado vertical e perpendicular posicionado na transição entre a parte final do segmento ascendente e a parte inicial do segmento descendente (ápice da onda T). Outra linha vertical no término da onda T, perpendicular, foi traçada, sendo a distância avaliada entre o pico da onda T e o término da onda T denominada de “Tp-Te”. O resultado de “Tp-Te” foi expresso em milissegundos e medido com 5 minutos de perfusão de tioridazina.

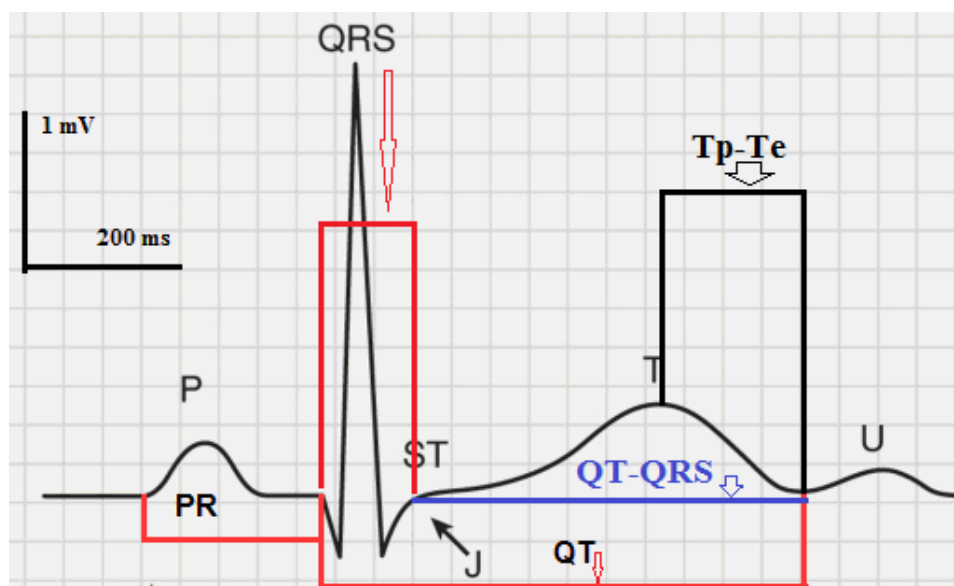


Figura 12: Parâmetros eletrocardiográficos medidos: P, PR, QRS, QT e Tp-Te.
 Fonte: Modificado de Braunwald, Tratado de Cardiologia (2010).

As arritmias estão descritas de acordo com a Convenção de Lambeth, que caracteriza os parâmetros eletrocardiográficos encontrados nas arritmias supraventriculares, ventriculares, taquicardias supraventriculares e ventriculares, bloqueios atrioventriculares e assistolia (WALKER *et al* , 1988).

5.5 MÉTODOS DE ANÁLISE DE DADOS

A metodologia aplicada foi o uso de análise de variância (ANOVA- Analysis of Variance), onde foi comparada a variabilidade das médias de todas as amostras com a variabilidade dentro das amostras, com $p < 0,0001$, associado ao Teste de Tukey-Kramer, com significância estatística considerada para $p < 0,05$ (apêndice).

6 RESULTADOS

EFEITO DE FENOTIAZINAS SOBRE OS INTERVALOS ELETROCARDIOGRÁFICOS RR, PR, QRS E QT

6.1: EXPERIMENTOS EXPLORATÓRIOS (PRIMEIRA FASE DE EXPERIMENTOS):

Nesta primeira fase, iremos estabelecer o melhor fármaco para a indução de arritmias, a dose e o modo de infusão.

Na figura 13 está ilustrado o Eletrocardiograma (ECG) de um coração de rato Wistar do Grupo milimolar, sendo A, o controle sem tioridazina e B o grupo com 5 minutos de perfusão de tioridazina, em que todos os intervalos medidos no eletrocardiograma aumentaram em relação aos obtidos na condição de ausência da tioridazina. Durante a estabilização, os intervalos RR, PR, QRS e QT não se alteraram, exibindo valores, respectivamente de (em ms): 451; 97; 97 e 210. Aos 5 minutos de ação da droga houve aumento significativo dos mesmos para, respectivamente (em ms): 484, 113; 129 e 242. As medidas são feitas em pelo menos 3 segmentos de traçado eletrocardiográfico.

No entanto, os aumentos nos intervalos já foram aparentes aos 2 minutos após a perfusão da Tioridazina. As médias obtidas para os parâmetros do Grupo Milimolar (N=5), em função do tempo de ação da droga Tioridazina são representadas na figura 13, em que são ilustradas a ação da Tioridazina, na concentração 2 mM, sobre o ECG

No traçado eletrocardiográfico, obtido aos 10 minutos de ação do fármaco, obteve-se Bloqueio Átrio-Ventricular Total (BAVT, figura 14), logo após episódio de torsades de pointes. Em três experimentos obtivemos Taquicardia Ventricular, como a ilustrada na figura 15.

Na Figura 16, é representado o ECG de um coração de rato Wistar do Grupo Micromolar, sendo A o controle antes da perfusão de tioridazina e B após 15 minutos de perfusão com Tioridazina na concentração de 20 μ M. Todos os intervalos eletrocardiográficos aumentaram em relação aos obtidos na condição de ausência do fármaco.

Aos quinze minutos de ação da droga obtivemos respectivamente os seguintes valores para RR, PR, QRS e QT (em ms): 435,5; 645; 161; 274. O grupo controle por sua vez, exibiu, respectivamente, os seguintes valores (em ms): 451; 64; 120 e 193. As médias obtidas para os parâmetros eletrocardiográficos do Grupo 2 (N=5) estão representadas na figura 17, com a ação da Tioridazina 20 μ M.

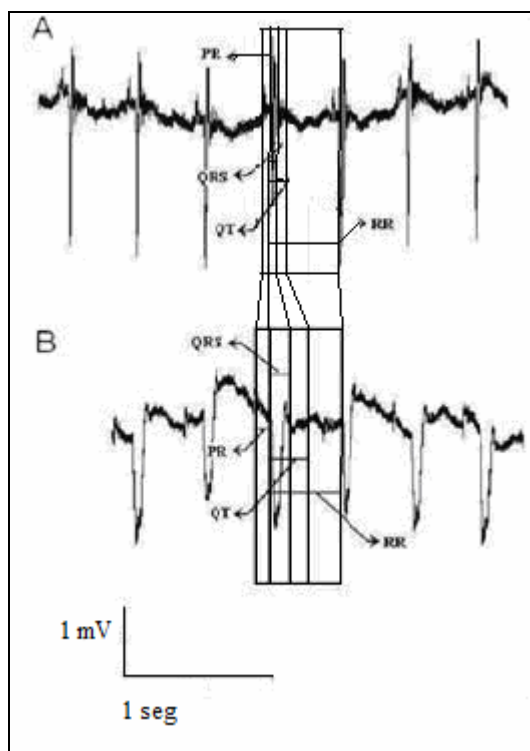


Figura 13: Traçado eletrocardiográfico de um coração isolado de rato no qual se indica os intervalos medidos - Grupo milimolar, com A: ausência de tioridazina e B: presença de tioridazina (2 milimolar), aos 5 minutos de perfusão. Os valores dos intervalos na ausência e na presença de droga foram respectivamente (RR 451 ms / 484 ms; PR 97 ms / 113 ms, QRS 97ms / 113ms, QT 210 ms / 242 ms).

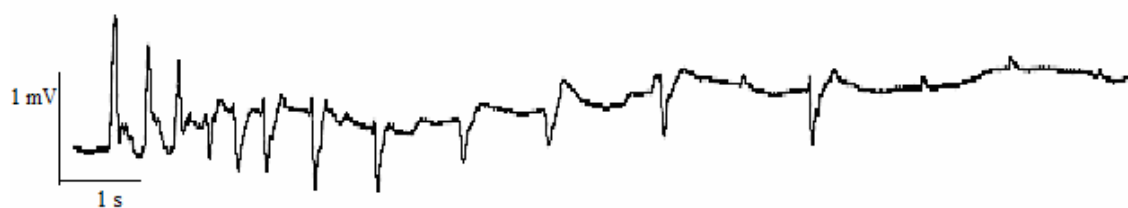


Figura 14: Traçado eletrocardiográfico de um coração isolado de rato exibindo bloqueio atrioventricular total pós torsades de pointes,, induzida por tioridazina (2 mM), com 10 minutos de perfusão de tioridazina.

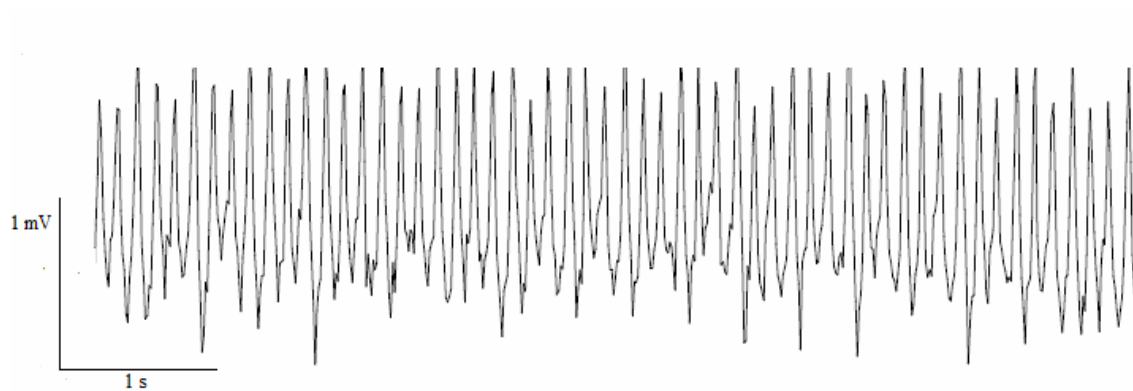


Figura 15: Traçado eletrocardiográfico de um coração isolado de rato exibindo taquicardia ventricular, induzida por tioridazina (2 mM).

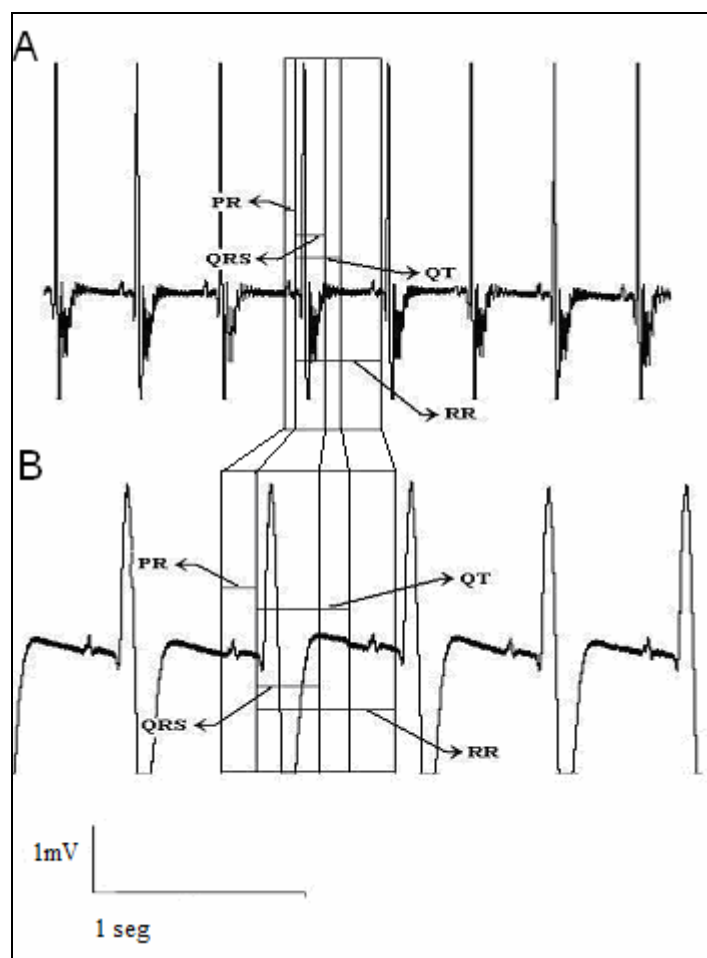


Figura 16: Traçado eletrocardiográfico de um coração isolado de rato com indicação dos intervalos medidos. Grupo micromolar com A: ausência de tioridazina e B: presença de tioridazina 20 micromolar, com 15 minutos de perfusão. Os valores dos intervalos na ausência e na presença da droga foram respectivamente: RR (451 ms/645ms; PR 64 ms / 161 ms; QRS 120ms / 274 ms; QT 193 ms /435 ms).

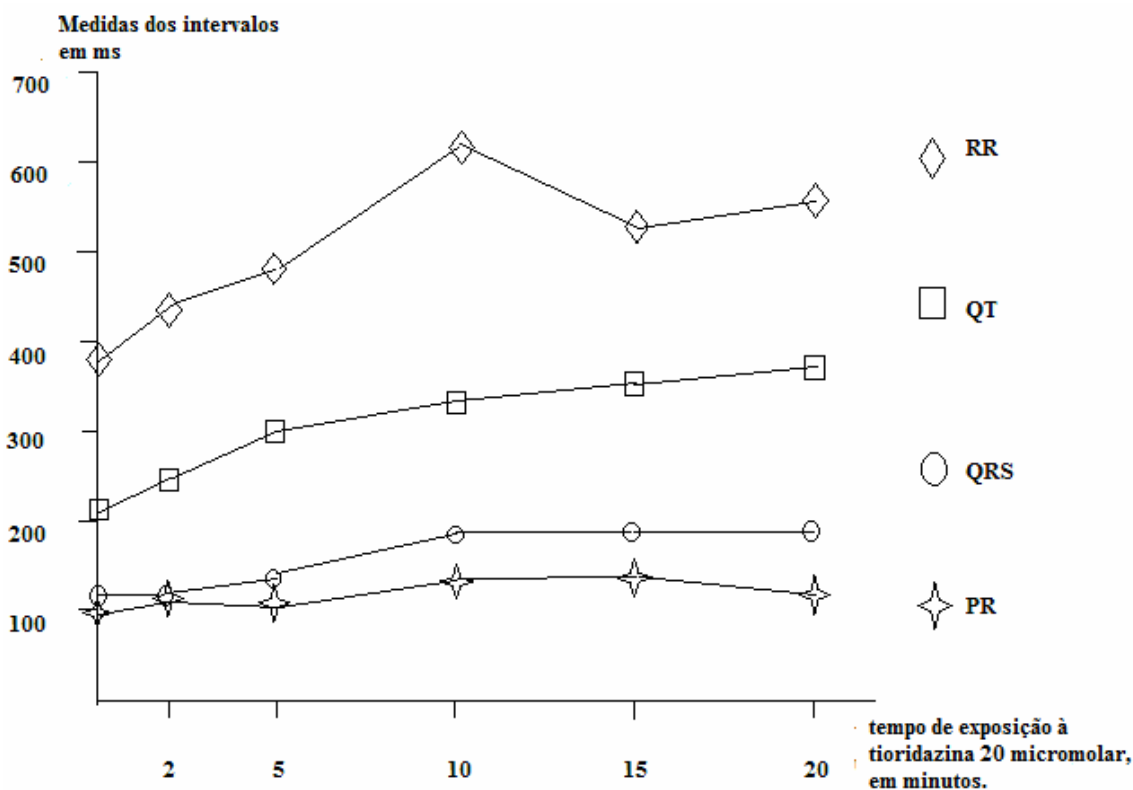


Figura 17: Intervalos RR, PR, QRS e QT em função do tempo de exposição aos fármacos do Grupo micromolar (Tioridazina, 20 μ M). Medidas expressas como média (N=5). Acima do tempo 10 minutos, os índices encontrados são dos corações sobreviventes às diversas arritmias.

O aumento do intervalo RR representa uma queda de frequência cardíaca, com bradicardia que evoluía para bloqueio atrioventricular, arritmia ventricular ou assistolia.

A queda do intervalo RR após 15 minutos é explicada por arritmias ventriculares, onde a frequência cardíaca aumentava, diminuindo o RR.

Os demais intervalos (PR, QRS e QT) aumentaram com o tempo de exposição ao fármaco, continuamente até o término dos experimentos.

Os resultados obtidos no Grupo micromolar são similares aos obtidos no Grupo miliMolar, ou seja, aumento dos intervalos RR, PR, QRS e QT em relação à condição de ausência do fármaco. Porém o surgimento do BAVT no grupo micromolar, ocorreu cerca de 7 a 9 minutos após a aplicação dos fármacos, necessitando um período maior de ação da droga para a resposta eletrocardiográfica citada.

Mesmo ao cessar a perfusão dos fármacos, quando em doses menos elevadas (Grupo micromolar) e, ao lavar o coração isolado com solução de Krebs-Henseleit, não se obteve sucesso na reversão do quadro do BAVT.

De maneira geral, as alterações nos intervalos RR, PR, QRS e QT foram significativas na presença de fenotiazinas, bem como a velocidade no desenvolvimento

do BAVT foi maior com o aumento da concentração das mesmas. Na maioria dos experimentos houve cessação imediata da atividade ventricular quando da instalação do BAVT, com alargamento do QRS previamente ao término da atividade ventricular. A partir destes dados, a tioridazina, na concentração de 20 μM , foi a droga escolhida para a continuidade dos estudos, com alterações significativas dos intervalos eletrocardiográficos de forma menos abrupta, permitindo uma análise adequada dos parâmetros eletrocardiográficos pré e pós o desencadeamento do fenômeno arritmogênico. Todos os parâmetros foram medidos com 5 minutos de perfusão, antes do fenômeno arritmogênico.

6.2 SEGUNDA FASE DE EXPERIMENTOS

6.2.1 Efeito da Tioridazina sobre os intervalos eletrocardiográficos.

Após o grupo de experimentos exploratórios, com a tioridazina 20 μM como droga de escolha, foram utilizados os seguintes grupos de experimentos animais para obtenção dos dados eletrocardiográficos utilizados nos parâmetros QT-QRS e Tp-Te :

- 1-Controle (n=5)
- 2-Hipocalemia (n=5)
- 3-Hipercalemia (n=5)
- 4-Hipercalemia com tioridazina (n=5)
- 5-Hipocalemia com tioridazina (n=5)
- 6-Tioridazina (n=5)

A figura 18 ilustra os pontos de referência para medidas dos intervalos QT, QRS e QT-QRS, obtidos de um traçado experimental de coração isolado de rato wistar.

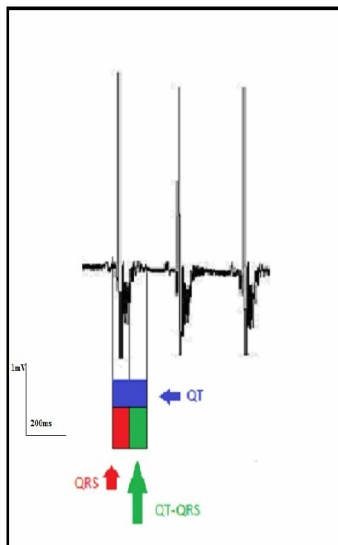


Fig 18: Pontos de referência para medição do QT-QRS, obtidos no traçado experimental de rato Wistar.

Na tabela I se apresenta as médias (\pm desvio padrão) dos intervalos eletrocardiográficos estudados. Os dados desta tabela são também apresentados em forma de gráficos na figura 19.

Tabela I: Média (\pm desvio padrão) dos intervalos eletrocardiográficos (em ms).

Amostras Experimentais	Intervalos Eletrocardiográficos Estudados				
	P	PR	QRS	QT	QT-QRS
Controle	65 \pm 19	95 \pm 25* $\$$	114 \pm 26*	215 \pm 58* $\&\#$	101 \pm 42 $\#*\$$
Hipocalemia	49 \pm 10* $\wedge\&$	77 \pm 7 $\wedge\&\#$	123 \pm 15	260 \pm 40*	139 \pm 36
Hipercalemia	76 \pm 17	114 \pm 31	124 \pm 45	254 \pm 87	130 \pm 53
Hipercalemia+Tioridazina	78 \pm 17 \wedge	111 \pm 17*	138 \pm 28	299 \pm 43	164 \pm 33 $\#$
Hipocalemia+Tioridazina	85 \pm 10 $\&$	125 \pm 10 $\&$	120 \pm 0	390 \pm 20 $\&$	270 \pm 20 $\$$
Tioridazina	93 \pm 11*	133 \pm 15 $\#\$$	173 \pm 46*	360 \pm 69 $\#$	186 \pm 23* \wedge

Os símbolos *, \wedge , $\$$, $\#$, $\&$, indicam diferenças estatísticas sobre as médias, em relação às amostras experimentais para cada intervalo.

Para a onda P em relação ao grupo controle:

-Hipocalemia, hipercalemia, hipercalemia com tioridazina, hipocalemia com tioridazina e tioridazina não possuem significância estatística em relação ao grupo controle. Há significância estatística quando comparadas as situações de hipocalemia com hipercalemia associada à tioridazina, hipocalemia com tioridazina ou somente tioridazina sendo a duração da onda P maior na presença de tioridazina, supondo uma influência no aumento do tempo de repolarização atrial.

Para o intervalo PR em relação ao grupo controle:

-Hipocalemia possui intervalo PR discretamente diminuído, sem significância estatística.

-Hipercalemia com PR discretamente aumentado sem significância estatística.

-Hipercalemia com tioridazina com PR aumentado.

-Hipocalemia e hipocalemia com tioridazina com PR aumentado, sem significância estatística.

-Tioridazina aumenta o intervalo PR. Há significância estatística quando comparadas as situações de hipocalemia com hipocalemia com tioridazina ou somente tioridazina, com aumento do PR.

Para o Complexo QRS em relação ao controle:

-Hipocalemia, hipercalemia, hipocalemia com tioridazina e hipercalemia com tioridazina aumentaram o intervalo QRS, sem significância estatística.

-Tioridazina aumentou o QRS.

Para o intervalo QT em relação ao grupo controle:

-Hipocalemia, hipercalemia e hipercalemia com tioridazina aumentam o intervalo QT, sem significância estatística. Hipocalemia e hipocalemia com tioridazina aumentam o intervalo QT.

-Tioridazina aumentou o intervalo QT.

6.2.2 Efeito da Tioridazina sobre o intervalo QT – QRS

Para o intervalo QT-QRS em relação ao grupo controle:

- Hipocalemia e hipercalemia aumentam o intervalo QT-QRS, sem significância estatística.
- Hipercalemia com tioridazina aumenta o intervalo QT-QRS somente em relação ao grupo controle.
- Tioridazina aumenta o intervalo QT-QRS e, quando associado à hipocalemia há um aumento ainda maior do intervalo QT-QRS, sendo significativo tanto em relação ao grupo controle como em relação à tioridazina isoladamente.

Fatores que influenciam o desvio padrão envolvem o estresse do animal, pré-concussão cerebral e tempo de retirada do coração da caixa torácica e seu preparo para a perfusão (em torno de 90 a 120 segundos, entre a retirada do coração da caixa torácica e início da perfusão).

O intervalo RR indica a frequência cardíaca (quanto maior o intervalo RR, menor será a frequência cardíaca e vice-versa). O RR aumenta nas situações de arritmias caracterizadas por bloqueio atrioventricular e diminui nas taquicardias supraventriculares e ventriculares, pela alta frequência cardíaca destas arritmias. Devido à variabilidade das arritmias desencadeadas nas diferentes condições experimentais, não foi utilizado para ser comparado em relação ao grupo controle. A diminuição ou aumento do RR relaciona-se diretamente ao tipo de arritmia observada.

A representação gráfica dos resultados dos intervalos P, PR, QRS e QT são representados na figura 19.

Nas figuras 20, 21 e 22 foram representados com traçados eletrocardiográficos alguns experimentos com alterações do parâmetro QT-QRS de corações nas seguintes condições experimentais, onde houve relevância estatística no aumento deste intervalo: grupos controle; perfusão de tioridazina e perfusão de tioridazina com solução hipocalêmica.

Na figura 20, há a representação de um traçado do grupo controle, com intervalo QT- QRS, com o valor de 100 ms.

Na figura 21, na presença de tioridazina, o intervalo QT-QRS eleva-se para 250 ms e, quando associamos hipocalemia à tioridazina (figura 22), o QT-QRS atinge 390 ms.

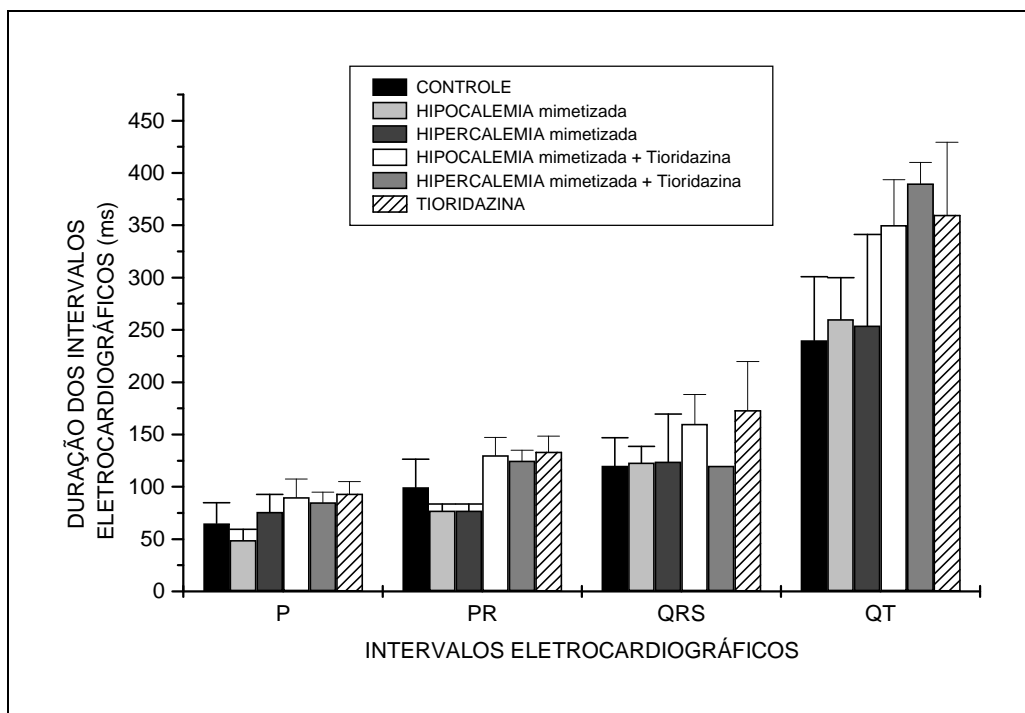


Figura 19: Valores de intervalos eletrocardiográficos nas diferentes amostras experimentais (dados expressos como média \pm desvio padrão).

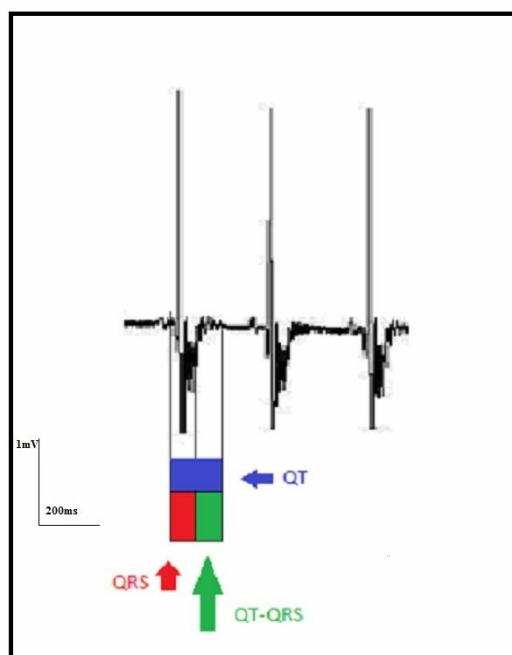


Figura 20: Intervalo QT-QRS em exemplo de ECG na condição experimental: controle.

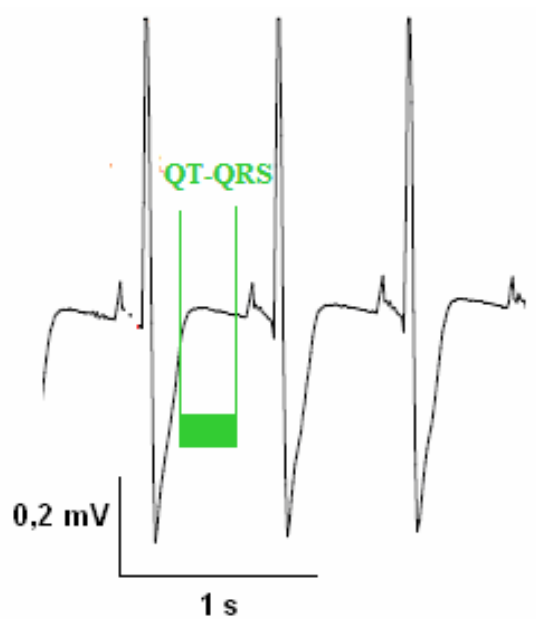


Figura 21: Intervalo QT-QRS em exemplo de condição experimental: perfusão de Tioridazina

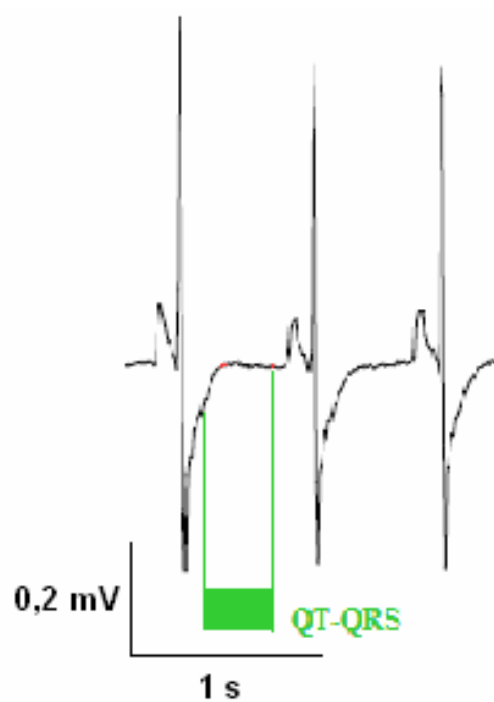


Figura 22: Intervalo QT-QRS em exemplo de condição experimental: perfusão de Tioridazina + solução hipocalêmica.

Na figura 23 são mostrados os gráficos das médias dos intervalos QT-QRS nas diferentes amostras experimentais. Segundo a análise estatística efetuada entre as amostras, obtivemos:

- 1) Na presença de tioridazina há o aumento do intervalo QT-QRS em relação ao grupo controle.
- 2) Na presença de tioridazina com hipercalemia há o aumento do intervalo QT-QRS em relação ao grupo controle.
- 3) Na presença de hipercalemia não há diferença estatística em relação ao grupo controle.
- 4) Na presença de tioridazina com hipocalemia há o aumento do intervalo QT-QRS em relação ao grupo controle e em relação aos grupos tioridazina, hipocalemia e tioridazina com hipocalemia.

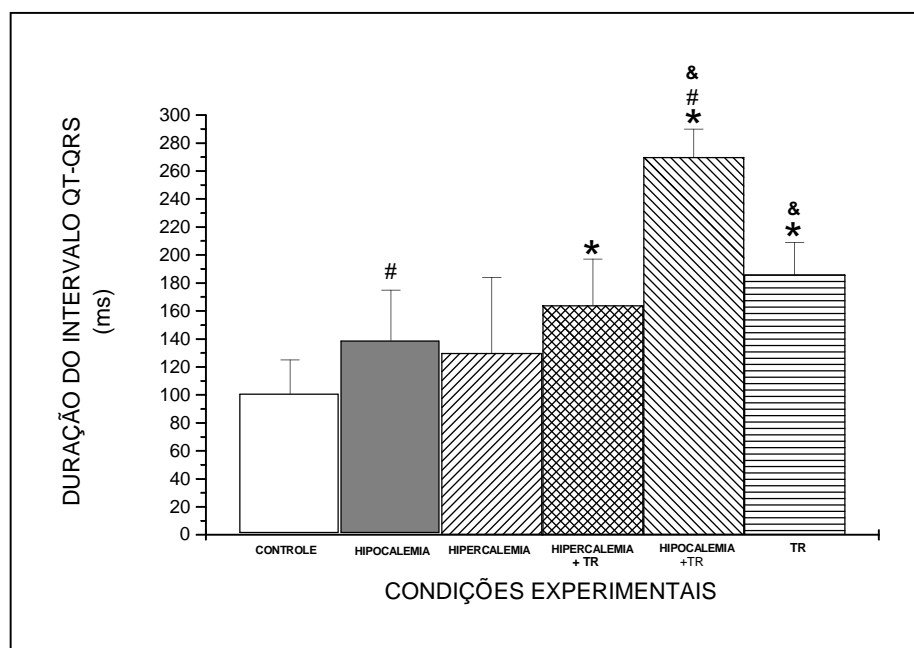


Figura 23: Exacerbação da duração do intervalo QT-QRS, com média e desvio padrão nas diversas amostras experimentais. Os símbolos *, # e & expressam diferenças estatísticas entre as médias ($p < 0,05$).

6.2.3 Efeito da Tioridazina sobre o intervalo Tp - Te

Os valores médios de Tp-Te nas condições controle, tioridazina e tioridazina associada à hipocalemia foram 80 ± 0 ms, 160 ± 16 ms e 210 ± 20 ms, respectivamente. Nas figuras 24 e 25, há a representação esquemática das medidas Tp- Te nas diferentes

situações experimentais estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (tioridazina e hipocalcemia associada à tioridazina).

Na figura 24, o intervalo Tp-Te foi de 160 ms, somente com tioridazina. Na figura 25, com a hipocalcemia associada, o Tp-Te atingiu 200 ms.

A figura 26 ilustra o gráfico das médias do intervalo Tp-Te nas diferentes condições experimentais. As médias das condições experimentais com tioridazina e tioridazina com hipocalcemia são maiores que o grupo controle, de forma significativa, indicando um aumento do tempo de repolarização ventricular, o que indica uma maior taxa de dispersão da repolarização, facilitando a arritmogênese. Da mesma forma que o intervalo QT-QRS, houve uma intensificação do aumento do Tp-Te na presença de tioridazina associada à hipocalcemia.

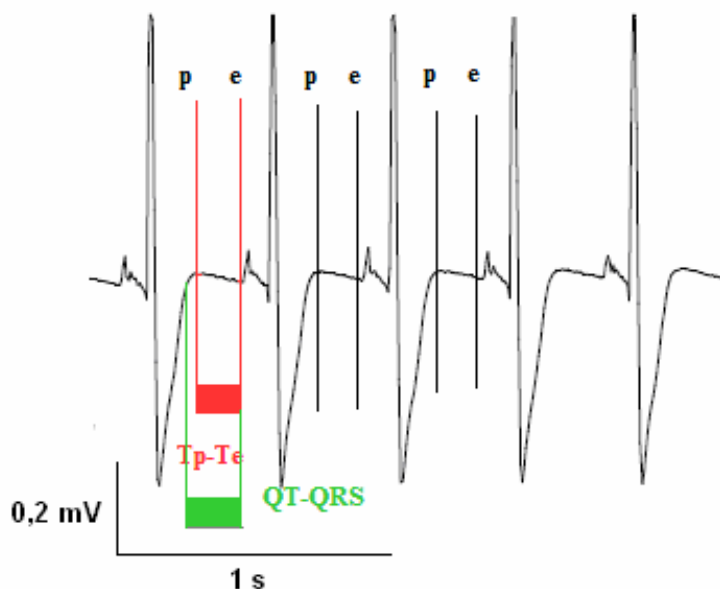


Figura 24: Traçado representativo de Tp-Te na presença de Tioridazina

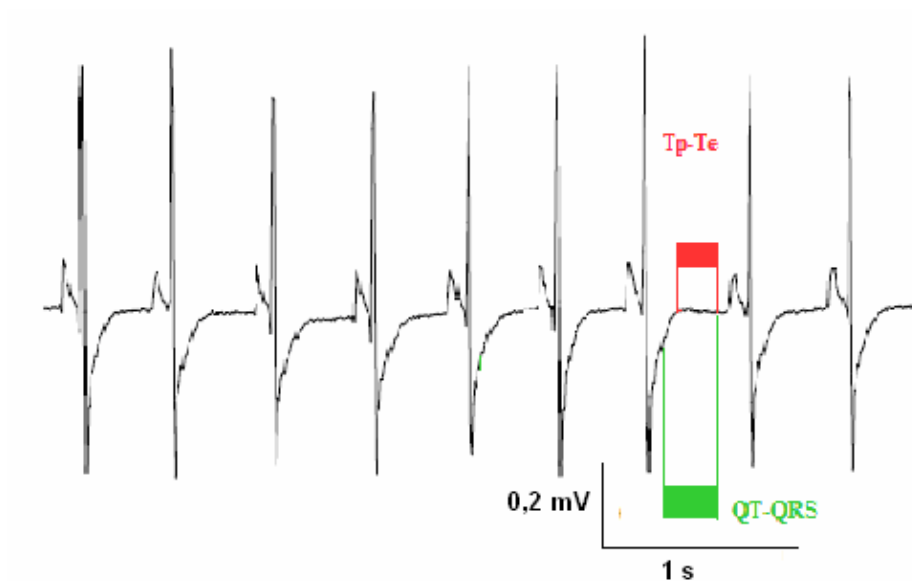


Figura 25: Traçado representativo de Tp-Te na presença de Tioridazina e Hipocalemia

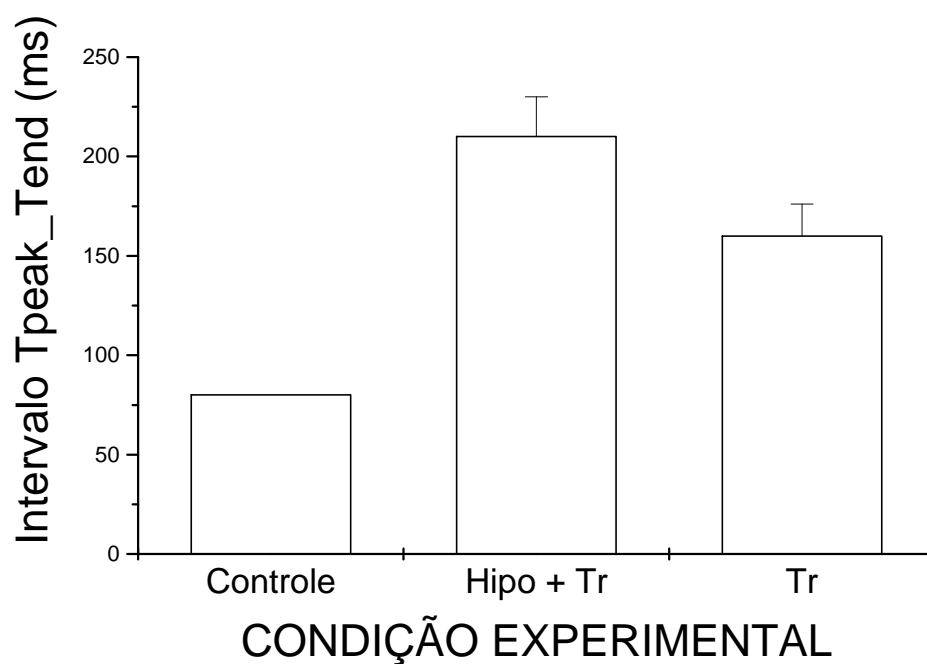


Figura 26: Intervalo Tp-Te nas amostras experimentais (hipo=hipocalemia; TR=tioridazina).

Em suma, o aumento do intervalo QT-QRS e Tp-Te, na presença de tioridazina e tioridazina com hipocalemia, em relação ao grupo controle, revelando um aumento no tempo de repolarização e maior dispersão da repolarização, oferece subsídios experimentais à atividade deflagrada como mecanismo das arritmias desencadeadas, cuja discussão vem a seguir.

7 DISCUSSÃO

Neste trabalho medimos as influências de situações que mimetizam hipocalemia e hipercalemia sobre o efeito da tioridazina nos intervalos eletrocardiográficos e na indução de arritmias de coração isolado de rato wistar macho adulto. Isto foi feito para, a partir das alterações que ocorrerem na duração do potencial ventricular naquelas condições experimentais, tentar estabelecer o possível mecanismo arritmogênico envolvido nas arritmias induzidas por fenotiazinas, através de parâmetros eletrocardiográficos.

A análise de parâmetros eletrocardiográficos de resultados obtidos com a infusão de fármacos, em corações isolados de ratos perfundidos com solução de Krebs-Henseleit (Preparação de Langendorff), é um modelo *in vitro* considerado como sendo uma valiosa ferramenta para estabelecer ou dar indícios de risco cardiovascular de compostos farmacológicos (VALENTIM *et al*, 2004).

Na perfusão com Tioridazina, houve um aumento do intervalo QT - QRS e aumento do intervalo Tp-Te, em relação ao grupo controle, indicando a lentificação da repolarização ventricular. Aumentos do intervalo QT e Tp-Te, que surgem com o aumento do tempo de repolarização ventricular, estão relacionados às arritmias ventriculares, tais como Torsades de Pointes (HAVERKAMP *et al*, 2000; YAP *et al*, 2000; REDFERN *et al*, 2003), conferindo utilidade metodológica à abordagem que fizemos com estas drogas.

Na presença de solução hipocalêmica perfundindo o coração, há uma situação que se assemelha à hipocalemia detectada bioquimicamente no plasma circulante e que pode aumentar o potencial de repouso da membrana, levando ao aumento da duração do Potencial de Ação e da duração do período refratário podendo desencadear arritmias por reentrância ou atividade deflagrada (AJIOKA *et al*, 1986; HELFANT *et al*, 1986; MALAFRONTÉ *et al*, 1986). Os mecanismos arritmogênicos desta arritmia são diferentes, bem como a conduta terapêutica (medicamentosa ou invasiva).

Nos experimentos do presente trabalho, a situação isolada de hipocalemia não interferiu estatisticamente com o novo intervalo proposto QT-QRS. Porém, quando o coração de ratos wistar machos adultos, na preparação de Langendorff, é perfundido com solução hipocalêmica juntamente com tioridazina, aquele intervalo aumentou inclusive em relação ao parâmetro proposto QT-QRS somente com a perfusão de

tioridazina. Como a somatória de eventos (hipocalemia + tioridazina) apresentou um aumento significativo de QT - QRS, o efeito da hipocalemia intensificou o efeito arritmogênico da tioridazina, possivelmente por potencializar estes efeitos sobre o tempo total do potencial de ação. Esta potencialização pode ser explicada, em parte, por um meio intracelular mais eletronegativo na hipocalemia em relação à situação normocalêmica, conseqüentemente aumentando o tempo de duração do potencial de ação (lentificação), dando indícios que as arritmias desenvolvidas podem estar relacionadas a este aumento do tempo de duração do potencial de ação.

O intervalo Tp - Te é um parâmetro eletrocardiográfico que representa o índice da dispersão transmural da repolarização ventricular (ANTZELEVITCH *et al*, 2008), Por sua vez, o aumento da dispersão transmural é comum em modelos de síndromes de QT longo, com desenvolvimento de “torsades de pointes” (SHIMIZU *et al*, 2000), sendo mais eficaz em predizer a possibilidade de Torsades de Pointes do que o intervalo QT corrigido (YAMAGUCHI *et al*, 2003).

Outra forma que utilizamos para analisar o tempo de repolarização, sem influência da modulação autonômica, da largura de intervalo QRS e da frequência cardíaca, foi a medição do intervalo Tp-Te do eletrocardiograma, sendo esta mais uma das ferramentas descritas na literatura para a compreensão da arritmogênese (LITOVSKY *et al*, 1988; LIW *et al*, 1993; ANTZELEVITCH *et al*, 1998,1999).

Assim, foram medidos os intervalos Tp – Te nas situações onde o coração foi perfundido com K-H normal, Tioridazina e Tioridazina associada à K-H hipocalêmico, ou seja, nas mesmas situações onde se avaliou o intervalo QT - QRS. Na experimentação com tioridazina, houve um aumento do intervalo Tp - Te, sugerindo a importância fisiológica da interferência deste fármaco na repolarização ventricular e na dinâmica do potássio, em concordância com os resultados obtidos pelo intervalo QT - QRS. Quando o coração é perfundido com solução hipocalêmica e com tioridazina, o intervalo Tp - Te aumenta em relação ao controle e em relação ao grupo TR, mais uma vez sugerindo atividade potencializadora da ação da Tioridazina.

A Presença de pós-potenciais precoces ou pós-potenciais tardios poderiam explicar arritmias por atividade deflagrada, pois extra-estímulos poderiam atingir o cardiomiócito no seu período refratário relativo, que possivelmente está aumentado em virtude das condições experimentais utilizadas, representadas no aumento dos intervalos QT - QRS e Tp – Te. Por outro lado, a reentrada existe quando o impulso cardíaco, em

vez de se extinguir, encontra um caminho de tecido fora do período refratário, permitindo o seu retorno e nova despolarização total ou parcial do coração (ANTZELEVITCH *et al*, 2001). Este modelo animal mostra que a variação do tempo de repolarização ventricular, ou seja, o aumento deste tempo, representado pelo intervalo QT - QRS e Tp - Te, está relacionado com elevada incidência de arritmias, sejam arritmias por bloqueio atrioventricular ou arritmias supraventriculares e ventriculares, com características distintas do mecanismo de atividade deflagrada.

Os traçados eletrocardiográficos obtidos nas diferentes condições experimentais deste trabalho (tioridazina ou tioridazina associada à hipocalemia) mostram um aumento do intervalo QT - QRS e aumento do intervalo Tp-Te, em ambas as situações experimentais, quando comparadas ao grupo controle, sendo este aumento ainda maior na situação de tioridazina associada à hipocalemia. Desta forma, a lentificação do potencial de ação, decorrente do aumento do tempo de repolarização, poderia ser explicada, pelo menos em parte, pelo aumento da dispersão da repolarização no ventrículo e ao aumento do tempo de decaimento da onda T, com aumento do tempo do período refratário relativo, propiciando subsídios para a ocorrência de atividade deflagrada.

A atividade deflagrada tem no aumento da condutância ao cálcio o substrato necessário para a gênese de pós-despolarizações precoces e pós-despolarizações tardias. Um recente trabalho de Jia Qin (2009), demonstrou que a trifluoperazina, uma fenotiazina, possui uma ação no receptor de rianodina, favorecendo a liberação de Cálcio pelo retículo sarcoplasmático, esgotando suas reservas de Ca^{++} e impedindo a sua recaptção, através do antagonismo à calmodulina. O antagonismo à calmodulina também é descrito em relação à tioridazina (BRUTON *et al*, 2003).

Assim, na presença de tioridazina, associada ou não à situação de hipocalemia, há um aumento no tempo de repolarização ventricular, representados eletrocardiograficamente pelo aumento dos intervalos QT- QRS e Tp – Te.

A lentificação do potencial de ação é uma condição que pode levar a arritmias desencadeadas por atividade deflagrada. A atividade deflagrada, por sua vez pode ser desencadeada por ondas de cálcio liberadas pelo retículo sarcoplasmático. A tioridazina, por sua ação de bloqueio da recaptção do cálcio pelo retículo sarcoplasmático propicia o substrato necessário (cálcio) para geração de pós-potenciais que deflagram extra-estímulos, iniciando arritmias por atividade deflagrada.

Desta forma, no modelo experimental do presente estudo, os seguintes fatos experimentais não corroboram a hipótese de que o mecanismo observado é a reentrância:

1) Para que haja reentrada anatômica deve haver substrato anatômico com bloqueio de condução unidirecional. No entanto, não foi realizado na preparação qualquer tipo de incisão cirúrgica sobre tecido de condução, já que a experimentação com tioridazina em metodologia de Langendorff envolve o isolamento do coração com a retirada do mesmo por incisão nos vasos da base do coração.

2) A metodologia de Langendorff em sistema aberto utilizada neste trabalho minimiza alterações moduladas pelo sistema nervoso autônomo, o que difere do sistema fechado, não utilizado neste trabalho, na qual pode haver efeito da modulação autonômica.

3) A aparência anatômica do coração, a frequência cardíaca e a pressão ventricular esquerda foram continuamente monitoradas de modo que somente corações hígidos e sem processos isquêmicos fossem utilizados nos experimentos.

Por outro lado, os seguintes fatos experimentais corroboram que a atividade deflagrada é o mecanismo das arritmias desencadeadas:

1) O aumento do intervalo QT - QRS representa o aumento do tempo de repolarização ventricular, condição esta necessária para a ação de pós-despolarizações na fase 2 que desencadeiam extra-estímulos.

2) O intervalo Tp - Te, indicativo da dispersão transmural do PA no coração, está aumentado na presença de tioridazina, sendo este aumento potencializado na condição mimetizadora de hipocalcemia.

A atividade deflagrada depende também do aumento do tempo de dispersão para que pós-potenciais precoces ou tardios desencadeiem fenômenos arrítmicos. Desta forma o intervalo QT - QRS é parâmetro que, conjuntamente com outros parâmetros já

estudados, tais como QT, QT corrigido, instabilidade e triangulação (HONDEGHEM *et al.*, 2001), expressa a possibilidade de fenômenos arrítmicos.

Em algumas situações o intervalo QT isoladamente falha no reconhecimento de potencial arritmogênico, como por exemplo, no caso da amiodarona, (um fármaco antiarrítmico muito utilizado na prática clínica), que aumenta o intervalo QT, porém não predispõe o paciente à Torsades de Pointes e não possui variação do parâmetro Tp - Te. Assim, propostas de novos parâmetros que auxiliem no diagnóstico eletrocardiográfico, permitindo prever uma situação arritmogênica espontânea ou desencadeada por fármacos, tanto em termos de situações clínicas, como testes farmacológicos, somados aos parâmetros eletrocardiográficos existentes, darão maiores subsídios para a compressão do complexo fenômeno arritmogênico. Segundo nossos dados experimentais, a ocorrência de aumentos simultâneos no QT - QRS e do Tp - Te indicam a predisposição específica para arritmias ventriculares e “Torsades de Pointes”, cujo mecanismo arritmogênico é a atividade deflagrada.

Em termos de estudos futuros, tomados juntos, os dados permitem depreender que a análise conjunta de QT - QRS e Tp - Te, uma vez identificando-se seus aumentos, poderia se constituir em um possível valor diagnóstico diferencial para estas arritmias bem como para seu mecanismo (atividade deflagrada). Assim, hipoteticamente extrapolando para humanos, a análise destes parâmetros eletrocardiográficos pode constituir-se em ferramenta com potencial para avaliação clínica de arritmogenicidade de fármacos e em preditor de situações clínicas que tenham como evento mórbido a arritmia cardíaca.

8 CONCLUSÕES

1) Arritmias cardíacas induzidas por tioridazina aumentam o tempo de repolarização ventricular e o tempo de decaimento de onda T, alterando o novo parâmetro proposto QT-QRS e o parâmetro Tp-Te;

2) O fenômeno arritmico é desencadeado por atividade deflagrada;

3) A aplicação do novo parâmetro QT-QRS associado ao Tp-Te, em arritmias poderá ser útil para testes farmacológicos *in vitro* de potencial arritmogênico de fármacos;

4) A aplicação do novo parâmetro QT- QRS, se confirmados em futuros estudos a serem realizados em humanos, poderá ser útil na avaliação do risco cardiovascular, diagnóstico, tratamento e prognóstico de arritmias.

REFERÊNCIAS

ACC/AHA/ESC Practice Guideline .**Circulation**, Dallas, v.108, n. 15; October 14, 2003.

AIBA, T.; SHIMIZU, W.; HIDAHA, I.. Cellular basis for trigger and maintenance of ventricular fibrillation in the Brugada syndrome model: High-resolution optical mapping study. **Journal of American College of Cardiology**, San Diego, v. 47, p. 2074–2085, 2006.

AJIOKA, M. S.; SUGIYAMA, K.; OGAWA, T. SATAKE; T. OZAWA . Mechanism of cardiac arrhythmias induced by epinephrine in dogs with hypokalemia . **Journal of American College of Cardiology**, San Diego v. 8, p 1373-1379, 1986.

KATCHMAN, A. N.; KOENER, J; TOSHIMASA T.; WOOSLEY, R.; EBERT, S. Comparative evaluation of HERG currents and QT intervals following Challenge with suspected Torsadogenic and non Torsadogenic drugs. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Bethesda, v. 316, n. 3, p. 1098-1106, 2006.

ANTZELEVITCH, C. Basic mechanisms of reentrant arrhythmias .**Current Opinion in Cardiology**, London, v. 16, p. 1–7, 2001.

ANTZELEVITCH, C. Drug-induced spatial dispersion of repolarization . **Cardiology Journal**, New York, v. 15, n. 2, p. 100–121, 2008.

ANTZELEVITCH, C. The M cell. Invited Editorial Comment. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**, Los Angeles, v. 2, p. 73–76., 1997.

ANTZELEVITCH, C. Role of transmural dispersion of repolarization in the genesis of drug-induced torsades de pointes. **Heart Rhythm**, Indianapolis, v. 2, p. S9–S15, 2005.

ANTZELEVITCH, C.; SICOURI, S.; LITOVSKY, S. H.. Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial, and M cells. **Circulation Research**, Dallas, v. 69, p. 1427–1449, 1991.

ANTZELEVITCH, C.; SHIMIZU, W.; YAN, G. X.. The M cell: Its contribution to the ECG and to normal and abnormal electrical function of the heart. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, Hoboken, v. 10, p. 1124–1152, 1999.

BASSON, C. T.; HUANG, T.; LIN R. C.; BACHINSKY, D. R.; WEREMOWICZ, S.; VAGLIO, A.; BRUZZONE, R.; QUADRELLI, R.; LERONE, M.; ROMEO, G.; SILENGO, M.; PEREIRA, A.; KRIEGER, J.; MESQUITA, S. F.; KAMISAGO, M.; MORTON, C. C.; PIERPONT, M. E.; MULLER, C. W.; SEIDMAN, J. G.; SEIDMAN, C. E.. Different TBX5 interactions in heart and limb defined by Holt-Oram syndrome mutations. **Proceedings of the National Academy of Sciences U S A**, Washington, v. 96, p. 2919-2924, 1999.

BENNETT, P. B., YAZAWA, K., MAKITA N., GEORGE AL JR: Molecular mechanism for an inherited cardiac arrhythmia. **Nature**, New York, v. 376, p. 683-685, 1995.

BENOIT, D.; FREDERICK, V.; JIMMY, R., MOHAMED, C., DOMINIC, D., SYLVIE, N., MAJED, K., BETTINA, H.; JACQUES, T. Thioridazine Lengthens Repolarization of Cardiac Ventricular Myocytes by Blocking the Delayed Rectifier Potassium Current1 **The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Bethesda, v. 288, P. 1261–1268, 1999.

BERS, DONALD M. Cardiac excitation-contraction coupling. **Nature**, New York, v. 415, n. 6868, p. 198-205, 2002.

BENSON, D. W.; WANG, D. W.; DYMENT, M.; KNILANS, T. K.; FISH, F. A.; STRIEPER, M. J.; RHODES, T. H.; GEORGE AL JR: Congenital sick sinus syndrome caused by recessive mutations in the cardiac sodium channel gene (SCN5A). **Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 112, p. 1019-1028, 2003.

BERUL, C. I.; MAGUIRE, C. T.; ARONOVITZ, M. J.; GREENWOOD, J.; MILLER, C.; GEHRMANN, J.; HOUSMAN, D.; MENDELSON, M. E.; REDDY, S.. DMPK dosage alterations result in atrioventricular conduction abnormalities in a mouse myotonic dystrophy model. **Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 103, p. R1-R7, 1999.

BEVILACQUA, L. M.; SIMON, A. M.; MAGUIRE C.T.; GEHRMANN, J.; WAKIMOTO, H.; PAUL, D. L.; BERUL, C. I. A targeted disruption in connexin40 leads to distinct atrioventricular conduction defects. **Journal of Interventional Cardiology Electrophysiology**, New York, v. 4. p. 459-467., 2004.

BRAUNWALD, E.; ZIPES P.. **Tratado de Doenças Cardiovasculares**, 7^a edição, Rio de Janeiro, Elsevier, 2010.

BRUTON, J.D.; WESTERBLAD, H; LÄNNERGRÉN, J. Reversible depression of action potentials and force production in frog single muscle fibres by calmodulin-inhibitors **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockolm, v. 156, n. 4, p. 441-446, 1998.

CHANTAL E.C.; OPTHOFB C. T.; Ventricular repolarization: An overview of (patho)physiology, sympathetic effects and genetic aspects. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, Maryland Heights, v. 92, p. 269–307, 2006

CHENG, J.; KAMIYA, K.; LIU, W.; TSUJI, Y.; TOYAMA, J.; KODAMA, I. Heterogeneous distribution of the two components of delayed rectifier K⁺ current: a potential mechanism of the proarrhythmic effects of methanesulfonanilideclass III agents. **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 43, p. 135–147, 1999.

CHOI, B.; BURTON, F; SALAMA, G. Cytosolic Ca²⁺ triggers early afterdepolarizations and torsade de pointes in rabbit hearts with type 2 long QT syndrome. **Journal of Physiology**, Cambridge, v. 543, p. 615-631, 2002.

CORDULA, M. W.; CHARLES, I. B.; Inherited Conduction System Abnormalities. One group of diseases, many genes. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, Hoboken, v. 17, n. 4, p. 446-455, 2006.

CUMBERBATCH, G. L.; HAMPTON, T. J.. Hyperkalaemic paralysis- a bizarre presentation of renal failure. **Journal of Accident and Emergency Medicine**, London, v. 16, p. 230-232, 1999.

DEAL, B. J.; KEANE, J. F.; GILLETTE, P. C.; GARSON, A. JR. Wolff-Parkinson-White syndrome and supraventricular tachycardia during infancy: Management and follow-up. **Journal of American College of Cardiology**, San Diego, v. 5, p. 130-135, 1985.

DENVIR, M. A.; SOOD, A.; DOW, R.; BRADY, A. J.; RANKIN, A. C.. Thiodirazine, diarrhoea and torsades de pointe. **Journal of the Royal Society of Medicine**, London, n. 91, v 3, p. 145-147, mar 1998.

ESKOLA, M. J.; NIKUS, K. C.; VOIPIO-PULKKI, L. M.. Comparative accuracy of manual versus computerized electrocardiographic measurement of J-, ST- and T-wave deviations in patients with acute coronary syndromes. **American Journal of Cardiology**, Dallas, v. 96, p.1584, 2005.

FERREIRA, M.P.; VASQUES, E.R.; TAVARES, J. G.; ALVES, B. J.; GODOY, C.M.G.. Alterações eletrocardiográficas induzidas por fenotiazinas em corações isolados de ratos. In: 21^o Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, Salvador, Bahia. **Anais do Congresso da Sociedade Brasileira de Engenharia Biomédica**, Salvador, Bahia: SBEB, 2008, p. 1242-45.

FRIEDENSOHN, A.; FAIBEL, H. E.; BAIREY, O; GOLDBOURT, U.; SCHLESINGER Z. Malignant arrhythmias in relation to values of serum potassium in patients with acute myocardial infarction. **International Journal of Cardiology**, Maryland Heights, v. 32, n.3, p. 331-338, 1991.

GUSSAK, I; GEORGE, S.; BOJOVIC, B; VAJDIC, B. Phenomena of the Early Ventricular Repolarization in the 21 Century. **Indian Pacing Electrophysiology Journal**, Hyderabad, v. 8, n. 3, p. 149–157, 2008.

HAVERKAMP, W.; BREITHARDT, G.; CAMM, A. J.; JANSE, M. J.; ROSEN, M. R.; ANTELEVITCH, C.; ESCANDE, D.; FRANZ, M.; MALIK, M.; MOSS, A.; SHAH, R..The potential for QT prolongation and proarrhythmia by non-antiarrhythmic drugs: Clinical and regulatory implications. **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 47, p. 219–233, 2000.

HELFANT, R. H.. Hypocalemia and arrhythmias. **American Journal of Medicine**, Tucson, v. 80, p. 13-22 (1986).

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F.. The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle, **Biological Reviews**, Cambridge, v. 26, p. 339-409, 1963.

HONDEGHEM, L. M. Computer aided development of antiarrhythmic agents with Class IIIa properties. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, Hoboken, v. 5, p. 711–721, 1994.

HONDEGHEM, L. M.; CARLSSON, L.; DUKER, G. Instability and triangulation of the action potential predict serious proarrhythmia, but action potential duration prolongation is antiarrhythmic. **Circulation**, Dallas, v. 103, p. 2004–2013, 2001.

HONDEGHEM, L. M., LU, H. R., VAN ROSSEM, K., DE CLERCK, F.. Detection of proarrhythmia in the female rabbit heart: Blinded validation. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, Hoboken, v. 14, p. 1–8, 2003.

HONDEGHEM, L. M.; HOFFMANN, P.. Blinded test in isolated female rabbit heart reliably identifies action potential duration prolongation and proarrhythmic drugs: Importance of triangulation, reverse use dependence and instability. **Journal of Cardiovascular Pharmacology** New York, v. 41, p. 14–24, 2003

HUIKURI, H. V.; CASTELLANOS, A; MYEBURG, R. J.. Sudden Cardiac Death due to cardiac arrhythmias. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 345, p. 1473–1482, 2001.

INUYAMA A.. Explaining the T wave shape in the ECG. **Nature**, New York, v. 403, p.40, 2000.

JANUARY, C. T.; CHAU, V.; MAKIELSKI, J. C.. Triggered activity in the heart: Cellular mechanisms of early after-depolarizations. **European Heart Journal**, Oxford, v. 12 (Suppl. F), p. 4 – 9, 1991.

JANUARY, C. T.; J.M. RIDDLE. Early afterdepolarizations: mechanism of induction and block. A role for L-type Ca²⁺ current. **Circulation Research**, Dallas, v. 64, p. 977–990, 1989.

JANSE, M. J., A. L. WIT. Electrophysiological mechanisms of ventricular arrhythmias resulting from myocardial ischemia and infarction. **Physiological Review**, Bethesda, v. 69, p. 1049–1169, 1989.

JAY, P. Y.; HARRIS, B. S.; BUERGER, A.; ROZHITSKAYA, O.; MAGUIRE, C. T.; BARBOSKY, L. A.; MCCUSTY, E.; BERUL, C. I.; O'BRIEN, T. X.; GOURDIE, R. G.; IZUMO S.. Function follows form: cardiac conduction system defects in Nkx2-5 mutation. **Anatomical Record A Discoveries in Molecular Cellular Evolution Biology**, New Jersey, v. 280, p. 966-972, 2004.

VALENTIN, J.P.; HOFFMANN, P; CLERCK, F.; HAMMONDA, T.; HONDEGHEM, L.. Review of the predictive value of the Langendorff heart model (Screenit system) in assessing the proarrhythmic potential of drugs. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, Maryland Heights, v. 49, p. 171–181, 2004.

JIA QIN; ZIMA, A.; PORTA, M.; BLATTER, L; FILL, M.. Trifluoperazine: a rynodine receptor agonist **European Journal of Physiology**, Berlin, v. 458, p. 643–651, 2009.

KATZUNG, B. G.; HONDEGHEM, L. M.; & GRANT, A. O. Cardiac ventricular automaticity induced by current of injury. **Pflugers Archives**, Berlin, v. 360, p. 193–197, 1975.

KLIGFIELD, P.; GETTES, L.; BAILEY, J. J. Recommendations for the Standardization and Interpretation of the Electrocardiogram: Part I: The Electrocardiogram and its Technology: A Scientific Statement from the American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee, Council on Clinical Cardiology; the American College of Cardiology Foundation; and the Heart Rhythm Society: endorsed by the International Society for Computerized Electrocardiology. **Circulation**, Dallas, v. 115, p. 1306, 2007.

KODAMA, I.; WILDE, A.; JANSE, M. J.; DURRER, D.; YAMADA, K.. Combined effects of hypoxia, hyperkalemia and acidosis on membrane action potential and excitability of guinea-pig ventricular muscle. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, Maryland Heights, v. 16, n. 3, p. 247–259, 1984.

KUMAR, R.; W. JOYNER. An experimental model of the production of early after depolarizations by injury current from an ischemic region. **Pflugers Archives**, Berlin, v. 428, p. 425–432, 1994.

LAHAT, H; PRAS, E.; OLENDER, T.; AVIDAN, N.; BEN, ASHER E.; MAN, O.; LEVY-NISSENBAUM, E.; KHOURY, A.; LORBER, A.; GOLDMAN, B.; LANCET, D.; ELDAR, M.. A missense mutation in a highly conserved region of CASQ2 is associated with autosomal recessive catecholamine-induced polymorphic ventricular tachycardia in Bedouin families from Israel. **American Journal of Human Genetic**, Boston, v. 69, p. 1378-1384, 2001.

LENEGRE J.: Etiology and Pathology of bilateral bundle branch block in relation to complete heart block. **Progress in Cardiovascular Disease**, Maryland Heights, v. 6, p. 409-444, 1964.

LEW, W. Y.; HRYSHKO, L. V.; BERS, D. M.. Dihydropyridine receptors are primarily functional L type calcium channels in rabbit ventricular myocytes. **Circulation Research**, Dallas, v. 69, p. 1139-1145, 1991.

LITOVSKY, S. H.; ANTZELEVITCH, C. Transient outward current prominent in canine ventricular epicardium but not endocardium. **Circulation Research**, Dallas, v. 62, p. 116–126, 1988.

LIU, D. W.; ANTZELEVITCH, C.. Characteristics of the delayed rectifier current (IKr and IKs) in canine ventricular epicardial, midmyocardial, and endocardial myocytes. **Circulation Research**, Dallas, v.76, p. 351—365, 1995.

LIU, D. W.; GINTANT, G. A.; ANTZELEVITCH, C.. Ionic bases for electrophysiological distinctions among epicardial, midmyocardial, and endocardial

myocytes from the free wall of the canine left ventricle. **Circulation Research**, Dallas, v. 72, p. 671–687, 1993.

LUKAS, A.; ANTELEVITCH, C.. Phase 2 reentry as a mechanism of initiation of circus movement reentry in canine epicardium exposed to simulated ischemia. **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 32, p. 593–603, 1996.

LUO, S.; MICHLER, K.; JOHNSTON, P.; MACFARLANE, P. W.. A comparison of commonly used QT correction formulae: The effect of heart rate on the QTc of normal ECGs. **Journal of Electrocardiology**, Solomons, v.37, Suppl 81, 2004.

MALAFRONTÉ, C.; NICOL B.; TEDESCHI, S. ; SYRN. M.; STUCCHI, S.; BANCHETTI, M; ACHILLI, F.; BETTINELLI, M. Cardiac arrhythmias due to severe hypokalemia in a patient with classic Bartter disease . **Pediatric Nephrology**, Heidelberg, v. 19, p. 1413–1415, 2004

MALMVUO, J.; POLNSEY, R.. **Bioelectromagnetism**, New York, Oxford United Press, 1995.

MILBERG, P.; REINSCH, N.; WASMER, K... Transmural dispersion of repolarization as a key factor of arrhythmogenicity in a novel intact heart model of LQT3. **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 65, p. 397–404, 2005.

MILNES, J. T.; WITCHEL, H. J.; LEANEY, J. L.; LEISHMAN, D. J.; HANCOX, J. C.. HERG K⁺ channel blockade by the antipsychotic drug thioridazine: An obligatory role for the S6 helix residue F656. **Biochemical Biophysical Research Communication**, Mariland Heights, v. 351, n. 1, p. 273-80, 2006.

MING, Z., C. NORDIN; R. S. ARONSON. Role of L-type calcium channel window current in generating current-induced early afterdepolarizations. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, Malden, v. 5, p. 323–334, 1994.

MINISTÉRIO DA SAÚDE-REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL-DATASUS. **Dados de morbidade e mortalidade por período**, Brasília, 2009. Disponível em <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203>. Acesso em 10 de jan. 2009.

RUBART, M.; ZIPES, D. Mechanisms of sudden cardiac death. **Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, n. 115, p. 2305-2315, 2005

MOSKOWITZ, I. P.; PIZARD, A.; PATEL, V. V.; BRUNEAU, B. G.; KIM, J. B.; KUPERSHMIDT, S.; RODEN, D.; BERUL, C. I.; SEIDMAN, C. E.; SEIDMAN, J. G.. The T-Box transcription factor Tbx5 is required for the patterning and maturation of the murine cardiac conduction system. **Development**, Cambridge, v. 131, p. 4107-4116., 2004.

MYEBURG, R. J.; CASTELLANOS, A.: Emerging paradigms of the epidemiology and demographics of sudden cardiac arrest. **Heart Rhythm**, Indianapolis, n. 3, v. 2, p. 235, 2006.

NABAUER, M., STEINBECK, G.. Regional differences in current density and rate-dependent properties of the transient outward current in subepicardial and subendocardial myocytes of human left ventricle. **Circulation**, Dallas, v. 93, p.168-177, 1996.

PETERS, N.; COROMILAS, J.; HANNA, M.; JOSEPHSON, M.; COSTEAS, C.; WIT, L.. Characteristics of the Temporal and Spatial Excitable Gap in Anisotropic Reentrant Circuits Causing Sustained Ventricular Tachycardia. **Circulation Research**, Dallas, v. 82, p. 279-293, 1998.

OLEG E.; LARSEN, A; OLESEN, S.. Predictive value of electrical restitution in hypokalemia-induced ventricular arrhythmogenicity **American Journal of Physiology and Heart and Circulatory Physiology**, Bethesda, v. 298, p. 210-220, 2010.

ONO, K.; H. ITO. Role of rapidly activating delayed rectifier K1 current in sinoatrial node pacemaker activity. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 269, p. 453–462, 1995.

PAES DE CARVALHO, A., HOFFMAN, B. F. E LANGAN, W. B.. Two components of the cardiac action Potential. **Nature**, New York, v. 211, p. 938, 1966.

PAPP, Z., K. R. SIPIDO, G. CALLEWAERT, AND E. CARMELIET. Two components of $[Ca^{21}]_i$ -activated Cl_2 current during large $[Ca^{21}]_i$ transients in single rabbit heart Purkinje cells. **Journal of Physiology**, Hoboken, v. 483, p. 319–330, 1995.

POSTEMA, P.G.; WOLPERT, C.; AMIM, A.S.; PROBST, V; BORGGREFE, M; RODEN, D. M.. Drugs and Brugada syndrome patients: review of the literature, recommendations, and an up-to-date. **Heart Rhythm**, Indianapolis, n. 6, v. 9, p. 1335-41, 2009.

PRIORI, S. G.; P. B. CORR. Mechanisms underlying early and delayed afterdepolarizations induced by catecholamines. **Heart and Circulatory Physiology**, Bethesda, v. 27, p. H1796–H1805, 1990.

RAFFAELE, D. B.; RICCI E.; GALLUZZI, G.; TONALI, P.; MORA, M.; MORANDI, L.; ROMORINI, A.; VOIT, T.; ORSTAVIK, K. H.; MERLINI, L.; TREVISAN, C.; BIANCALANA, V.; HOUSMANOWA-PETRUSEWICZ, I.; BIONE, S.; RICOTTI, R.; SCHWARTZ, K.; BONNE, G.; TONIOLO D.. Different mutations in the LMNA gene cause autosomal dominant and autosomal recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy. **American Journal of Human Genetic**, Boston, v. 66, p. 1407-1412., 2000.

REDFERN, W. S.; CARLSSON, L.; DAVIS, A. S.; LYNCH, W. G.; MACKENZIE, I.; PALETHORPE, S.; SIEGL, P. K. S.; STRANG, I.; SULLIVAN, A. T.; WALLIS, R.; CAMM, A. J.; HAMMOND, T. G.. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: Evidence for a provisional safety margin in drug development. **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 58, p. 32– 45, 2003.

REUTER, H.; SCHOLZ, H.. A study of the ion selectivity and the kinetic properties of the calcium dependent slow inward current in mammalian muscle. **Journal of Physiology**, Hoboken, v. 264, p. 17-47, 1977.

RICHARD E. KLABUNDE. Arrhythmias. In: **Cardiovascular Physiology concepts**. Textbook, Ohio, cap. 2, 2007

RUBART, M.; ZIPES, D.: Mechanisms of sudden cardiac death. **Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, n. 115, p. 2305-2315, 2005

SABINE, M.; BRUNO, H.C.. Antipsychotics and the risk of sudden cardiac death. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, v. 164, June 28, p. 1293-1297, 2004.

SABIR, J.N.; FRASER, J; KILLEN, M; GRACE, A; HUANG, C: The contributions of refractoriness to arrhythmic substrate in hypocalcemic Langendorff-perfused murine hearts. **European Journal of Physiology**, Berlin: v. 454, p. 209-222, 2007.

SE-YOUNG CHOI; YOUNG-SANG KOH; SU-HYUN JO. Inhibition of Human ether-a-go-go-related gene K Channel and IKr of Guinea Pig Cardiomyocytes by antipsychotic drug Trifluoperazine. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Bethesda, v. 313, n. 12, p. 888-895, 2005.

SHAW, R. M., Y. RUDY. The vulnerable window for unidirectional block in cardiac tissue: characterization and dependence on membrane excitability and intercellular coupling. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, Malden, v. 6, p. 115–131, 1995.

SHIMIZU, W.; ANTZELEVITCH, C.. Differential effects of beta-adrenergic agonists and antagonists in LQT1, LQT2 and LQT3 models of the long QT syndrome. **Journal of American College of Cardiology**, San Diego, v. 35, p. 778–786, 2000.

SHIMIZU, W; ANTZELEVITCH, C.. Effects of a K(+) channel opener to reduce transmural dispersion of repolarization and prevent torsade de pointes in LQT1, LQT2, and LQT3 models of the long-QT syndrome. **Circulation**, Dallas, v. 102, p, 706–712, 2000.

SHIMIZU, W.; ANTZELEVITCH, C.. Sodium channel block with mexiletine is effective in reducing dispersion of repolarization and preventing torsade de pointes in LQT2 and LQT3 models of the long-QT syndrome. **Circulation**, Dallas, v. 96, p. 2038–2047, 1997.

SHIMIZU, M.; INO, H.; OKEIE, K.. T-peak to T-end interval may be a better predictor of high-risk patients with hypertrophic cardiomyopathy associated with a cardiac troponin I mutation than QT dispersion. **Clinical Cardiology**, Malden, v. 25, p. 335–339, 2002.

SIPIDO, K. R., G. CALLEWAERT; E. CARMELIET. Inhibition and rapid recovery of Ca²⁺ current during Ca²⁺ release from sarcoplasmic reticulum in guinea pig ventricular myocytes. **Circulation Research**, Dallas, v. 76, p. 102–109, 1995.

SITSAPESAN, R., A. J. WILLIAMS. The gating of the sheep skeletal sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-release channel is regulated by luminal Ca²⁺. **Journal of Membrane Biology**, New York, v. 146, p. 133–144, 1995.

SMITS, J. P.; KOOPMANN, T. T.; WILDERS, R.; VELDKAMP, M. W.; OPTHOF, T.; BHUYAN, Z. A.; MANNES, M. M.; BALSER JR; TAN, H. L.; BEZZINA, C. R.; WILDA, A. A.. A mutation in the human cardiac sodium channel contributes to sick sinus syndrome, conduction disease and Brugada syndrome in two families. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, Maryland Heights, v. 5, n. 38, p. 969-981, 2005.

STEFANINI, E; TIMERMAN, A; SERRANO JR, C.. **Tratado de Cardiologia Socesp**, 1 edição, São Paulo, Editora Manole, 2005.

TAKENAKA, K.; AI, T.; SHIMIZU, W.. Exercise stress test amplifies genotype-phenotype correlation in the LQT1 and LQT2 forms of the long-QT syndrome. **Circulation**, Dallas, v. 107, p. 838–844, 2003.

TAWIL, R.; PTACEK, L. J.; PAVLAKIS, S. G.; DEVIVO, D. C.; PENN, A. S.; OZDEMIR, C., GRIGGS, R. C. Andersen's syndrome: potassium-sensitive periodic paralysis, ventricular ectopy, and dysmorphic features. **Annals of Neurology**, Malden, v. 35, p. 326-330, 1994.

TOKANNEN, JANI T., HUIKURI, HEIKKI. Long-term Outcome Associated with early Repolarization on electrocardiography. **New England Journal of Medicine**, Boston, v.361, p. 2529-2537, 2009.

UEDA, K.; NAKAMURA, K.; HAYASHI, T.; INAGAKI, N.; TAKAHASHI, M.; ARIMURA, T.; MORITA, H.; HIGASHIUESATO, Y.; HIRANO, Y.; YASUNAMI, M.; TAKISHITA, S.; YAMASHINA, A.; OHE, T.; SUNAMORI, M. J.; HIRAOKA, M.; KIMURA, A.. Functional characterization of a trafficking-defective HCN4 mutation, D553N, associated with cardiac arrhythmia. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 279, p. 27194-27198, 2004.

VAUGHAN, C. J.; HOM, Y.; OKIN, D. A.; MCDERMOTT, D. A.; LERMAN, B. B.; BASSON, C. T.. Molecular genetic analysis of PRKAG2 in sporadic Wolff-Parkinson-White syndrome. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, Malden, v.14, p. 263-268., 2003

VOLDERS, P .G., VOS, M. A.. Repolarizing K currents Ito1 and IKs are larger than left canine ventricular midmyocardium. **Circulation**, Dallas, v. 99, p. 206-210, 1999.

VOLDERS, P. G.; SIPIDO, K. R.; CARMELIET, E.; SPATJENS, R. L.; WELLENS, H. J.; VOS MA. Repolarizing K⁺ currents ITO1 and IKs are larger in right than left canine ventricular midmyocardium. **Circulation**, Dallas, v. 99, p. 206–210, 1999.

WALKER, M. J.; CURTIS, M. J.; CAMPBELL, R. W.; Yellon, D. M.; Cobbe, S. J. Coker, S. J.; HARNESS, J. B., HARRON, D. W.. The Lambeth Conventions:

guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction, and reperfusion 1988 – **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 22, n. 7, p. 447-455, 1988.

WALTER A. PARHAM; ALI A. MEHDIRAD; KURT M. BIERMANN; CAREY S. FREDMAN. Hyperkalemia Revisited. **Texas Heart Institute Journal**, Houston, v. 33, n. 1, p. 40–47, 2006.

WANG, D. W.; VISWANATHAN, P. C.; BALSER JR; GEORGE AL JR; BENSON, D. W.. Clinical, genetic, and biophysical characterization of SCN5A mutations associated with atrioventricular conduction block. **Circulation**, Dallas. v. 105, p. 341-346, 2002.

WATANABE, N.; KOBAYASHI, Y. ; TANNO, K.. Transmural dispersion of repolarization and ventricular tachyarrhythmias. **Journal of Electrocardiology**, Solomons, v. 37, p. 191–200, 2004.

WAYNE A. RAY; KEITH G. MEADOR. Antipsychotics and sudden death: is thioridazine the only bad actor? **The British Journal of Psychiatry**, London v. 180, p. 483-484, 2002.

WEBSTER, A.; BRADY, W.; MORRIS, F.. Recognising signs of danger: ECG changes resulting from an abnormal serum potassium concentration. **Emergency Medicine Journal**, London, v. 19, p. 74-77, 2002.

WU, J.; ZIPES, D. P.. Early afterdepolarizations, U waves and torsades de pointes. **Circulation**, Dallas, v. 105, p. 675, 2002

XIA, Y.; LIANG, Y.; KONGSTAD, O.. In vivo validation of the coincidence of the peak and end of the T wave with full repolarization of the epicardium and endocardium in swine. **Heart Rhythm**, v. 2, p. 162–169, 2005.

XIAO-WEI DONG; YUPING, J.; SHERRY, X.; XIAOPING, Z.; MARY COHEN-W.; ROBERT H.; HUIQING LI; TONY, P.. The antipsychotic drug, fluphenazine, effectively reverses mechanical allodynia in rat models of neuropathic pain . **Psychopharmacology**, New Jersey, v. 195, n.4, p.559-568,2008.

YAMAGUCHI, M.; SHIMIZU, M.; INO, H.. T wave peak-to-end interval and QT dispersion in acquired long QT syndrome: A new index for arrhythmogenicity. **Clinical Sciences**, London, v. 105, p. 671–676, 2003.

YAN, G. X.; ANTZELEVITCH, C. Cellular basis for the normal T wave and the electrocardiographic manifestations of the long QT syndrome. **Circulation**, v. 98, p. 1928–1936, 1988.

YAP, Y. G.; CAMM, J. Risk of torsades de pointes with noncardiac drugs. Doctors need to be aware that many drugs can cause QT prolongation. **British Medical Journal**, London, v. 320, p. 1158– 1159, 2000.

YUNLONG X.; SHIWEN Y.. In vivo validation of the T-peak to T-end interval: Implications for genesis of the T wave. **Heart Rhythm**, Indianapolis, v.4, n. 3, p. 349-350, 2007.

ZYGMUNT, A. C.; EDDLESTONE, G. T.; THOMAS, G. P.; NESTERENKO, V. V.; ANTZELEVITCH, C. Larger late sodium conductance in M cells contributes to electrical heterogeneity in canine ventricle. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 281, p. H689–H697, 2001.

ZYGMUNT, A. C.; GOODROW, R. J.; ANTZELEVITCH, C. I_{NaCa} contributes to electrical heterogeneity within the canine ventricle. **American Journal of Physiology Heart Circulatory Physiology**, Bethesda, v. 278, p. H1671–H1678, 2000.

APÊNDICE – Análise Estatística

QT – QRS

	A	B	C	D	E	F
c	hipo	hiper	hiper TR	hipo TR	TR	

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

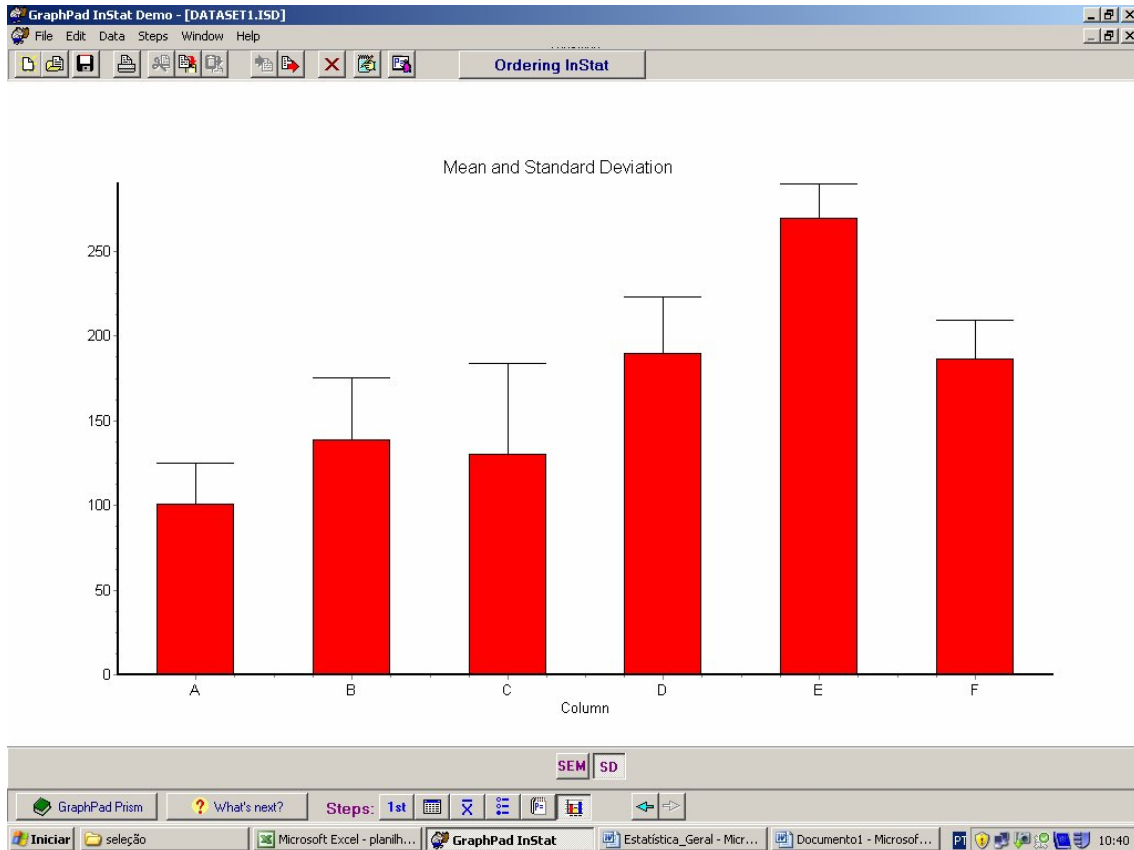
File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Title	Group A	Group B	Group C	Group D	Group E	Group F	Group G	Group H
Col. title								
Mean	101	139	130	190	270	186.6666666667		
Standard deviation (SD)	23.854	36.125	53.852	33.166	20.000	23.094		
Sample size (N)	11	5	5	5	4	3		
Std. error of mean(SEM)	7.192	16.155	24.083	14.832	10.000	13.333		
Lower 95% conf. limit	84.976	94.152	63.145	148.83	238.18	129.29		
Upper 95% conf. limit	117.02	183.85	196.85	231.17	301.82	244.04		
Minimum	80.000	100.00	80.000	160.00	240.00	160.00		
Median (50th percentile)	100.00	160.00	120.00	190.00	280.00	200.00		
Maximum	150.00	175.00	200.00	240.00	280.00	200.00		
Normality test KS	0.2652	0.3195	0.2234	0.2171				
Normality test P value	0,0295	>0.10	>0.10	>0.10	Too few values	Too few values		
Passed normality test?	No	Yes	Yes	Yes				

Steps: 1st

Microsoft Excel - planilha... GraphPad InStat 10:39



GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is < 0.0001, considered extremely significant.
Variation among column means is significantly greater than expected by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test
If the value of q is greater than 4.338 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Column A vs Column B	-38.000	3.031	ns P>0.05
Column A vs Column C	-29.000	2.313	ns P>0.05
Column A vs Column D	-89.000	7.099	*** P<0.001
Column A vs Column E	-169.00	12.452	*** P<0.001
Column A vs Column F	-85.667	5.658	** P<0.01
Column B vs Column C	9.000	0.6122	ns P>0.05
Column B vs Column D	-51.000	3.469	ns P>0.05
Column B vs Column E	-131.00	8.401	*** P<0.001
Column B vs Column F	-47.667	2.808	ns P>0.05
Column C vs Column D	-60.000	4.081	ns P>0.05
Column C vs Column E	-140.00	8.978	*** P<0.001
Column C vs Column F	-56.667	3.338	ns P>0.05
Column D vs Column E	-80.000	5.131	* P<0.05
Column D vs Column F	3.333	0.1964	ns P>0.05
Column E vs Column F	83.333	4.694	* P<0.05

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval From	To
Column A vs Column B	-38.000	-63.000	-13.000
Column A vs Column C	-29.000	-54.000	-4.000
Column A vs Column D	-89.000	-114.000	-64.000
Column A vs Column E	-169.00	-199.00	-139.00
Column A vs Column F	-85.667	-115.667	-55.667
Column B vs Column C	9.000	-16.000	34.000
Column B vs Column D	-51.000	-81.000	-21.000
Column B vs Column E	-131.00	-161.00	-101.00
Column B vs Column F	-47.667	-77.667	-17.667
Column C vs Column D	-60.000	-90.000	-30.000
Column C vs Column E	-140.00	-170.00	-110.00
Column C vs Column F	-56.667	-86.667	-26.667
Column D vs Column E	-80.000	-110.00	-50.000
Column D vs Column F	3.333	-26.667	33.333
Column E vs Column F	83.333	53.333	133.333

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar seleção Microsoft Excel - planilh... GraphPad InStat Estatística_Geral - Mic... Documento1 - Microsof... 10:40

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval From	To
Column A - Column B	-38.000	-92.380	16.380
Column A - Column C	-29.000	-83.380	25.380
Column A - Column D	-89.000	-143.38	-34.620
Column A - Column E	-169.00	-227.87	-110.13
Column A - Column F	-85.667	-151.34	-19.997
Column B - Column C	9.000	-54.766	72.766
Column B - Column D	-51.000	-114.77	12.766
Column B - Column E	-131.00	-198.63	-63.366
Column B - Column F	-47.667	-121.30	25.964
Column C - Column D	-60.000	-123.77	3.766
Column C - Column E	-140.00	-207.63	-72.366
Column C - Column F	-56.667	-130.30	16.964
Column D - Column E	-80.000	-147.63	-12.366
Column D - Column F	3.333	-70.298	76.964
Column E - Column F	83.333	6.328	160.34

Assumption test: Are the standard deviations of the groups equal?

ANOVA assumes that the data are sampled from populations with identical SDs. This assumption is tested using the method of Bartlett.

Bartlett's test can only be performed when every column has at least five values.

Assumption test: Are the data sampled from Gaussian distributions?

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar seleção Microsoft Excel - planilh... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micr... Documento1 - Microsof... 10:40

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Assumption test: Are the data sampled from Gaussian distributions?

ANOVA assumes that the data are sampled from populations that follow Gaussian distributions. This assumption is tested using the method Kolmogorov and Smirnov:

Group	KS	P Value	Passed normality test?
Column A	0.2652	0.0295	No
Column B	0.3195	>0.10	Yes
Column C	0.2234	>0.10	Yes
Column D	0.2171	>0.10	Yes
Column E	Too few values to test.		
Column F	Too few values to test.		

At least one column failed the normality test with $P < 0.05$. Consider using a nonparametric test or transforming the data (i.e. converting to logarithms or reciprocals).

Intermediate calculations. ANOVA table

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square
Treatments (between columns)	5	98370	19674
Residuals (within columns)	27	29177	1080.6
Total	32	127547	

$F = 18.206 = (MS_{\text{treatment}}/MS_{\text{residual}})$

Summary of Data

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciador seleção Microsoft Excel - planilh... GraphPad InStat Estatística_Geral - Mic... Documento1 - Microsof... 10:41

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Residuals (within columns)	27	29177	1080.6
Total	32	127547	

$F = 18.206 = (MS_{\text{treatment}}/MS_{\text{residual}})$

Summary of Data

Group	Number of Points	Mean	Standard Deviation	Standard Error of Mean	Median
Column A	11	101.00	23.854	7.192	100.00
Column B	5	139.00	36.125	16.155	160.00
Column C	5	130.00	53.852	24.083	120.00
Column D	5	190.00	33.166	14.832	190.00
Column E	4	270.00	20.000	10.000	280.00
Column F	3	186.67	23.094	13.333	200.00

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval From	95% Confidence Interval To
Column A	80.000	150.00	84.976	117.02
Column B	100.00	175.00	94.152	183.85
Column C	80.000	200.00	63.145	196.85
Column D	160.00	240.00	148.83	231.17
Column E	240.00	280.00	238.18	301.82
Column F	160.00	200.00	129.29	244.04

* * *

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciador seleção Microsoft Excel - planilh... GraphPad InStat Estatística_Geral - Mic... Documento1 - Microsof... 10:41

ONDA P

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

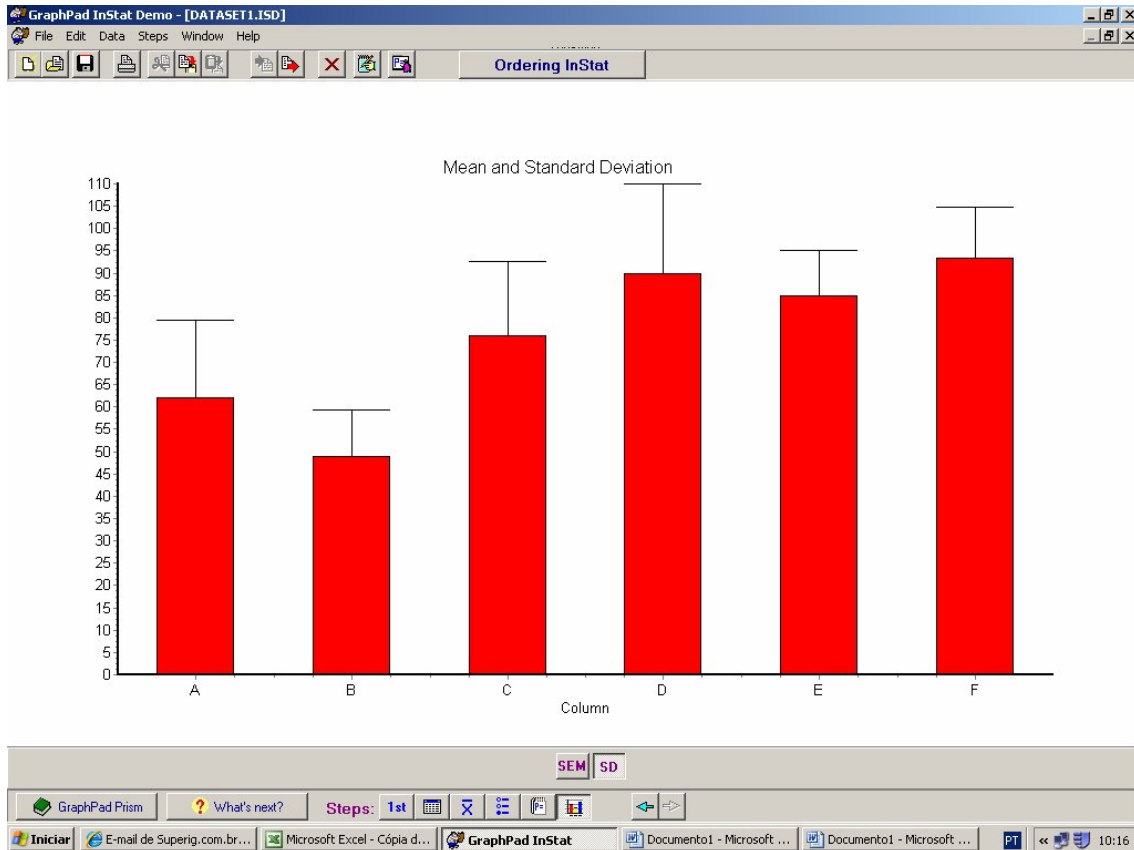
Ordering InStat

Title

	Group A	Group B	Group C	Group D	Group E	Group F	Group G	Group H	Gr
... 1	40	45	80	80	80	100			
... 2	60	60	80	80	80	80			
... 3	40	60	80	120	80	100			
... 4	80	40	100	80	100				
... 5	60	40	60						
... 6	40								
... 7	80								
... 8	60								
... 9	80								
... 10	80								
... 11									
... 12									
... 13									
... 14									
... 15									
... 16									
... 17									
... 18									
... 19									
... 20									
... 21									
... 22									
... 23									
... 24									
... 25									
... 26									
... 27									
...									

Arranging data Importing data Steps: 1st

Windows: Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Cópia d... GraphPad InStat Documento1 - Microsoft ... Documento1 - Microsoft ... 10:15



Microsoft Excel - Cópia de Cópia de planilha tratando marrelo

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.0011, considered very significant.
Variation among column means is significantly greater than expected by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test
If the value of q is greater than 4.361 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Column A vs Column B	13.000	2.155	ns P>0.05
Column A vs Column C	-14.000	2.320	ns P>0.05
Column A vs Column D	-28.000	4.297	ns P>0.05
Column A vs Column E	-23.000	3.529	ns P>0.05
Column A vs Column F	-31.333	4.321	ns P>0.05
Column B vs Column C	-27.000	3.876	ns P>0.05
Column B vs Column D	-41.000	5.549	** P<0.01
Column B vs Column E	-36.000	4.872	* P<0.05
Column B vs Column F	-44.333	5.511	** P<0.01
Column C vs Column D	-14.000	1.895	ns P>0.05
Column C vs Column E	-9.000	1.218	ns P>0.05
Column C vs Column F	-17.333	2.155	ns P>0.05
Column D vs Column E	5.000	0.6419	ns P>0.05
Column D vs Column F	-3.333	0.3962	ns P>0.05
Column E vs Column F	-8.333	0.9905	ns P>0.05

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval From	To
Column A vs Column B	13.000	1.100	24.900
Column A vs Column C	-14.000	-26.900	-1.100
Column A vs Column D	-28.000	-39.900	-15.100
Column A vs Column E	-23.000	-35.900	-10.100
Column A vs Column F	-31.333	-43.233	-19.433
Column B vs Column C	-27.000	-38.900	-15.100
Column B vs Column D	-41.000	-53.900	-28.100
Column B vs Column E	-36.000	-48.900	-23.100
Column B vs Column F	-44.333	-56.233	-32.433
Column C vs Column D	-14.000	-25.900	-2.100
Column C vs Column E	-9.000	-20.900	2.900
Column C vs Column F	-17.333	-29.233	-5.433
Column D vs Column E	5.000	-1.900	11.900
Column D vs Column F	-3.333	-10.233	3.567
Column E vs Column F	-8.333	-15.233	-1.433

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Cópia d... GraphPad InStat PT 10:13

Document1 - Microsoft Word

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval	
		From	To
Column A - Column B	13.000	-13.312	39.312
Column A - Column C	-14.000	-40.312	12.312
Column A - Column D	-28.000	-56.420	0.4202
Column A - Column E	-23.000	-51.420	5.420
Column A - Column F	-31.333	-62.956	0.2897
Column B - Column C	-27.000	-57.382	3.382
Column B - Column D	-41.000	-73.225	-8.775
Column B - Column E	-36.000	-68.225	-3.775
Column B - Column F	-44.333	-79.416	-9.251
Column C - Column D	-14.000	-46.225	18.225
Column C - Column E	-9.000	-41.225	23.225
Column C - Column F	-17.333	-52.416	17.749
Column D - Column E	5.000	-28.969	38.969
Column D - Column F	-3.333	-40.024	33.357
Column E - Column F	-8.333	-45.024	28.357

Assumption test: Are the standard deviations of the groups equal?

ANOVA assumes that the data are sampled from populations with identical SDs. This assumption is tested using the method of Bartlett.

Bartlett's test can only be performed when every column has at least five values.

Assumption test: Are the data sampled from Gaussian distributions?

Taskbar: Iniciar, E-mail de Superig.com.br..., Microsoft Excel - Cópia d..., GraphPad InStat, Documento1 - Microsoft..., Documento1 - Microsoft..., PT, 10:14

Document1 - Microsoft Word

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Assumption test: Are the data sampled from Gaussian distributions?

ANOVA assumes that the data are sampled from populations that follow Gaussian distributions. This assumption is tested using the method Kolmogorov and Smirnov:

Group	KS	P Value	Passed normality test?
Column A	0.2480	0.0820	Yes
Column B	0.2584	>0.10	Yes
Column C	0.2305	>0.10	Yes
Column D		Too few values to test.	
Column E		Too few values to test.	
Column F		Too few values to test.	

Intermediate calculations. ANOVA table

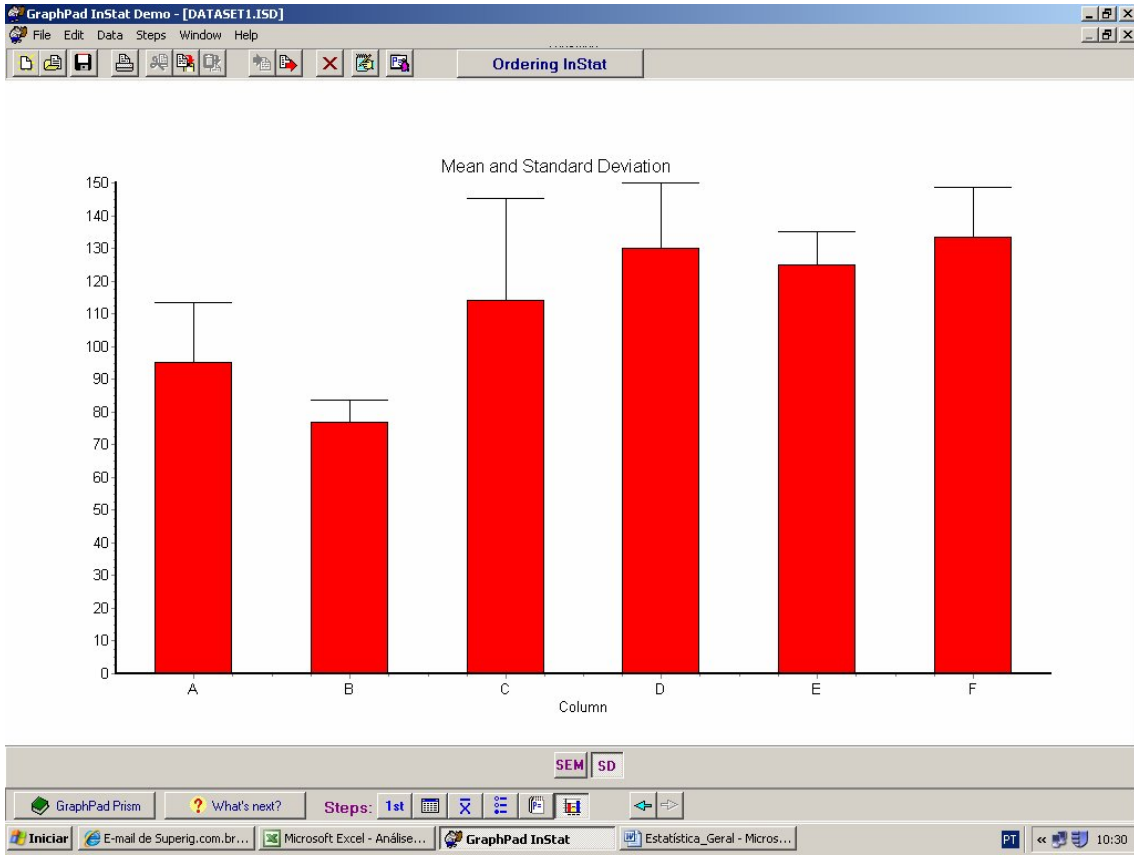
Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square
Treatments (between columns)	5	7060.8	1412.2
Residuals (within columns)	25	6066.7	242.67
Total	30	13127	

F = 5.819 =(MStreatment/MSresidual)

Summary of Data

Group	Number of Points	Mean	Standard Deviation	Standard Error of	
				Mean	Median

Taskbar: Iniciar, E-mail de Superig.com.br..., Microsoft Excel - Cópia d..., GraphPad InStat, Documento1 - Microsoft..., Documento1 - Microsoft..., PT, 10:14



One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.0006, considered extremely significant.
 Variation among column means is significantly greater than expected by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test
 If the value of q is greater than 4.361 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Column A vs Column B	18.000	2.434	ns P>0.05
Column A vs Column C	-19.000	2.569	ns P>0.05
Column A vs Column D	-35.000	4.381	* P<0.05
Column A vs Column E	-30.000	3.755	ns P>0.05
Column A vs Column F	-38.333	4.313	ns P>0.05
Column B vs Column C	-37.000	4.333	ns P>0.05
Column B vs Column D	-53.000	5.851	** P<0.01
Column B vs Column E	-48.000	5.299	* P<0.05
Column B vs Column F	-56.333	5.713	** P<0.01
Column C vs Column D	-16.000	1.766	ns P>0.05
Column C vs Column E	-11.000	1.214	ns P>0.05
Column C vs Column F	-19.333	1.961	ns P>0.05
Column D vs Column E	5.000	0.5237	ns P>0.05
Column D vs Column F	-3.333	0.3232	ns P>0.05
Column E vs Column F	-8.333	0.8080	ns P>0.05

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval
		From To
Column A vs Column B	18.000	
Column A vs Column C	-19.000	
Column A vs Column D	-35.000	
Column A vs Column E	-30.000	
Column A vs Column F	-38.333	
Column B vs Column C	-37.000	
Column B vs Column D	-53.000	
Column B vs Column E	-48.000	
Column B vs Column F	-56.333	
Column C vs Column D	-16.000	
Column C vs Column E	-11.000	
Column C vs Column F	-19.333	
Column D vs Column E	5.000	
Column D vs Column F	-3.333	
Column E vs Column F	-8.333	

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval	
		From	To
Column A - Column B	18.000	-14.255	50.255
Column A - Column C	-19.000	-51.255	13.255
Column A - Column D	-35.000	-69.839	-0.1607
Column A - Column E	-30.000	-64.839	4.839
Column A - Column F	-38.333	-77.099	0.4323
Column B - Column C	-37.000	-74.245	0.2448
Column B - Column D	-53.000	-92.504	-13.496
Column B - Column E	-48.000	-87.504	-8.496
Column B - Column F	-56.333	-99.340	-13.327
Column C - Column D	-16.000	-55.504	23.504
Column C - Column E	-11.000	-50.504	28.504
Column C - Column F	-19.333	-62.340	23.673
Column D - Column E	5.000	-36.641	46.641
Column D - Column F	-3.333	-48.311	41.644
Column E - Column F	-8.333	-53.311	36.644

Assumption test: Are the standard deviations of the groups equal?

ANOVA assumes that the data are sampled from populations with identical SDs. This assumption is tested using the method of Bartlett.

Bartlett's test can only be performed when every column has at least five values.

Assumption test: Are the data sampled from Gaussian distributions?

ANOVA assumes that the data are sampled from populations that follow

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Análise... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micros... 10:29

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

ANOVA assumes that the data are sampled from populations that follow Gaussian distributions. This assumption is tested using the method Kolmogorov and Smirnov:

Group	KS	P Value	Passed normality test?
Column A	0.2924	0.0154	No
Column B	0.4726	0.0005	No
Column C	0.2240	>0.10	Yes
Column D		Too few values to test.	
Column E		Too few values to test.	
Column F		Too few values to test.	

At least one column failed the normality test with $P < 0.05$. Consider using a nonparametric test or transforming the data (i.e. converting to logarithms or reciprocals).

Intermediate calculations. ANOVA table

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square
Treatments (between columns)	5	11675	2335.1
Residuals (within columns)	25	9116.7	364.67
Total	30	20792	

$F = 6.403 = (MS_{\text{treatment}} / MS_{\text{residual}})$

Summary of Data

Number	Standard
--------	----------

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Análise... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micros... 10:29

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Residuals (within columns) 25 9116.7 364.67

Total 30 20792

F = 6.403 = (MS_{treatment}/MS_{residual})

Summary of Data

Group	Number of Points	Mean	Standard Deviation	Standard Error of Mean	Median
Column A	10	95.000	18.409	5.821	85.000
Column B	5	77.000	6.708	3.000	80.000
Column C	5	114.00	31.305	14.000	120.00
Column D	4	130.00	20.000	10.000	120.00
Column E	4	125.00	10.000	5.000	120.00
Column F	3	133.33	15.275	8.819	130.00

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval From	To
Column A	80.000	120.00	81.832	108.17
Column B	65.000	80.000	68.672	85.328
Column C	80.000	160.00	75.136	152.86
Column D	120.00	160.00	98.180	161.82
Column E	120.00	140.00	109.09	140.91
Column F	120.00	150.00	95.384	171.28

* * *

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Análise... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micros... 10:30

COMPLEXO QRS

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

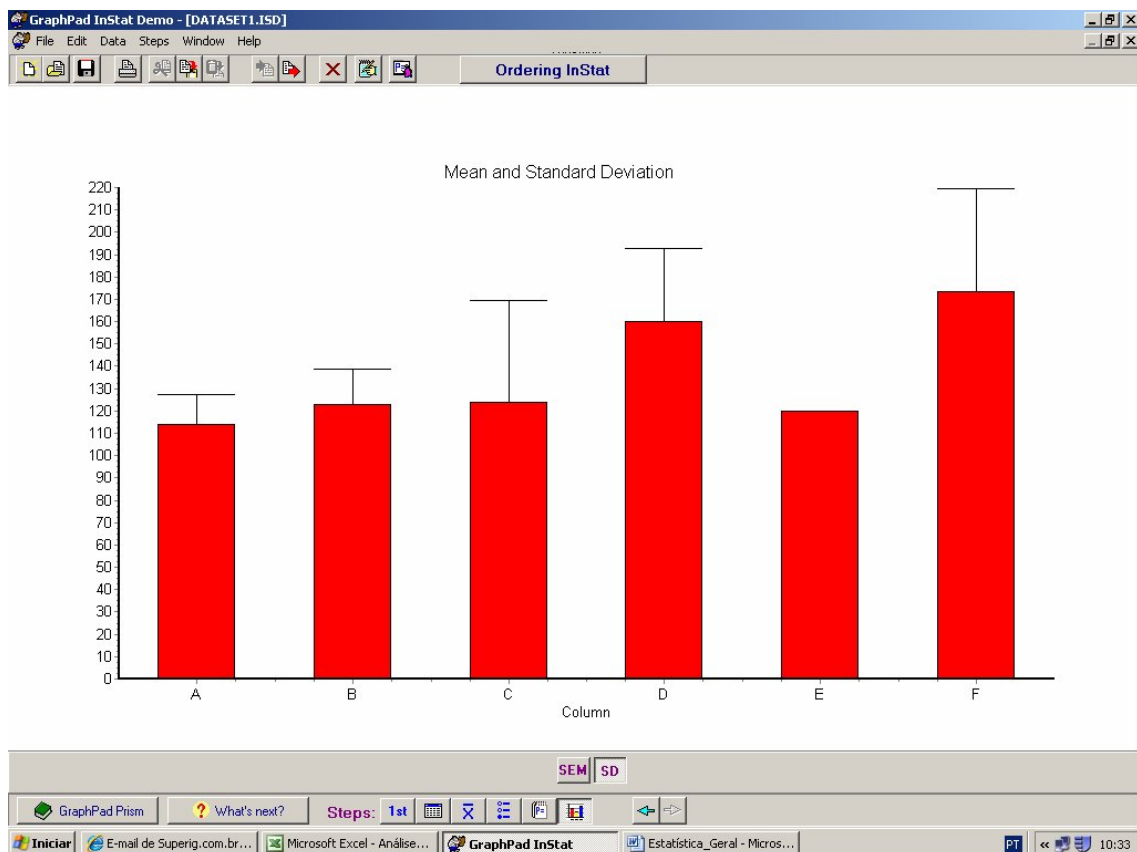
Ordering InStat

Title

	Group A	Group B	Group C	Group D	Group E	Group F	Group G	Group H	Gr
... 1	100	135	100	200	120	200			
... 2	120	140	120	160	120	120			
... 3	120	120	120	160	120	200			
... 4	120	120	200	120	120				
... 5	120	100	80						
... 6	120								
... 7	120								
... 8	80								
... 9	120								
... 10	120								
... 11									
... 12									
... 13									
... 14									
... 15									
... 16									
... 17									
... 18									
... 19									
... 20									
... 21									
... 22									
... 23									
... 24									
... 25									
... 26									
... 27									

Arranging data Importing data Steps: 1st

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Análise... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micros...



GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.0171, considered significant.
Variation among column means is significantly greater than expected by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test
If the value of q is greater than 4.361 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Column A vs Column B	-9.000	0.8564	ns P>0.05
Column A vs Column C	-10.000	0.9516	ns P>0.05
Column A vs Column D	-46.000	4.052	ns P>0.05
Column A vs Column E	-6.000	0.5286	ns P>0.05
Column A vs Column F	-59.333	4.698	* P<0.05
Column B vs Column C	-1.000	0.08241	ns P>0.05
Column B vs Column D	-37.000	2.875	ns P>0.05
Column B vs Column E	3.000	0.2331	ns P>0.05
Column B vs Column F	-50.333	3.592	ns P>0.05
Column C vs Column D	-36.000	2.797	ns P>0.05
Column C vs Column E	4.000	0.3108	ns P>0.05
Column C vs Column F	-49.333	3.521	ns P>0.05
Column D vs Column E	40.000	2.948	ns P>0.05
Column D vs Column F	-13.333	0.9099	ns P>0.05
Column E vs Column F	-53.333	3.639	ns P>0.05

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval
		From To

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Análise... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micros... 10:33

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval
		From To
Column A - Column B	-9.000	-54.832 36.832
Column A - Column C	-10.000	-55.832 35.832
Column A - Column D	-46.000	-95.504 3.504
Column A - Column E	-6.000	-55.504 43.504
Column A - Column F	-59.333	-114.42 -4.250
Column B - Column C	-1.000	-53.922 51.922
Column B - Column D	-37.000	-93.132 19.132
Column B - Column E	3.000	-53.132 59.132
Column B - Column F	-50.333	-111.44 10.776
Column C - Column D	-36.000	-92.132 20.132
Column C - Column E	4.000	-52.132 60.132
Column C - Column F	-49.333	-110.44 11.776
Column D - Column E	40.000	-19.168 99.168
Column D - Column F	-13.333	-77.243 50.576
Column E - Column F	-53.333	-117.24 10.576

Assumption test: Are the standard deviations of the groups equal?

ANOVA assumes that the data are sampled from populations with identical SDs. This assumption is tested using the method of Bartlett.

Bartlett's test cannot be performed because at least one column's standard deviation is zero.

Assumption test: Are the data sampled from Gaussian distributions?

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Análise... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micros... 10:34

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Assumption test: Are the data sampled from Gaussian distributions?

ANOVA assumes that the data are sampled from populations that follow Gaussian distributions. This assumption is tested using the method Kolmogorov and Smirnov:

Group	KS	P Value	Passed normality test?
Column A	0.4716	<0.0001	No
Column B	0.2240	>0.10	Yes
Column C	0.3349	0.0691	Yes
Column D	Too few values to test.		
Column E	Too few values to test.		
Column F	Too few values to test.		

At least one column failed the normality test with $P < 0.05$. Consider using a nonparametric test or transforming the data (i.e. converting to logarithms or reciprocals).

Intermediate calculations. ANOVA table

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square
Treatments (between columns)	5	12611	2522.2
Residuals (within columns)	25	18407	736.27
Total	30	31018	

$F = 3.426 = (MS_{\text{treatment}} / MS_{\text{residual}})$

Summary of Data

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Análise... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micros... 10:34

GraphPad InStat Demo - [DATASET1.ISD]

File Edit Data Steps Window Help

Ordering InStat

Residuals (within columns)	25	18407	736.27
Total	30	31018	

$F = 3.426 = (MS_{\text{treatment}} / MS_{\text{residual}})$

Summary of Data

Group	Number of Points	Mean	Standard Deviation	Standard Error of Mean	Median
Column A	10	114.00	13.499	4.269	120.00
Column B	5	123.00	15.652	7.000	120.00
Column C	5	124.00	45.607	20.396	120.00
Column D	4	160.00	32.660	16.330	160.00
Column E	4	120.00	0.000	0.000	120.00
Column F	3	173.33	46.188	26.667	200.00

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval From	95% Confidence Interval To
Column A	80.000	120.00	104.34	123.66
Column B	100.00	140.00	103.57	142.43
Column C	80.000	200.00	67.380	180.62
Column D	120.00	200.00	108.04	211.96
Column E	120.00	120.00	120.00	120.00
Column F	120.00	200.00	58.587	288.08

* * *

Checklist What's next? Steps: 1st

Iniciar E-mail de Superig.com.br... Microsoft Excel - Análise... GraphPad InStat Estatística_Geral - Micros... 10:34

ANEXO - Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais



Título: "ESTUDOS CARDIOFISIOLÓGICOS *IN VITRO*"

Protocolo: 016/2009

Natureza do Pedido: Pesquisa

Departamento: NPT – Núcleo de Pesquisas Tecnológicas

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

Resumo

O trabalho tem como objetivo determinar os parâmetros cardiofisiológicos e indução de arritmias em corações isolados ou átrios (direito e esquerdo) de ratos, em diferentes idades, com ou sem hipertensão; com ou sem diabetes, submetidos ou não a exercício físico e pré-tratados ou não com fármacos.

Parecer

A seleção, alojamento e manipulação estão adequados aos princípios bioéticos na utilização de animais em experimentação. Entretanto, o número de sujeitos experimentais não foi definido e o cronograma não foi estipulado. Assim, como a CEUA não aprovou os chamados projetos "guarda-chuva", e também diante da necessidade de entrega de relatório ao final da pesquisa, pede-se ao pesquisador que todos os projetos vinculados ao protocolo 016 sejam enviados à Comissão de Ética no Uso de Animais para uma nova avaliação. Além disso, como as normas do CONCEA ainda não foram aprovadas, a avaliação de projetos muito longos deverá ser revista.

Conclusão

Projeto aprovado.

Mogi das Cruzes, 26 de Outubro de 2009.

Prof.ª. Maria Santina de Castro Morini
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA
Universidade de Mogi das Cruzes - UMC

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](#)