

UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

IVAN DOS SANTOS VIVAS

ESTUDO QUANTITATIVO DO EFEITO INOTRÓPICO DE TIORIDAZINA
EM ÁTRIO ESQUERDO ISOLADO DE RATO

Mogi das Cruzes, SP

2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

IVAN DOS SANTOS VIVAS

ESTUDO QUANTITATIVO DO EFEITO INOTRÓPICO DE TIORIDAZINA
EM ÁTRIO ESQUERDO ISOLADO DE RATO

Dissertação apresentada à Comissão de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade de Mogi das Cruzes, para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Biomédica

Prof. Orientador: Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

Mogi das Cruzes, SP

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Vivas, Ivan dos Santos

Estudo quantitativo do efeito inotrópico da Tioridazina em átrio esquerdo isolado de rato / Ivan dos Santos Vivas. – 2010.

55 f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade de Mogi das Cruzes, 2010

Área de concentração: Bioengenharia

Orientador: Prof Dr Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

1. Coração isolado de rato (*in vitro*) 2. Contração cardíaca 3. Ação das fenotiazinas 4. Medicina Experimental I. Vivas, Ivan dos Santos

CDD 619.93

**DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO MESTRADO
EM ENGENHARIA BIOMÉDICA**

No dia 29/07/10 o candidato *Ivan dos Santos Vivas*, após realizar os créditos exigidos, ser aprovado no exame de Proficiência em Inglês, e no exame de Qualificação, apresentou o trabalho "*Estudo quantitativo do efeito inotrópico de tionidazina em átrio esquerdo isolado de rato*" para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Os membros da banca consideram o candidato:

Dr. Tiago Rodrigues
Dr. Jean Jacques Bonvent
Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

Conceito

Aprovado
Aprovado
Aprovado



Prof. Dr. Tiago Rodrigues
Universidade Federal do ABC



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



Prof. Dr. Jean Jacques Bonvent
Universidade Federal do ABC

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, sempre me apoiando e permitindo que mais um obstáculo fosse vencido. Sem vocês as coisas seriam muito mais difíceis.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para a finalização desse trabalho, que tiveram ao meu lado nessa longa estrada percorrida.

Além de dedicar, agradeço aos meus pais por ajudarem e por me apoiarem na finalização desse trabalho.

Agradeço imensamente ao meu orientador, por sua sabedoria e orientação para a elaboração, desenvolvimento e finalização desse trabalho.

Agradeço aos meus amigos de laboratório, que me ajudaram em diversas etapas desse trabalho. O João e o Leandro (*in memoriam*) que auxiliaram o início desse trabalho. A Bia e ao Gustavo que me auxiliaram no desenvolvimento do experimento, muito obrigado por terem me ajudado nessa fase tão difícil do projeto, não tenho como deixar impresso em palavras a minha gratidão, torço muito pelo sucesso de vocês. E agora, na finalização do meu trabalho, um agradecimento especial a minha amiga Tati, obrigado por torcer, ajudar e acreditar em mim.

Agradeço também aos novos amigos e colegas no NPT dessa instituição, como o Pedro, a Regina, o Paulo, a Marília, a Andriessa, dentre outros.

Não posso deixar de agradecer a minha amiga e confidente, companheira de muitas idas e vindas pela Rio-Santos e Mogi-Bertioga, uma redescoberta muito gratificante, a Miúcha, um especial obrigado, você sabe o quanto foi importante na motivação e finalização desse trabalho.

A todos os funcionários ligados aos NPT desta instituição.

Aos amigos e família, não teria como citá-los, porque seria impossível escrever palavras a altura do que vocês significam para mim. Obrigado por tudo!

“O que sabemos é uma gota,
o que ignoramos é um oceano”.

(Isaac Newton)

RESUMO

A Tioridazina é uma droga antipsicótica, do grupo das Fenotiazinas, frequentemente associada a importantes distúrbios cronotrópicos do coração, incluindo a morte súbita cardíaca e alterações adversas no eletrocardiograma. Contudo, no que se refere especificamente ao efeito inotrópico cardíaco causado por Fenotiazinas em geral (incluindo as Tioridazinas), há resultados controversos, mostrando que ora este efeito é positivo ora é negativo. Assim, visando ajudar a elucidar o efeito da Tioridazina sobre a força de contração cardíaca, o presente estudo tem por objetivo avaliar as alterações inotrópicas cardíacas em diferentes concentrações deste fármaco. Isto foi feito utilizando uma montagem experimental de átrio esquerdo isolado de ratos Wistar machos adultos, estimulado eletricamente em regime de contração isométrica. Esta montagem foi validada através da análise do mecanismo de Frank-Starling, obtido a partir do levantamento da curva “Força x Estiramento Atrial”. Nesta montagem foram medidos e avaliados o valor do $t_{1/2}$ de contração (tempo necessário para atingir metade do pico de contração) e do $t_{1/2}$ de relaxamento (tempo necessário para atingir metade do pico de contração durante o relaxamento), e o pico da força. O átrio isolado foi continuamente perfundido com solução de Krebs-Henseleit a 36,5 °C, pH de 7,4. O experimento foi dividido em quatro grupos experimentais, com três átrios cada, um grupo controle (sem adição do fármaco) e três grupos Testes, com Tioridazina nas concentrações de 0,5, 1 e 2 μ M. As médias dos valores encontrados para $t_{1/2}$ de contração se mantiveram estáveis entre os grupos, não apresentando variações significativas (variação de 21 a 24ms em função do tempo no grupo controle e 20 a 25ms nos grupos Testes). O mesmo aconteceu com o $t_{1/2}$ de relaxamento atrial (variação de 18 a 21ms em função do tempo no grupo controle e 16 a 23ms nos grupos Testes). Os valores de pico de força na condição controle alcançaram um pequeno acréscimo nos primeiros dez minutos, apresentando a partir desse ponto uma diminuição gradativa até 60% de perda ao final do experimento. Nos resultados nos grupos Testes, o pico de força aumentou progressivamente (de 39 a 122%) nos primeiros 60 minutos, decaindo de 30 a 84% até o término do experimento. O pico da força não aumentou linearmente com a concentração da droga, exibindo aumentos de 120% com a droga na concentração de 1 μ M (maiores picos de força) e 28 e 43% nas concentrações de 0,5 e 2 μ M, respectivamente. Conclui-se com esse estudo que a Tioridazina, neste modelo experimental e nas doses estudadas, aumentam a inotropismo atrial sem, contudo, alterar significativamente a cinética de contração e de relaxamento.

Palavras-chave: inotropismo cardíaco, relaxamento cardíaco, contração cardíaca, Fenotiazinas

ABSTRACT

The Thioridazine is an antipsychotic drug from the group of Phenothiazines. This drug is frequently associated to important disturbances on cardiac chronotropy, including sudden cardiac death and adverse changes in the electrocardiogram. However, considering specifically the cardiac inotropy there are controversial results showing that Phenothiazines might have positive or negative effects. Thus, in order to help elucidating the effect of Thioridazine on cardiac contraction, this study aims to evaluate changes in cardiac inotropic in different concentrations of this drug. This was done by using an experimental setup for adult rat isolated left atrium preparation (Wistar rats). The atria were electrically stimulated under conditions of isometric contraction. The atrium preparation was validated by analysis of the Frank-Starling mechanism, obtained from the "Force x Stretch Curve". It was measured and evaluated the force peak (maximum contraction strength), the values of $t_{1/2}$ of contraction (time to reach half of the force peak during contraction) and $t_{1/2}$ of relaxation (time to reach half of force peak during relaxation). The isolated atrium was perfused continuously with Krebs-Henseleit solution at 36.5 ° C, pH 7.4. The experiments were divided in four groups, each with three rats: a Control group (no drug) and three Test groups, with Thioridazine in concentrations of 0.5, 1 and 2 μ M. The mean values for $t_{1/2}$ of contraction were stable among the groups, showing no significant variations which ranged from 21 to 24ms and from 20 to 25ms, respectively to Control e Test groups. Similarly, there were no significant variations on the $t_{1/2}$ of atrial relaxation which ranged from 18 to 21ms and from 16 to 23ms, respectively to Control e Test groups. The values of force peak in the control group increased in the first ten minutes, and gradually decreased to 60% of its initial value until the end of the experiment. As for the Test groups, the peak force increased progressively (39-122%) in the first 60 minutes, and gradually decreased to 30-84% of its initial value until the end of the experiment. The force peak did not increase linearly with drug concentration, showing increases of 120% with the drug at a concentration of 1 μ M, and 28 and 43% at concentrations of 0.5 and 2 μ M, respectively. We conclude that, as for the atrial preparation, Thioridazine increases cardiac inotropism with no significant alteration on contraction-relaxation kinetics.

Keywords: cardiac inotropism; cardiac relaxation; cardiac contraction, Phenothiazines

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Ilustração do intervalo Q-T no eletrocardiograma.....	13
Figura 2. Porcentagem de pacientes com aumento do QTc maior ou igual a 60ms.....	15
Figura 3. Ilustração do potencial de ação (PA) no cardiomiócito.....	19
Figura 4. Ilustração da ativação dos canais de Ca^{2+} durante o PA.....	21
Figura 5. A: Ilustração do sarcômero com a disposição dos filamentos de actina e miosina. B: Ilustração da variação da disposição dos filamentos de actina e miosina em diferentes graus de estiramento do sarcômero.....	24
Figura 6. Ilustração esquemática da montagem experimental.....	29
Figura 7. Registros de força de contração isométrica em diferentes estiramentos do átrio.....	31
Figura 8. Ilustração do ajuste da curva de força atrial na contração em função do tempo a uma equação de Boltzmann.....	34
Figura 9. Ilustração do ajuste da curva de força no relaxamento em função do tempo a uma equação de Boltzmann.....	35
Figura 10. Gráfico do pico de força de contração isométrica do átrio esquerdo (média \pm erro) em relação ao estiramento muscular ao qual ele foi submetido....	37
Figura 11. Gráfico que expressa o pico de força de contração atrial em relação a frequência.....	38
Figura 12. Gráficos de $t_{1/2}$ de contração (expressa em ms) em função do tempo de experimento, nos diferentes grupos experimentais.....	40
Figura 13. Gráficos de $t_{1/2}$ de relaxamento (expressa em ms) em função do tempo de experimento, nos diferentes grupos experimentais.....	41
Figura 14. Gráficos de pico de força de contração atrial (normalizada) nos diferentes grupos experimentais.....	42
Figura 15. Gráfico dos picos de força (normalizados) em função do tempo nos diversos grupos experimentais.....	44
Figura 16. Gráfico da variação do pico de força (normalizada) em relação a concentração da Tioridazina (em μ M) após 50 minutos de sua diluição na solução de perfusão.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Adenosina Trifosfato
Ca ²⁺	Íon Cálcio
CEDEME	Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Medicina e Biologia
CICR	Ca ²⁺ induz Ca ²⁺ released
cm	Centímetros
cols	Colaboradores
ECG	Eletrocardiograma
FC	Frequência Cardíaca
Hz	Hertz
K ⁺	Íon Potássio
KH	Krebs-Henseleit
mgF	Miligrama Força
min	Minutos
mm	Milímetros
mM	Milimolar
ms	Milissegundos
Na ⁺	Íon Sódio
PA	Potencial de Ação
QTc	Intervalo QT corrigido
SR	Retículo Sarcoplasmático
UMC	Universidade de Mogi das Cruzes
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
μM	micromolar

SUMÁRIO

1. Introdução.....	12
2. Objetivo.....	17
Objetivo Geral.....	17
Objetivos Específicos.....	17
3. Aspectos Teóricos.....	18
Potencial de Membrana.....	18
Acoplamento Excitação-Contração.....	20
Relação Força-Estiramento Muscular.....	22
4. Materiais e Métodos.....	26
4.1. Animais.....	26
4.2. Solução Fisiológica.....	27
4.3. Preparação Biológica.....	27
4.4. Montagem Experimental.....	27
4.5. Protocolo Experimental.....	28
4.5.1. Protocolo para análise do efeito do estiramento atrial sobre o inotropismo atrial.....	28
4.5.2. Protocolo para Análise do Efeito da Frequência Sobre o Inotropismo Atrial.....	30
4.5.3. Protocolo para Análise do Efeito da Tioridazina sobre o Pico da Força Atrial e a Cinética de Contração-Relaxamento.....	30
4.6. Análise dos Dados.....	32
5. Resultados.....	36
5.1. Caracterização da força atrial na ausência de fármaco.....	36

5.1.1. Efeito do estiramento atrial.....	36
5.1.2. Efeito da frequência cardíaca no inotropismo atrial.....	36
5.2. Caracterização do efeito da Tioridazina sobre o inotropismo atrial.....	36
5.2.1. Efeito da Tioridazina Sobre a Cinética de Contração Atrial.....	39
5.2.2. Efeito da Tioridazina Sobre a Cinética de Relaxamento atrial.....	39
5.2.3. Efeito da Tioridazina Sobre o Pico da Força Atrial.....	39
6. Discussão e Conclusões.....	39
6.1. Efeito do estiramento sobre a força de contração atrial...	46
6.2. Efeito da Frequência sobre a Força de Contração Atrial	46
6.3. Efeito da Tioridazina sobre a Contração e o Relaxamento Atrial.....	46
6.4. Conclusões.....	47
Referências Bibliográficas.....	51
	52

1. Introdução

A Tioridazina é uma droga antipsicótica pertencente ao grupo das Fenotiazinas. Ela foi introduzida na prática clínica desde 1959 para tratamento de distúrbios neuropsiquiátricos, principalmente para esquizofrenia. Porém, desde a década de 60, há relatos de morte súbita cardíaca e alterações no eletrocardiograma em indivíduos que fizeram uso dessa droga (Kelly et al, 1963). Neste sentido, mais recentemente, Ray e cols. (2001) evidenciaram em seu estudo uma chance 2,39 vezes maior de morte súbita em indivíduos em tratamento medicamentoso com antipsicóticos como a Tioridazina.

No que se referem ao sistema cardiovascular, os efeitos da Tioridazina sobre o eletrocardiograma (ECG) mais conhecido são o prolongamento do intervalo Q-T, *Torsades de Pointes* e arritmias ventriculares (Mackin, 2007; Milnes et al, 2006; Glassman & Bigger, 2001). Além das anormalidades no ECG, o uso das Fenotiazinas pode precipitar hipotensão ortostática e, conseqüentemente, síncope de origem não cardíaca, sendo esses sintomas de gravidade inferior as alterações eletrocardiográficas (Mackin, 2007).

O intervalo Q-T compreende o início da despolarização ventricular, caracterizado pela onda Q do complexo QRS (complexo eletrocardiográfico relacionado à despolarização ventricular), até o final da repolarização, caracterizado por sua vez pelo término da onda T (figura 1). Desta forma, o prolongamento do intervalo Q-T pode ser conseqüência de uma diminuição na repolarização devido a um retardo da saída do K^+ ou a um prolongamento na despolarização, causado por um aumento na entrada de Na^+ , de Ca^{2+} ou de ambos (Brown et al, 2004). Porém pode ocorrer uma redução fisiológica do intervalo Q-T quando a frequência cardíaca (FC) aumenta. Para corrigir o efeito dessa alteração fisiológica da FC sobre o intervalo QT utiliza-se o chamado “intervalo Q-T corrigido” (QTc). O QTc é calculado a partir de uma fórmula desenvolvida por Bazett, onde $QTc = QT/FC^{1/2}$ (Haddad & Anderson, 2002).

O aumento do intervalo Q-T pode precipitar um tipo de arritmia ventricular chamada *Torsades de Pointes*. A *Torsades de Pointes* é uma taquicardia ventricular polimórfica, que pode cessar espontaneamente, precipitando somente uma síncope, ou desencadear uma fibrilação ventricular e como conseqüência uma “parada cardíaca” e morte súbita (Cirenza et al, 2005). O risco da *Torsades de Pointes* aumenta com o prolongamento do intervalo Q-T, porém essa relação não é linear (Haddad & Anderson, 2002).

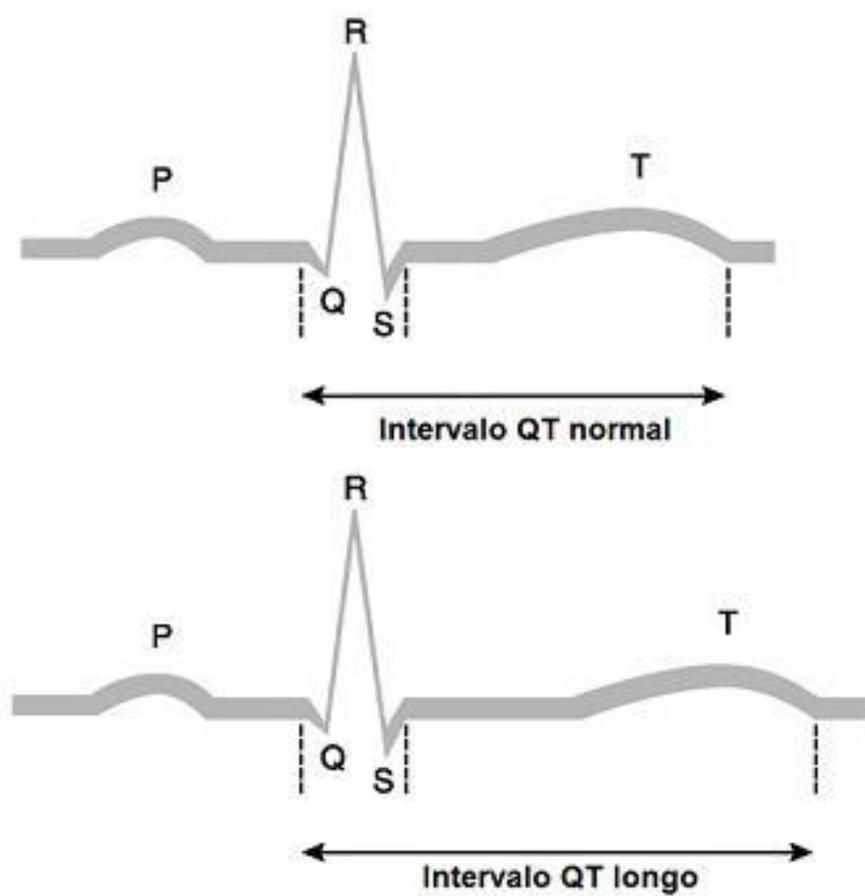


Figura 1. Ilustração do intervalo Q-T no eletrocardiograma. Comparação entre um intervalo Q-T normal com um prolongamento do intervalo Q-T (modificado de Miguel Junior, 2010)

Segundo Bazire (apud Carreiro; Martins; Carvalho, 2006) o risco de *Torsades de Pointes* é maior na presença de Tioridazina, devido a essa droga causar um maior prolongamento do intervalo Q-T. O estudo de Haddad & Anderson (2002), justifica essa afirmativa, onde os pacientes tratados com Tioridazina obtiveram um maior porcentagem de aumento do intervalo Q-T e 10% desses pacientes tiveram um aumento maior ou igual a 75ms no QTc, sendo que esse valor só foi atingido pela Ziprasidona (em 3% dos pacientes), a figura 2 ilustra esses resultados.

Em vista das expectativas clínicas atuais, ocorreu descontinuação da produção da droga em todo mundo no dia 30 de Junho de 2005 (WHO, 2005). Atualmente a Tioridazina tem sido utilizada como droga indutora de arritmia em pesquisas de fármacos antiarrítmicos e, mais recentemente, tem-se estudado seus efeitos antimicrobianos (Thanacoody, 2007), principalmente sobre a *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente à quimioterapia convencional (Ordway et al, 2003; Sohaskey, 2008), porém ainda sem aplicação clínica. Desta forma estudos sobre o comportamento da Tioridazina sobre o sistema cardiovascular ainda são necessários.

Tendo em vista o exposto anteriormente, é possível depreender que as alterações no intervalo Q-T devido às Fenotiazinas são razoavelmente conhecidas e amplamente estudadas. Porém outras alterações parecem estar presentes, podendo atuar na gênese de arritmias cardíacas. Alterações no intervalo PR, RR e do complexo QRS também podem estar presentes e precipitar bloqueio atrioventricular (Ferreira et al, 2008). Porém elas não podem ser explicadas completamente pelas alterações dos canais de K^+ , sugerindo que essas drogas possam atuar em outros canais iônicos, como, por exemplo, nos canais de Ca^{2+} . Estes canais, que têm papel fundamental na contração cardíaca, assim como na contração dos músculos estriados e lisos, serão abordados com mais detalhes nos aspectos teóricos desse trabalho.

Estudos publicados com o intuito de identificar alterações nos canais iônicos de Ca^{2+} na presença da Tioridazina indicam que estas alterações afetam, de forma adversa, o traçado do ECG e a força de contração do miocárdio (Hollander & Cain, 1971; Brannan et al, 1980; Landmark, 1972; Gould et al, 1984; Thorgeirsson & Rudolph, 1984). Contudo, no que se refere especificamente ao efeito inotrópico cardíaco causado por fenotiazinas em geral (incluindo as Tioridazinas), há resultados controversos, mostrando que ora este efeito é positivo (Hollander & Cain, 1971) ora é negativo (Gould et al. 1984).

Recentemente Qin e cols. (2009) encontraram em seu estudo um efeito agonista dos receptores rianodínicos (receptores mediadores da liberação de Ca^{2+} pelo retículo

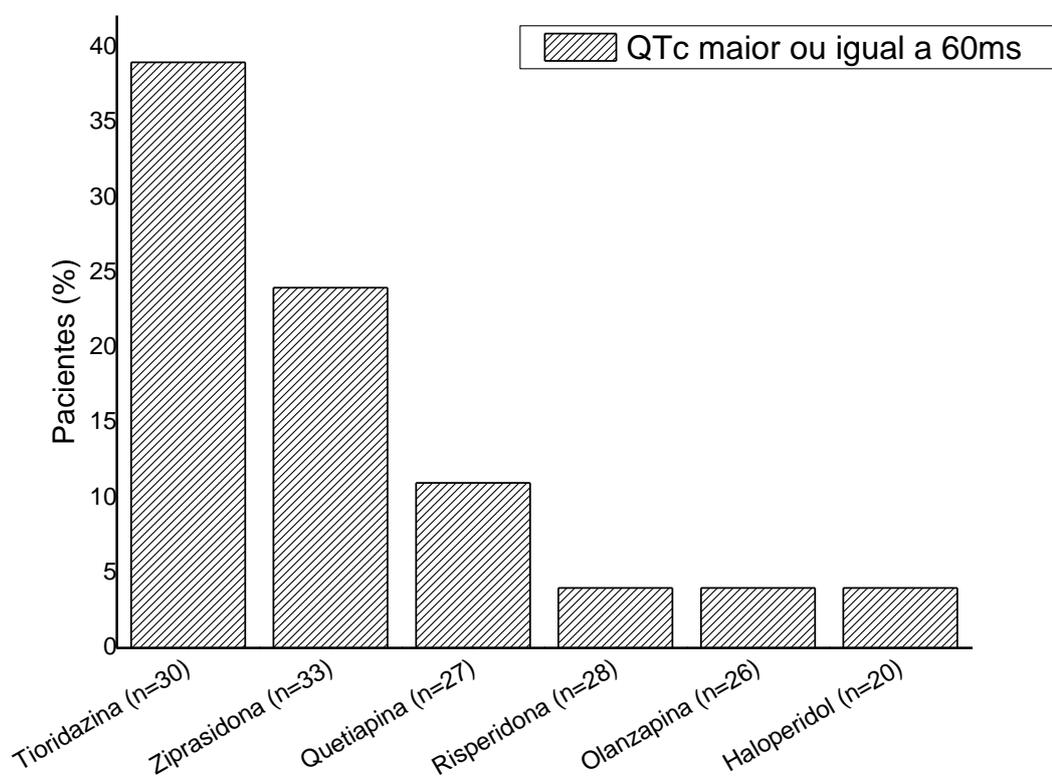


Figura 2. Porcentagem de pacientes com aumento do QTc maior ou igual a 60ms.

sarcoplasmático) da Trifluoperazina (outro fármaco antipsicótico do grupo das Fenotiazinas), sendo dessa forma capazes de aumentar a força de contração tanto por uma maior liberação de Ca^{2+} como por um retardo na sua reabsorção.

Assim, visando ajudar a elucidar o efeito da Tioridazina sobre a força de contração cardíaca, o presente estudo tem por objetivo avaliar as alterações inotrópicas cardíacas em diferentes concentrações deste fármaco.

2. Objetivo

GERAL

Avaliar o efeito da Tioridazina sobre o inotropismo cardíaco em átrio esquerdo isolado de ratos.

ESPECÍFICOS

- 1- Avaliar a aplicabilidade da montagem experimental para a mensuração das variáveis de força em átrio esquerdo isolado e eletricamente estimulado de rato *in vitro*;
- 2- Quantificar o efeito inotrópico de Tioridazina sobre o pico da força de contração;
- 3- Quantificar o efeito da Tioridazina sobre a cinética da contração e relaxamento do átrio esquerdo;
- 4- Avaliar o efeito do tempo de ação da Tioridazina sobre a força de contração e da cinética e contração e relaxamento do átrio esquerdo.

3. Aspectos Teóricos

Diversos fármacos, incluindo as Fenotiazinas, afetam o potencial de membrana do coração exercendo efeitos sobre as proteínas que viabilizam o transporte iônico através da membrana celular, como por exemplo, os canais e transportadores iônicos. Estes efeitos podem afetar de maneira importante tanto o inotropismo como o cronotropismo cardíaco.

Potencial de Membrana

A descrição biofísica do potencial de membrana resultou em um prêmio Nobel para seus autores (Hodgkin & Huxley, 1952). De maneira geral, no repouso, o potencial de membrana é negativo (aproximadamente -85mV) no interior da célula. No repouso não há propagação do potencial de membrana na célula. Nas células excitáveis, como os cardiomiócitos, a despolarização ventricular é mediada principalmente pela abertura dos canais de sódio (Na^+). O aumento do influxo de Na^+ para o interior da célula cardíaca ocorre devido ao gradiente de concentração deste íon através da membrana (a concentração extracelular de Na^+ é 140mM e a intracelular é 15mM). Por tratar-se de um processo de realimentação positiva, ou seja, a entrada de Na^+ despolariza a membrana, que por sua vez abre mais canais de Na^+ aumentando a entrada de Na^+ , o potencial de membrana se despolariza rapidamente, chegando inclusive a torna-se positivo em relação ao meio intracelular (fase 0 e 1 da figura 3). Isto caracteriza o disparo do chamado Potencial de Ação (PA). O PA disparado pela entrada de Na^+ numa parte da membrana é um fenômeno elétrico que, diferente do potencial de repouso, se propaga através da membrana, dando início à despolarização do tecido excitável como um todo.

Tendo em vista que os canais de Na^+ se inativam com o tempo, dá-se o início a repolarização da membrana. No entanto, praticamente em seguida à abertura dos canais de Na^+ , inicia-se a abertura dos canais de Ca^{2+} . Devido ao gradiente de concentração do íon Ca^{2+} através da membrana – a concentração extracelular de Ca^{2+} é maior (100mM) em relação a intracelular (10^{-4}mM), a abertura destes canais causa a entrada desse íon para o interior da célula, tendendo a manter a despolarização da membrana, promovendo um platô no potencial de ação (fase 2 da figura 3).

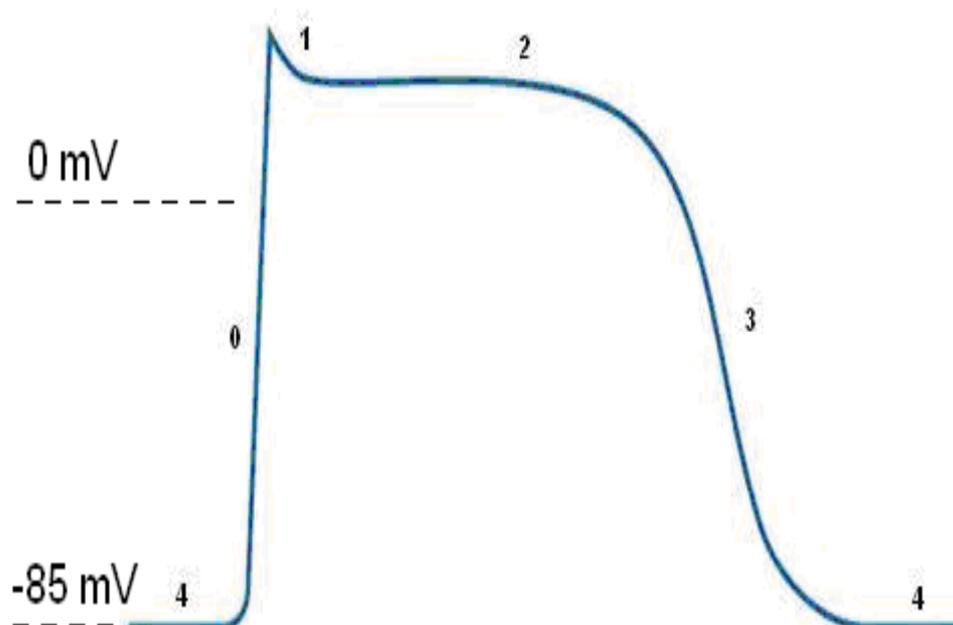


Figura 3- Ilustração do potencial de ação (PA) no cardiomiócito. O 0 indica a fase de despolarização rápida; 1 a repolarização precoce; 2 o platô; 3 a repolarização; e 4 o potencial de repouso (modificado de Berne & Levy, 2000)

Novamente, tendo em vista que os canais de Ca^{2+} também se inativam com o tempo sobressai-se sobre o potencial de membrana o efeito da saída de íons K^+ para fora do miócito, devido ao gradiente de concentração deste íon através da membrana – concentração extracelular (4mM) menor que a intracelular (140mM). Isto acelera a repolarização da membrana até o nível do potencial de repouso, finalizando o fenômeno do PA (fase 3 e 4 da figura 3). Vale lembrar novamente que PA é um fenômeno auto-regenerativo que uma vez disparado numa parte da membrana se propaga por ela e para outras células, produzindo a ativação elétrica do tecido excitável como um todo.

Acoplamento Excitação-Contração

A ativação elétrica cardíaca dispara a atividade mecânica de bombeamento de sangue pelo coração. Isto se dá através do acoplamento-excitação que é iniciado com a entrada de Ca^{2+} no interior do miócito durante o platô do PA.

Dois tipos de canais de Ca^{2+} são especialmente importantes para a ativação elétrica e para o acoplamento excitação-contração: os de abertura lenta (canais de Ca^{2+} tipo L) e os de abertura rápida (canais Ca^{2+} tipo T). Os canais do tipo T estão localizados em maior número nas células do nó sinusal, participando no processo de geração rítmica dos potenciais de ação (Douglas & Mendes, 2002). Já os canais tipo L são os mais abundantes na membrana plasmática dos miócitos cardíacos, sendo responsáveis por parte do fluxo de Ca^{2+} para dentro da célula cardíaca que caracterizam o platô do PA (Douglas & Mendes, 2002; Bassani, 2006). Alguns canais de Ca^{2+} estão internamente acoplados aos receptores de rianodina dos retículos sarcoplasmáticos (SR). Estes receptores rianodínicos são sensíveis ao Ca^{2+} que entra por estes canais de Ca^{2+} acoplados a eles, fazendo a liberação de grande quantidade de Ca^{2+} armazenada no SR para o citosol. Esta liberação de Ca^{2+} do SR induzida pela entrada de Ca^{2+} é conhecida como “ Ca^{2+} - induced Ca^{2+} release” (CICR) (Altamirano & Bers, 2007; Bassani, 2006). O CICR é o maior responsável pela elevação dos níveis intracelulares de Ca^{2+} , tendo assim um papel fundamental na contração do músculo cardíaco (Bers, 2002). Desta forma, o CICR consiste, essencialmente, no mecanismo fisiológico que medeia o acoplamento excitação-contração.

O Ca^{2+} tem um papel importante na contração muscular, pois é ele que medeia o deslizamento das proteínas (actina e miosina) que promovem o encurtamento do sarcômero, que é a unidade contrátil do cardiomiócito. Uma vez no sarcômero, o Ca^{2+} se combina com a

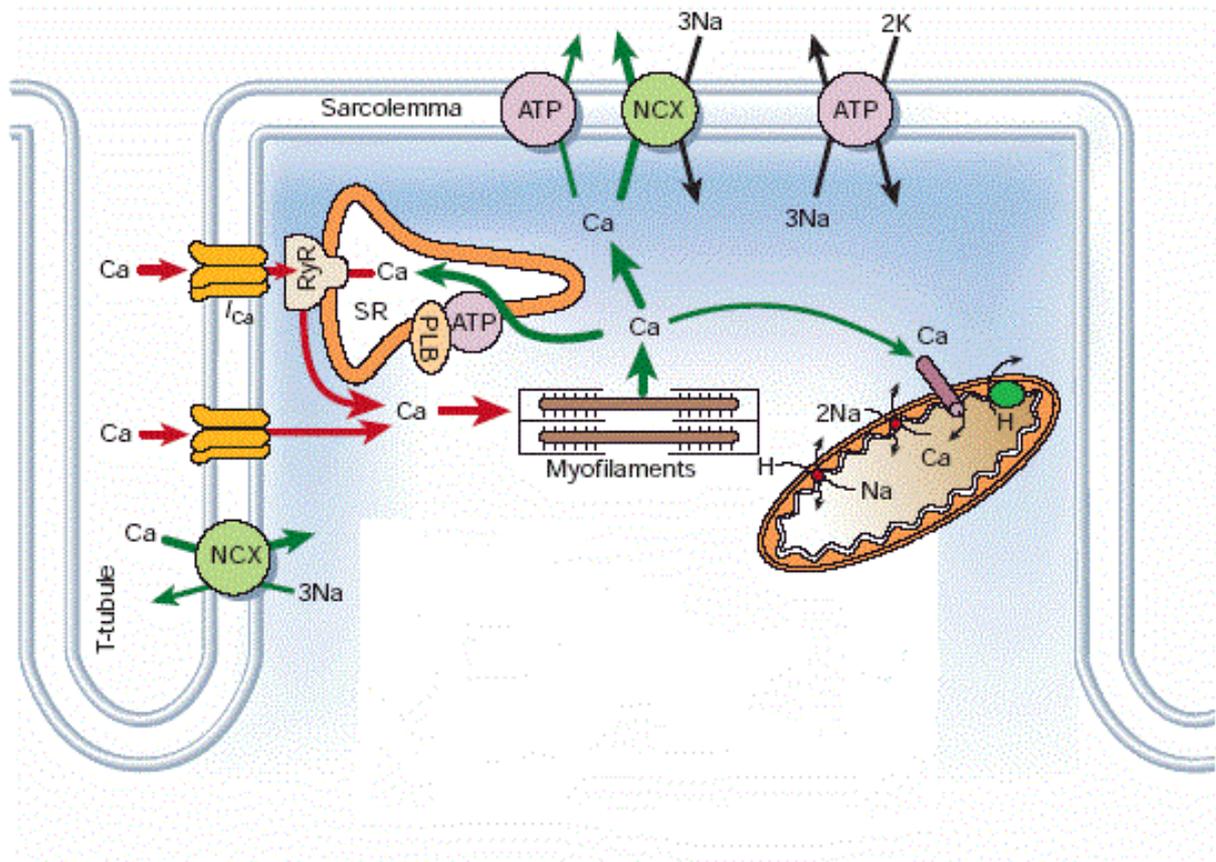


Figura 4. A ativação do PA ativa os canais de Ca^{2+} voltagem dependentes (canais do tipo L), que resulta na entrada do Ca^{2+} e ativação da liberação de mais Ca^{2+} pelo SR, via receptores rianodínicos, ativando assim a contração. Onde: NCX , Trocador Na^+/Ca^{2+} ; PLB , Fosfolamban; RyR , Receptores rianodínicos (Bers, 2002).

troponina C, levando as alterações conformacionais do complexo troponina. Estas alterações conformacionais levam à movimentação da molécula de tropomiosina, deixando assim os locais ativos da actina livre para que as cabeças de miosina se fixem. Isto faz com que ocorra um deslizamento entre actina e miosina, promovendo a contração do sarcômero (Fukuda et al, 2009; Bydlowski & Bydlowski, 2002; Murphy et al, 2000).

Para que o relaxamento ocorra é necessária, portanto, uma diminuição da concentração do Ca^{2+} intracelular que iniciou o processo de contração. Isto requer o transporte do Ca^{2+} para fora do citosol que acontece principalmente pela recaptação de Ca^{2+} pelo SR e extrusão de Ca^{2+} pelo trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ trabalhando em modo direto (Bers, 2002).

O principal mecanismo para diminuição da concentração de Ca^{2+} no citosol se dá através da recaptação de Ca^{2+} pelo SR. O SR capta o Ca^{2+} através de uma bomba de Ca^{2+} energizada pelo ATP (SERCA2a), estimulada pela proteína fosfolamban (proteína moduladora presente na membrana do SR), concentrando uma quantidade significativa de Ca^{2+} no interior dos túbulos sarcoplasmáticos (Keurs & Boyden, 2007). Além disso, existe dentro do SR uma proteína chamada calsequestrina capaz de fixar ainda mais Ca^{2+} , aumentando assim o armazenamento de Ca^{2+} no interior do SR (Murphy et al, 2009)

O trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ também participa das alterações das concentrações de Ca^{2+} e, conseqüentemente, do inotropismo cardíaco. A estequiometria do trocador é de 3:1, ou seja, ele transporta três íons Na^+ para cada íon Ca^{2+} , caracterizando uma troca eletrogênica. Este trocador trabalha em dois modos, conhecidos como: direto ou reverso. No modo direto ele transporta Na^+ para dentro da célula e Ca^{2+} para fora, ajudando na remoção do Ca^{2+} intracelular. No modo reverso ele transporta Na^+ para fora da célula e Ca^{2+} para dentro, ajudando a prover Ca^{2+} no processo de contração. O sentido da troca depende do potencial de membrana, que por sua vez é influenciada pelo próprio efeito eletrogênico da troca (Blaustein & Lederer, 1999).

Em suma, o controle adequado da concentração intracelular do íon cálcio é fundamental para os processos de contração e relaxamento cardíaco disparados durante o PA por meio do acoplamento excitação-contração, mediado pelo mecanismo fisiológico de CICR. Todo o processo explicado acima pode ser visualizado na figura 4.

Relação força-estiramento muscular

O conhecimento da relação força-estiramento data desde a publicação dos trabalhos de Frank (1895) com coração de sapos isolados e de Starling (1897) com preparação coração-pulmão de cães. A partir desses trabalhos verificou-se uma relação linear de força-estiramento,

ou seja, quanto maior o estiramento muscular cardíaco, maior é a força de contração. Desta forma, quanto maior o enchimento sistólico do coração, maior será o inotropismo cardíaco. Essa relação apresenta um estiramento máximo, a partir do qual a força de contração começa a diminuir e a fibra muscular começa a sofrer lesões.

O conhecimento das bases fisiológicas desse mecanismo só foi possível através da microscopia eletrônica, verificada por Gordon, Huxley e Julian (1966). Foi este estudo que esclareceu a íntima relação entre a capacidade contrátil e a disposição espacial da actina e miosina no sarcômero

O sarcômero é definido como a unidade contrátil da miofibrila, presente no músculo estriado e cardíaco. Dentro do sarcômero localizam-se grandes moléculas polimerizadas de proteína, responsáveis pela contração muscular, chamadas de filamentos de actina e miosina. A figura 5A ilustra a disposição desses filamentos no sarcômero.

Um filamento de miosina é formado por 200 ou mais moléculas de miosina. Estas moléculas são formadas por uma porção chamada de corpo e várias proeminências, chamados de braços, que por sua vez terminam em estruturas denominadas cabeças. O conjunto de braços e cabeças é chamado de pontes cruzadas. Essas pontes apresentam dois pontos flexíveis (dobradiças), entre o braço e o corpo do filamento e outro entre a cabeça e o braço.

Os filamentos de actina apresentam sítios ativos que interagem com as pontes cruzadas da miosina. Esses sítios ativos são inibidos por duas proteínas chamadas troponina e tropomiosina. Na presença do Ca^{2+} , essas proteínas sofrem alterações conformacionais, deixando os sítios ativos livres para se ligarem a cabeça das pontes cruzadas da miosina. Desta forma, a cabeça se fixa a um sítio ativo, que provoca alterações nas forças intramoleculares fazendo com que a cabeça se desloque em direção ao braço, tracionando dessa forma o filamento de actina. Logo após esse movimento, a cabeça se solta automaticamente do sítio ativo, voltando a sua posição normal e dessa forma se fixando a um novo sítio ativo situado mais adiante.

A interação entre as pontes cruzadas dos filamentos de miosina e os sítios ativos dos filamentos de actina causa um encurtamento do sarcômero e, conseqüentemente, um encurtamento da miofibrila. O encurtamento de um grupo de miofibrilas irá causar a contração muscular.

Deste modo, o grau de comprimento do sarcômero e o grau de sobreposição os filamentos de actina e miosina podem favorecer ou prejudicar a força gerada pela contração muscular. Na figura 5B, retirada do trabalho de Gordon, Huxley e Julian (1966), é ilustrada a

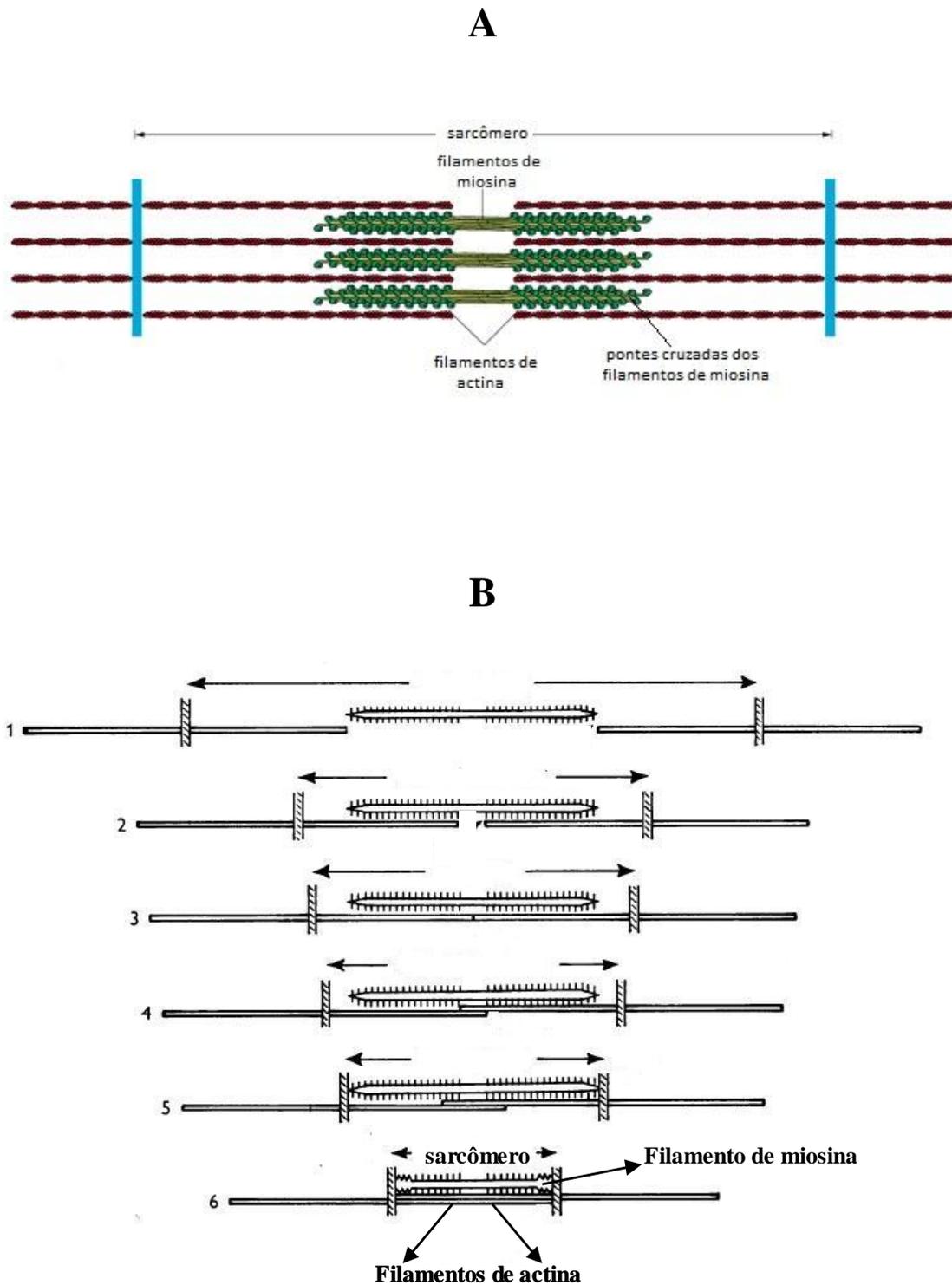


Figura 5. A: Ilustração do sarcômero com a disposição dos filamentos de actina e miosina. **B:** Ilustração da variação da disposição dos filamentos de actina e miosina em diferentes graus de estiramento do sarcômero. As setas indicam o sentido do estiramento do sarcômero (modificado de Gordon; Huxley; Julian, 1966)

relação entre o comprimento do sarcômero e a tensão exercida. Nota-se no estiramento 1 que o sarcômero sofreu um estiramento excessivo, fazendo com que os filamento de actina não apresentasse sobreposição com os filamentos de miosina. Neste ponto haverá uma ausência na capacidade de gerar contração muscular.

A medida que o sarcômero se encurta, o filamento de actina começa a se interpor ao de miosina, a tensão aumenta progressivamente até o estiramento 2 e 3, onde o filamento de actina está interposto a todas as pontes cruzadas de miosina, alcançando dessa forma a capacidade de gerar a maior força de contração. A partir desse ponto, o encurtamento começa a causar uma sobreposição dos filamentos de actina entre si, conforme observado estiramento 4, 5 e 6, causando novamente uma diminuição gradativa na capacidade de gerar tensão.

A seguir, apresentamos a Metodologia utilizada para avaliar o efeito da Tioridazina sobre o inotropismo cardíaco em átrio esquerdo isolado de ratos.

4. Materiais e Métodos

A obtenção dos dados foi dividida em duas partes. Primeiramente foram obtidos dados para a análise de variações de força em átrio esquerdo isolado de ratos, sem adição de qualquer fármaco na preparação biológica. Isto foi feito para validar a aplicabilidade da montagem experimental notadamente no que se refere a medições de força. Posteriormente foram obtidos dados para a análise de alterações na cinética de contração e de relaxamento, bem como do pico de força de contração do átrio isolado.

Desta forma, a abordagem metodológica geral deste trabalho consistiu:

- No desenvolvimento de uma montagem experimental para a detecção da força de contração de átrio esquerdo isolado de rato, estimulado eletricamente *in vitro*;
- Na aplicação dessa montagem experimental em átrios esquerdos banhados com solução de Krebs-Henseleit (KH) para obtenção de parâmetros inotrópicos na ausência de fármacos (condição controle)
- Na comparação dos dados obtidos na condição controle com os obtidos de átrios tratados com Tioridazina.

4.1. Animais

Foram utilizados átrios esquerdos de corações isolados de ratos Wistar machos, com idade de 4 a 6 meses, provenientes do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Medicina e Biologia (CEDEME) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Os animais foram mantidos em uma sala do biotério da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC), com temperatura ambiente estável ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), dentro de gaiolas de polipropileno (50 cm x 40 cm) padronizada, coberta com maravalha esterilizada, alimentados com ração comercial peletizadas em regime *ad libitum* e água acidificada com HCl 1mol/L (pH entre 2-3). Os ratos foram divididos em grupos de cinco animais por caixa. Para manter as condições de estabilidade necessária para a espécie, foi realizada a limpeza das gaiolas três vezes por semana pelo mesmo bioterista.

4.2. Solução Fisiológica

Durante o experimento o átrio direito foi perfundido com solução de KH. Esta solução era composta pelos seguintes reagentes (mM) diluídas em água destilada deionizada: NaCl 126,4; KCl 4,6; KH_2PO_4 1,2; MgSO_4 1,2; NaHCO_3 13,6; CaCl_2 1,5; glicose 11,11; pH 7,4 a 36,5° C, saturada com carbogênio (95% O_2 + 5% CO_2). O pH da solução era aferido durante toda a preparação da solução de KH, com medidor (Q.400^a, Quimis, São Paulo, SP-Brasil). Após preparada, a solução foi mantida em geladeira.

4.3. Preparação Biológica

A eutanásia dos animais foi realizada por concussão cerebral. Os animais foram degolados e em seguida foi aberta a caixa torácica para a retirada do coração. Este procedimento está de acordo com o “Canadian Council on Animal Care” 1993 e foi aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa com Animais Experimentais da UMC (protocolo número 016/2009). Após a retirada, o coração foi submerso em um béquer com solução de KH, para a limpeza das câmaras cardíacas. Em seguida, o sangue todo expelido das câmaras, o coração foi colocado sobre uma placa de Petri com solução de KH, para a realização do isolamento do átrio esquerdo. A partir deste isolamento, foi feita a inserção de um eletrodo de platina na extremidade inferior esquerda e a inserção de uma agulha de acupuntura na extremidade superior direita deste átrio isolado. A finalidade dos eletrodos de platina e de agulha é viabilizar a eletroestimulação e o estiramento do tecido atrial em regime isométrico (detalhes no item 4.4 a seguir). Imediatamente após a inserção da agulha, o átrio foi colocado em outro béquer previamente preenchido com solução de KH, com temperatura de 36,5°C, saturada com carbogênio.

4.4. Montagem Experimental

A montagem experimental utilizada neste trabalho (Figura 6) foi composta por: um béquer de vidro preenchido com solução de KH, mantida em temperatura de 36,5°C por um sistema de circulação e aquecimento de água controlável (Gaymar Industries, Inc; TP-500) e aparatos para eletroestimulação e estiramento atrial. A estimulação elétrica do átrio foi feita por um estimulador elétrico de tensão (Grass S48 – Stimulador; Grass Inst. Div., Astro-Med

Inc, W. Warwick, RI, USA) conectado a dois eletrodos de platina, sendo um deles o já inserido no átrio e o outro simplesmente imerso na solução de perfusão. Estes eletrodos foram soldados a um cabo que se conectava a uma unidade de estimulação isolada (Grass, SIU5 – Stimulus Isolation Unit; Grass Inst. Div., Astro-Med Inc., W. Warwick, RI, USA), sendo que o eletrodo ligado ao átrio fixou-o também no fundo do bquer.

Para estiramento isométrico do átrio, este foi conectado a um transdutor de força (World Precision Instruments, FORT 10 01A) fixado na base de um microscópio, cujo micromanipulador, normalmente utilizado para ajuste de foco, foi utilizado nesta montagem para controlar o estiramento atrial. A conexão do átrio ao transdutor de força foi feita inserindo no tecido atrial uma agulha de acupuntura (DBC, lamina 7,5cm, diâmetro 0,30cm, com cabo espiral inox, esterilizada com mandril de plástico, Dong Bang), presa a um fio de algodão de 5,5cm ligado ao transdutor de força. Por conveniência de conexão, o cabo espiral típico deste eletrodo foi removido e a agulha foi deformada de modo a apresentar um formato de “gancho”.

O transdutor de força foi conectado a um amplificador diferencial (Word Precision Instruments, Inc; ISO-DAM8). Os sinais eram visualizados através de um osciloscópio digital (Tektronix, TDS-210) e armazenados via programa de aquisição de sinal (AqDados[®] 7.02) em um microcomputador (LG[®] processador Intel, Pentium Core Dual 1.6 Ghz e 100GB Ram com sistema operacional Windows[®] XP). Os registros foram analisados *a posteriori* no programa AqDAnalysis[®] 7 (Lynx Tecn. Electr. Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

4.5. Protocolo experimental

4.5.1. Protocolo para análise do efeito do estiramento atrial sobre o inotropismo atrial

Após o posicionamento do átrio na cuba de perfusão, este foi estimulado por um trem de pulsos com frequência de 2Hz, duração de pulso de 5ms e amplitude igual a duas vezes o limiar atrial (tipicamente 10V) com a finalidade de disparar ritmicamente a contração atrial. Um período de 5min foi esperado para estabilização da preparação

Inicialmente foi analisada a relação da força de contração isométrica atrial em função do estiramento muscular, visando avaliar o funcionamento da montagem como um todo. Assim, cinco átrios esquerdos foram submetidos a estiramentos isométricos sucessivamente

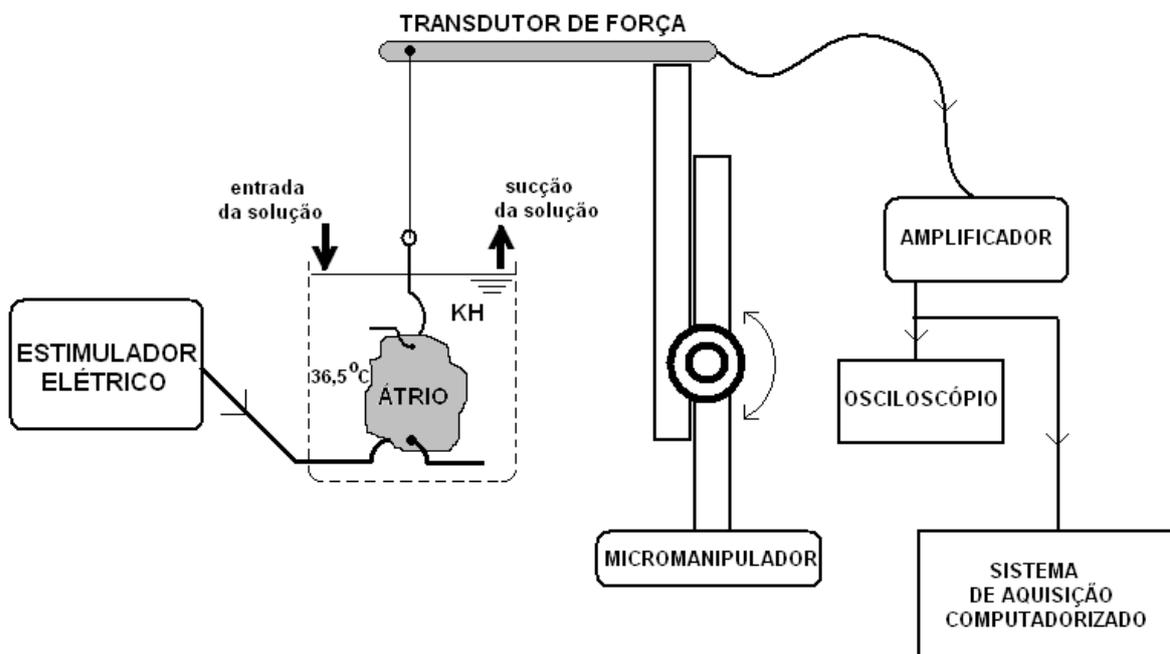


Figura 6. Ilustração esquemática da montagem experimental. O átrio é mantido em uma cuba (desenho pontilhado) com solução de KH. Este é fixado por um dos eletrodos de eletroestimulação e conectado ao transdutor de força via uma agulha em forma de “gancho” e linha de algodão. O transdutor de força é conectado a um amplificador de sinal biológico para viabilizar a visualização da força atrial no osciloscópio. O sinal também é armazenado em sistema de aquisição de dados. O estiramento isométrico do átrio é feito através do micromanipulador.

incrementais. A cada minuto foi realizado um estiramento de 0,5mm. Após alguns segundos em cada estiramento se media o pico da força de contração. Os estiramentos eram incrementados até que, ao invés de aumento no pico da força, se observasse diminuição do mesmo. Nos experimentos para teste de fármaco adotamos um estiramento inicial de 80% do valor de estiramento que levava a força a atingir seu pico máximo obtido experimentalmente. Este estiramento foi utilizado como referência para normalizar o pico da força de átrios submetidos ao tratamento farmacológico.

A figura 7 ilustra registros de força de um dos átrios a partir do qual foi feito o levantamento da relação estiramento-força. Nota-se, neste exemplo, que no estiramento de 2,5mm foi atingido o maior pico de força de contração (270 mgf). Acima desse valor inicia-se um decréscimo na força de contração. Considerando o que foi adotado nos experimentos, o estiramento seria reduzido a 80% de seu valor máximo (neste exemplo 2,5mm), ou seja, o estiramento seria reduzido para 2,0mm.

4.5.2. Protocolo para Análise do Efeito da Frequência Sobre o Inotropismo Atrial

Inicialmente, o mesmo protocolo descrito no item anterior foi aplicado de modo a deixarmos o tecido atrial contraindo-se com pico de força a 80% de seu valor máximo. Em seguida, manteve-se a frequência de 2Hz por 20 minutos para a estabilização da amostra. Após esta estabilização, a frequência foi aumentada em 0,5Hz a cada dois minutos, até um valor máximo de 5Hz. O pico da força era anotado pouco antes do final dos dois minutos de espera em cada frequência testada, para posterior levantamento da relação do pico da força com a frequência.

4.5.3. Protocolo para Análise do Efeito da Tioridazina sobre o Pico da Força Atrial e a Cinética de Contração-Relaxamento

De acordo com os resultados preliminares obtidos com o protocolo descrito no item anterior, optou-se pela frequência de estimulação de 2Hz para se fazer os experimentos com testes farmacológicos.

Para essa etapa do experimento dividiu-se os animais em quatro grupos, com três ratos em cada grupo. No Grupo que denominamos de “Controle” não foi adicionado nenhum tipo de droga, sendo nesse caso a amostra mantida em KH normal durante 120 minutos. Outros

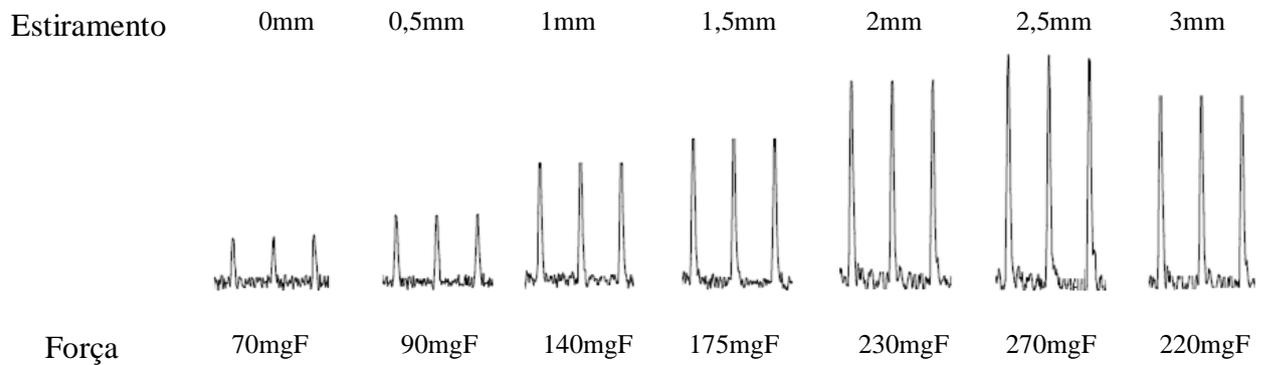


Figura 7: Registros de força de contração isométrica em diferentes estiramentos do átrio. Acima identificamos o valor do comprimento do estiramento (em mm). A força de contração (em mgF) é identificada abaixo da imagem gráfica. Nota-se um aumento progressivo da força de contração até um determinado estiramento (nesse caso de 2,5mm), a partir desse estiramento (considerado o estiramento máximo) a força de contração começa a diminuir, excedendo assim os limites do mecanismo de Frank-Starling.

animais foram divididos em três grupos: No Grupo I foi adicionada uma concentração de 0,5µM de Tioridazina na solução de KH que perfudiu os átrios; no Grupo II foi adicionado 1µM; e no Grupo III 2µM. A droga nos grupos tratados foi diluída na solução de KH após 20 minutos de estabilização da amostra. Após esse período a amostra se manteve em condições neutras por mais 100 minutos (totalizando 120 minutos de experimento).

Os experimentos com adição da Tioridazina foram realizados com baixa intensidade luminosa, devido a fotossensibilidade da droga.

Os dados foram armazenados em um sistema de aquisição de dados e analisados a cada 20 minutos de experimento. Os valores de pico da força foram normalizados em relação ao obtido no vigésimo minuto de experimento (tempo de estabilização).

4.6. Análise dos Dados

Os resultados foram analisados realizando-se a média e o erro padrão dos dados obtidos. A comparação entre as médias dos dados foi feita por meio de análise de variância utilizando o software Graphpad Prism® 5.0, considerando-se diferença estatisticamente significativa para $p < 0,05$. Utilizamos o teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Os gráficos foram montados com o uso do *software* Microcal™ Origin® 6,0 (Origin).

Para fazer as análises da cinética de contração e relaxamento e da amplitude da força (pico de força), ajustou-se os sinais registrados (digitalizados) de força de contração e relaxamento à uma equação de Boltzmann, utilizando o software “Origin”.

Para comparar as cinéticas de contração e relaxamento atrial entre os grupos, optou-se por analisar o “ $t_{1/2}$ ” de contração e relaxamento (respectivamente). O $t_{1/2}$ de contração é o tempo (expresso em ms) que a curva sigmóide de contração expressa metade da força máxima de contração. Já o $t_{1/2}$ de relaxamento é o tempo que a curva sigmóide de relaxamento expressa metade do decréscimo da força a partir de seu valor máximo.

A ilustração das sigmóides de contração e relaxamento podem ser observadas nas figuras 8 e 9, respectivamente, assim como o $t_{1/2}$ de contração e relaxamento, que estão ilustrados nas mesmas figuras, através da linha pontilhada.

A expressão matemática geral da sigmóide utilizada é:

$$F = A_1 + [(A_2 - A_1)/(1 + 10^{(\log x_0 - x)p})]$$

Onde:

F é a força;

A₁ é a força basal;

A₂ é o pico de força;

p é a constante de inclinação, a qual define se a força está aumentando (contração) ou diminuindo (relaxando);

x₀ é o $t_{1/2}$;

x é o tempo.

Desta forma o valor do $t_{1/2}$ para a amplitude máxima de contração (linha tracejada da figura 8) foi comparado entre os grupos visando analisar alterações na cinética de contração. Já o valor do $t_{1/2}$ para o término do relaxamento (linha tracejada da figura 9) foi comparado entre os grupos para analisar alterações na cinética de relaxamento atrial.

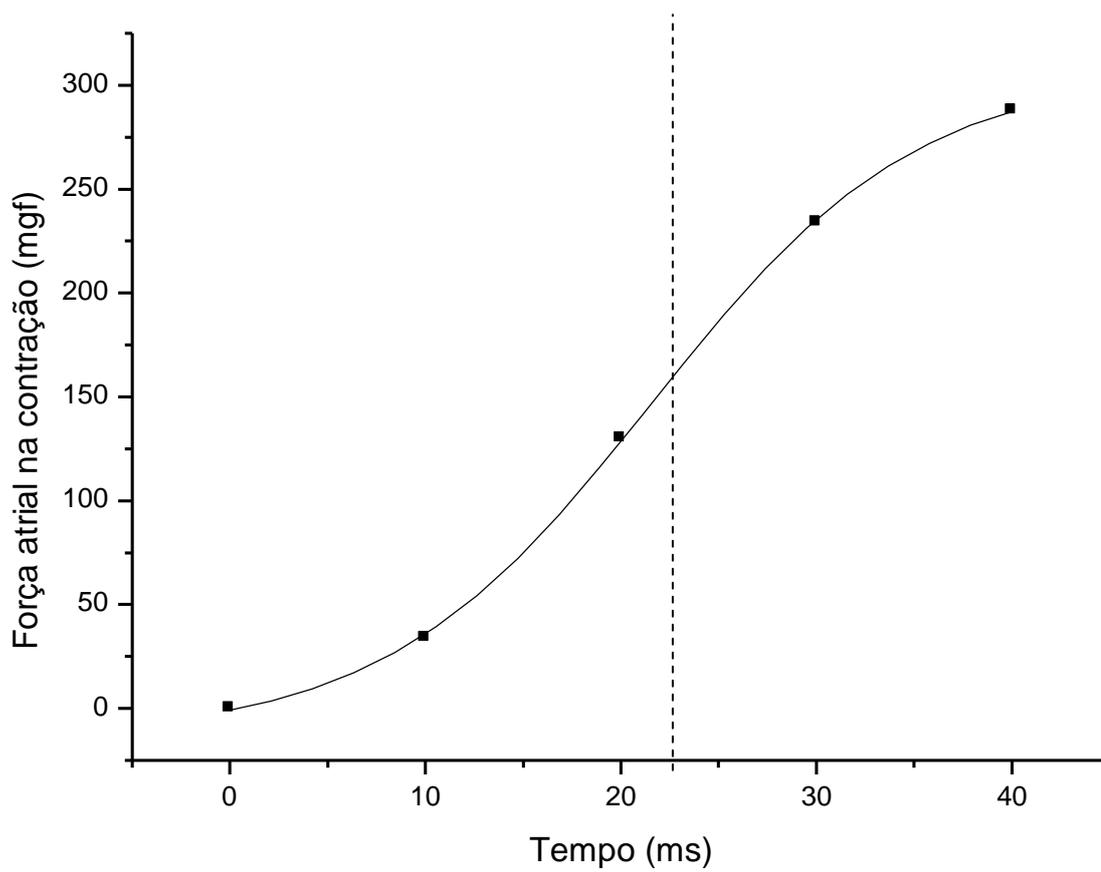


Figura 8. Ilustração do ajuste da curva de força atrial na contração em função do tempo à uma equação de Boltzmann. A linha tracejada evidencia o $t_{1/2}$ da contração.

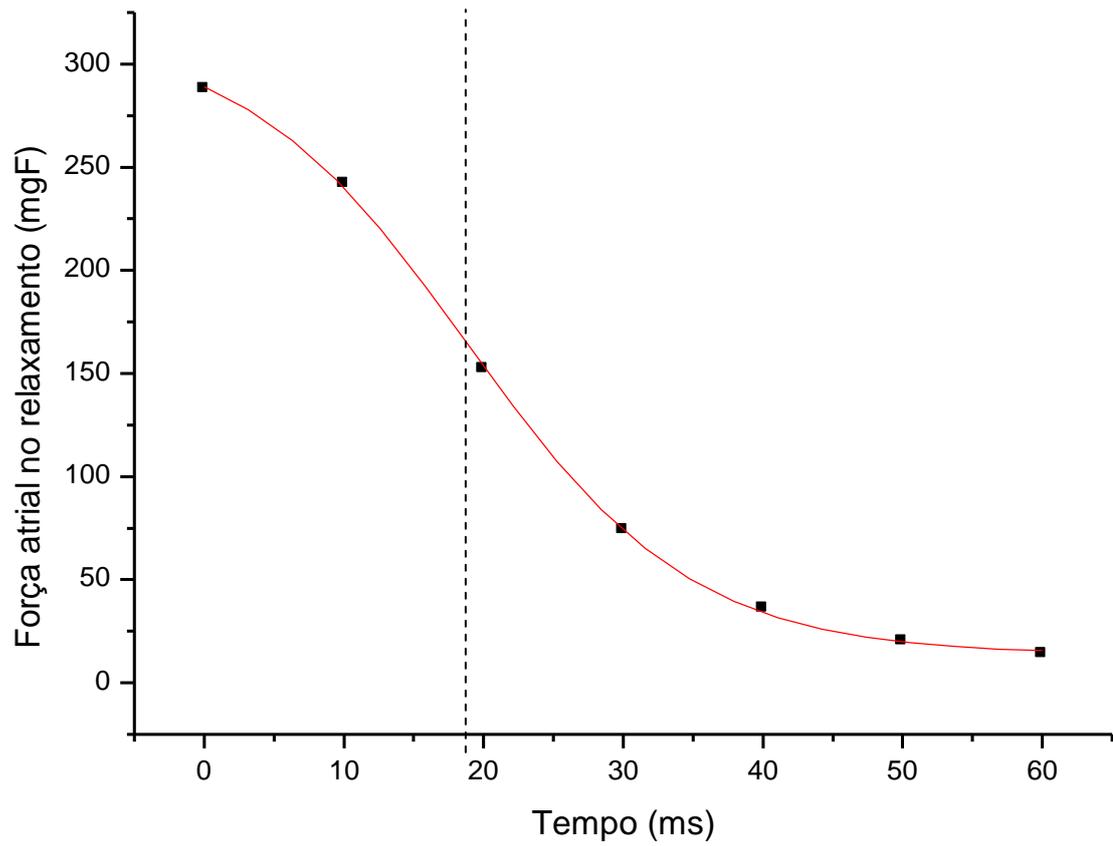


Figura 9. Ilustração do ajuste da curva de força no relaxamento em função do tempo à uma equação de Boltzmann. A linha tracejada evidencia o $t_{1/2}$ do relaxamento.

5. Resultados

Apresentamos a seguir os resultados da caracterização da força atrial na ausência do fármaco. São apresentados os efeitos do estiramento e da frequência cardíaca sobre a força do átrio esquerdo. Apresenta-se ainda a caracterização do efeito da Tioridazina sobre a força de contração atrial. Para tal são apresentados os efeitos da Tioridazina sobre a cinética de contração e relaxamento muscular, além de seu efeito sobre o pico da força atrial.

5.1. Caracterização da força atrial na ausência de fármaco

5.1.1. Efeito do Estiramento Atrial

A figura 10 ilustra o gráfico do pico da força de contração atrial em função do estiramento muscular. Nota-se que há uma relação quase linear, e positiva, entre a força e o estiramento, ou seja, a força aumenta proporcionalmente ao aumento do estiramento (fase ascendente da curva). Esse aumento da força chega a um máximo, a partir do qual o estiramento causa uma diminuição na força de contração (fase descendente da curva), expressando uma relação negativa entre a força e o estiramento muscular.

5.1.2. Efeito da frequência cardíaca no inotropismo atrial

A figura 11 ilustra o pico da força de contração em função da frequência. Nota-se que a maior força ocorreu na frequência de 2Hz (menor frequência avaliada), enquanto que a menor força ocorreu na frequência de 5Hz (maior frequência avaliada). A curva apresentou um padrão descendente e linear, com diminuição da força de contração conforme o aumento da frequência cardíaca.

A partir desses resultados, optou-se em manter a frequência cardíaca em 2Hz para a realização dos experimentos que caracterizaram os efeitos da Tioridazina sobre a força atrial, que serão ilustrados a seguir.

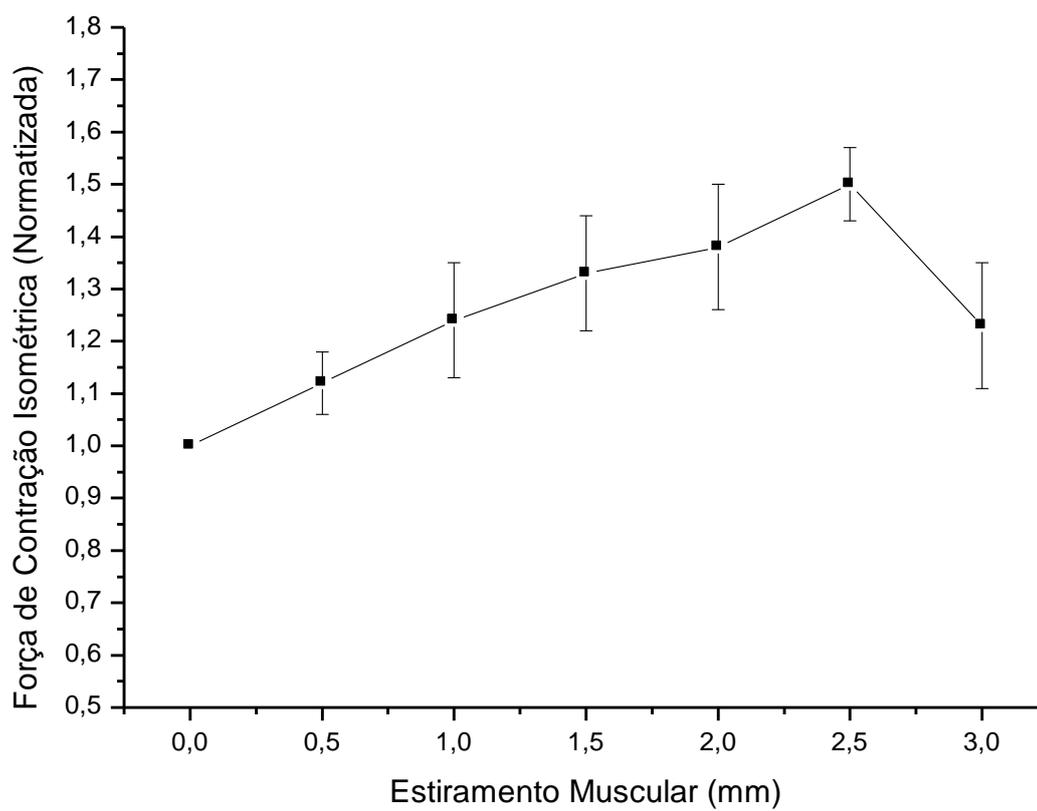


Figura 10: Gráfico do pico da força de contração isométrica do átrio esquerdo (média \pm erro) em relação ao estiramento muscular ao qual ele foi submetido.

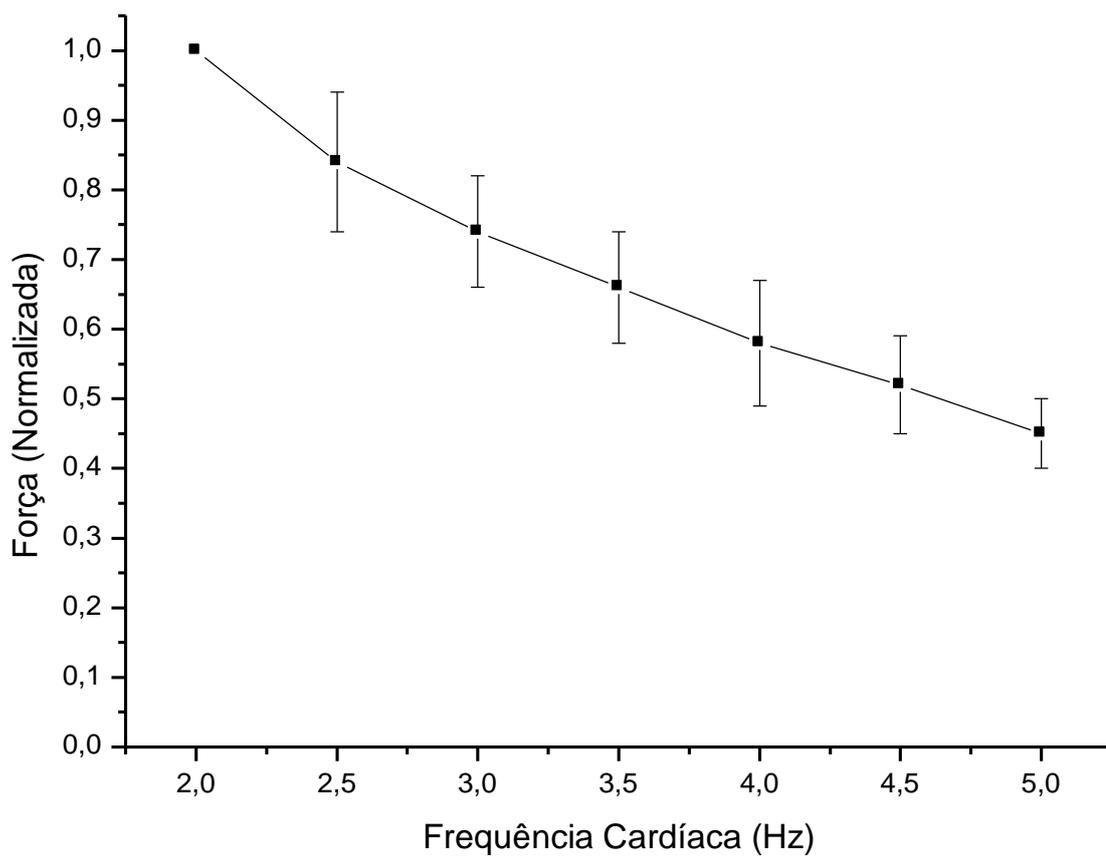


Figura 11: Gráfico que expressa o pico da força de contração atrial em relação à frequência. Nota-se uma resposta inotrópica negativa frente a uma estimulação cronotrópica positiva.

5.2. Caracterização do efeito da Tioridazina sobre o inotropismo atrial

5.2.1. Efeito da Tioridazina Sobre a Cinética de Contração Atrial

A figura 12A apresenta o $t_{1/2}$ de contração do átrio esquerdo durante diferentes momentos do experimento do grupo Controle. Nota-se um padrão constante, sem alterações significativas, em função do tempo, o qual variou de 21 a 24ms.

Nas figuras 12B, 12C e 12D são apresentados os $t_{1/2}$ de contração do átrio esquerdo dos grupos grupo I (com 0,5 μ M de Tioridazina), grupo II (com 1 μ M de Tioridazina) e grupo III (com 2 μ M de Tioridazina), respectivamente. Nota-se que, similarmente ao que ocorreu no grupo controle, também há um padrão constante, sem alterações significativas, em função do tempo. Os valores variaram de 20 a 25ms, valores estes razoavelmente equiparáveis aos obtidos na condição controle.

5.2.2. Efeito da Tioridazina Sobre a Cinética de Relaxamento atrial

A figura 13A apresenta o $t_{1/2}$ de relaxamento do átrio esquerdo durante diferentes momentos do experimento do grupo Controle. Nota-se um padrão constante, sem alterações significativas, em função do tempo, o qual variou de 18 a 21ms.

Nas figuras 13B, 13C e 13D são apresentados os $t_{1/2}$ de relaxamento do átrio esquerdo do grupo I (com 0,5 μ M de Tioridazina), grupo II (com 1 μ M de Tioridazina) e grupo III (com 2 μ M de Tioridazina), respectivamente. Nota-se que, similarmente ao que ocorreu no grupo controle, também há um padrão constante, sem alterações significativas, em função do tempo. Os valores variaram de 18 a 23ms, valores estes razoavelmente equiparáveis aos obtidos na condição controle.

5.2.3. Efeito da Tioridazina Sobre o Pico da Força Atrial

Na figura 14A ilustra-se o pico da força de contração atrial em função do tempo de experimento no Grupo Controle. O pico da força foi normalizado em relação àquele obtido no tempo de 20 minutos (final do tempo de estabilização). Nota-se um incremento no pico da força nos primeiros 10 minutos de experimento. Após esse período, o pico da força inicia um

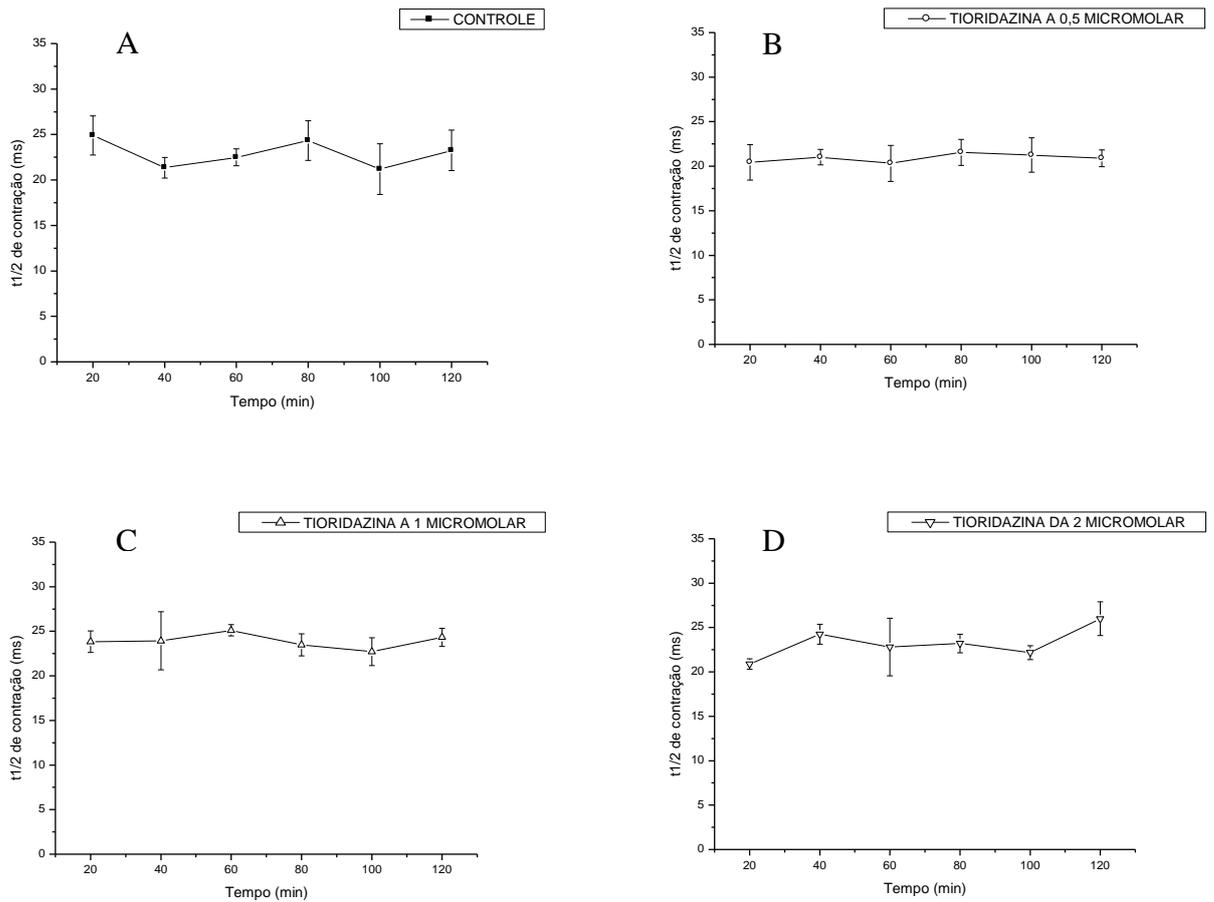


Figura 12: Gráficos de $t_{1/2}$ de contração (expressa em ms) em função do tempo de experimento, nos diferentes grupos experimentais. **A:** $t_{1/2}$ de contração atrial no grupo controle, em solução de KH sem adição de qualquer tipo de fármaco. **B:** $t_{1/2}$ de contração atrial na diluição de 0,5 μ M de Tioridazina. **C:** $t_{1/2}$ de contração atrial na diluição de 1 μ M de Tioridazina. **D:** $t_{1/2}$ de contração atrial na diluição de 2 μ M de Tioridazina.

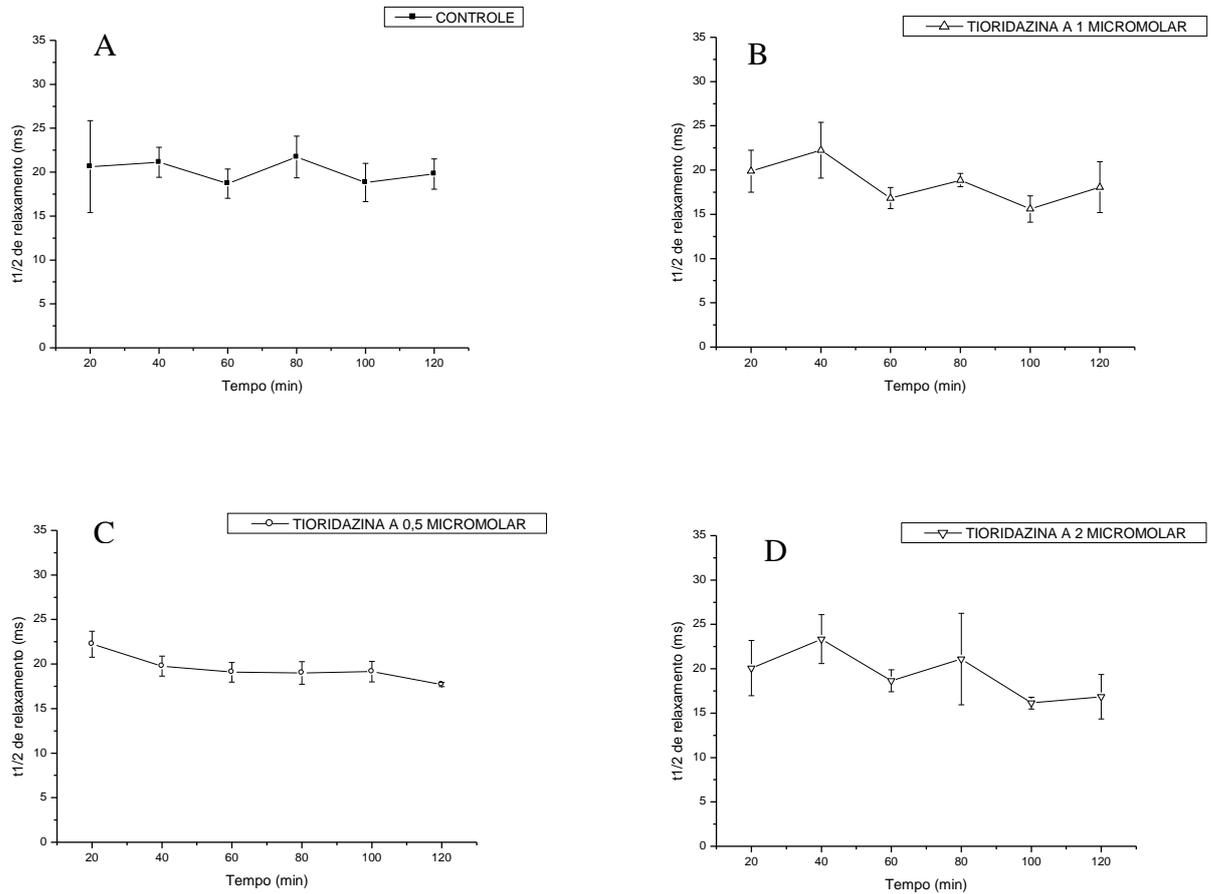


Figura 13: Gráficos de $t_{1/2}$ de relaxamento (expressa em ms) em função do tempo de experimento, nos diferentes grupos experimentais. **A:** $t_{1/2}$ de relaxamento atrial no grupo controle, em solução de KH sem adição de qualquer tipo de fármaco. **B:** $t_{1/2}$ de relaxamento atrial na diluição de $0,5\mu\text{M}$ de Tioridazina. **C:** $t_{1/2}$ de relaxamento atrial na diluição de $1\mu\text{M}$ de Tioridazina. **D:** $t_{1/2}$ de relaxamento atrial na diluição de $2\mu\text{M}$ de Tioridazina.

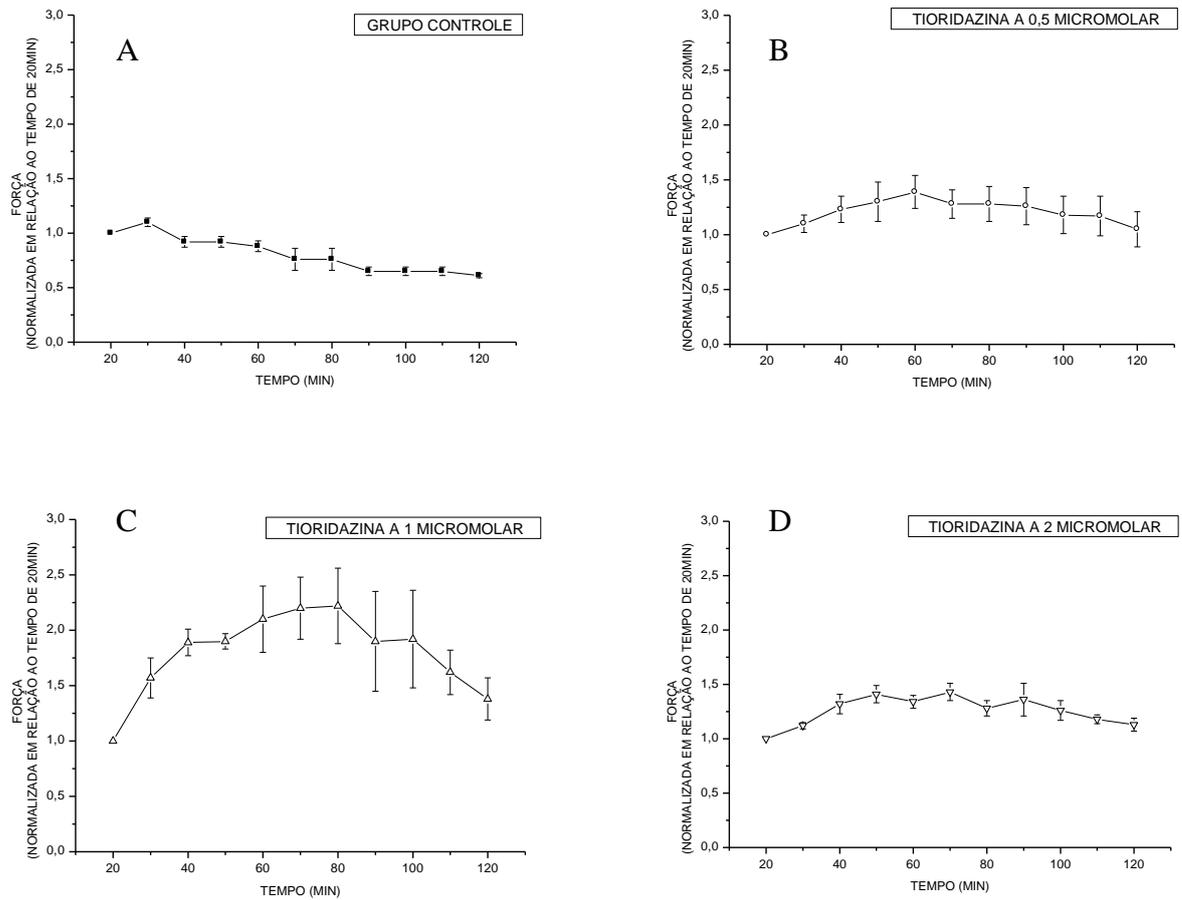


Figura 14: Gráficos de pico de força de contração atrial (normalizada) nos grupos controle, I, II e III. A: Pico de força de contração atrial no grupo controle, em solução de KH sem adição de qualquer tipo de fármaco. B: Pico de força de contração atrial no grupo I, com diluição de $0,5\mu\text{M}$ de Tioridazina. C: Pico de força de contração atrial no grupo II, com diluição de $1\mu\text{M}$ de Tioridazina. D: Pico de força de contração atrial no grupo III, com diluição de $2\mu\text{M}$ de Tioridazina.

decréscimo progressivo, exibindo ao final desse período uma diminuição de aproximadamente 60% do seu valor inicial (pós estabilização).

As figuras 14B, 14C e 14D ilustram os picos da força nos Grupos I, II e III em função do tempo de experimento. O pico da força atrial aumentou progressivamente (de 39 a 122%) em todos estes grupos, até o tempo de 60 minutos do início dos experimentos. Após este tempo, os picos da força nestes decaem progressivamente (de 30 a 84%) até o tempo de 120 minutos do início dos experimentos, mantendo-se contudo em valores superiores ao do Grupo Controle (figura 14A). Além disso, apesar do Grupo II referir-se a uma concentração de $1\mu\text{M}$, ou seja, intermediária às do Grupo I ($0,5\mu\text{M}$) e Grupo III ($2\mu\text{M}$), este exibiu o maior pico na força de contração (força normalizada igual a 2,22 após 60min da diluição da droga) quando comparados ao Grupo I (1,39 após 40min) e ao Grupo III (1,43 após 50min).

Para melhor ilustrar o efeito da Tioridazina sobre o pico da força atrial, apresenta-se na figura 15 uma compilação dos dados apresentados anteriormente. A linha tracejada indica o momento no qual os grupos tratados com Tioridazina apresentaram os maiores picos de força. Este período compreendeu o intervalo de 60 a 80 minutos do início dos experimentos. Como a droga foi aplicada após 20 minutos de estabilização, trata-se do efeito de 40 a 60 minutos da droga. Portanto, para comparar a diferença da força nos grupos experimentais, optamos por avaliar a ação da droga após 50 minutos de sua aplicação (70 minutos de experimento).

A figura 16 ilustra o pico da força aos 70 minutos de experimentos, normalizada em relação ao tempo de 20 minutos (final da estabilização), em função das concentrações de Tioridazina. Após a perfusão do átrio com KH acrescido de $1\mu\text{M}$ de Tioridazina (Grupo II), o pico de força aumentou aproximadamente 120%, enquanto que no Grupo I este aumento foi de 28% e no Grupo III de 43%. Este aumento no pico é estatisticamente significativo ($p<0,05$). Deste modo, a concentração de $1\mu\text{M}$ é a que causa o maior efeito sobre o pico da força de contração, num dado período de tempo de ação da droga naquela concentração.

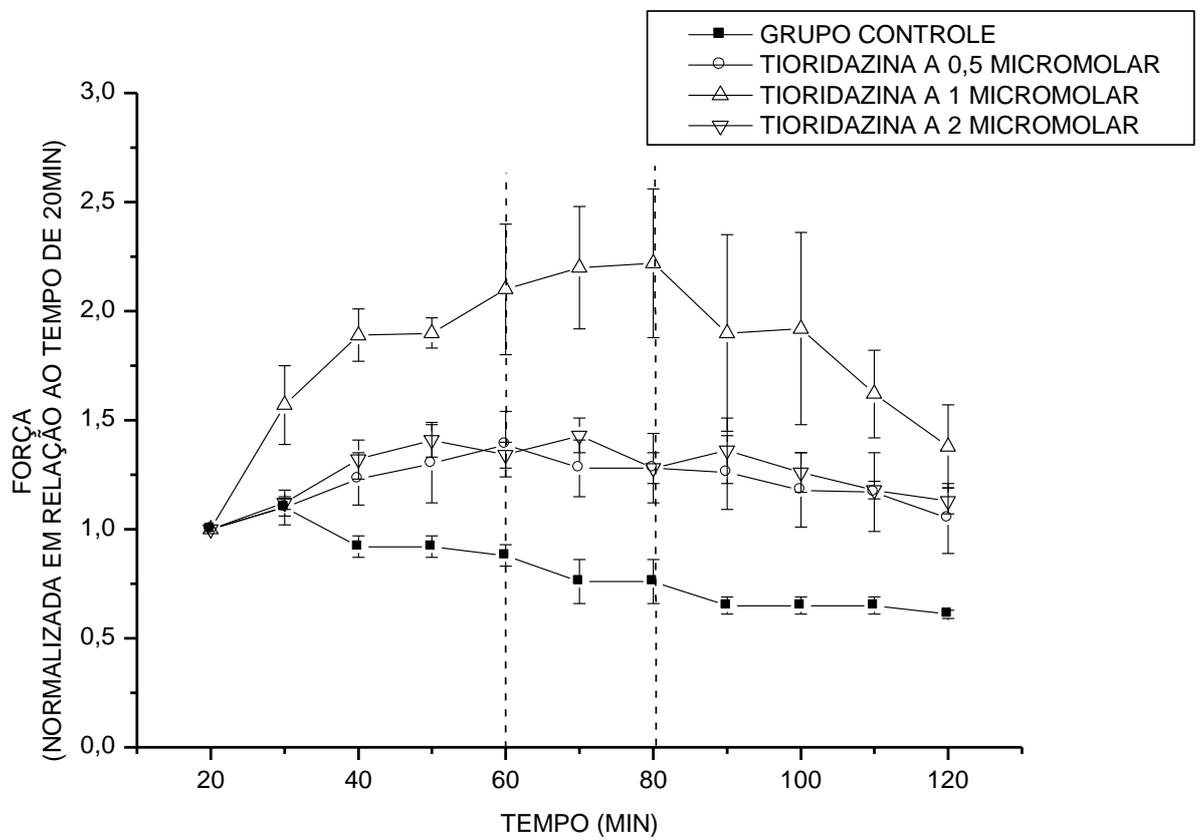


Figura 15: Gráfico dos picos de força (normalizados) em função do tempo nos diversos grupos experimentais. A linha tracejada indica o intervalo onde os picos de força alcançaram os maiores valores nos diversos grupos experimentais (Grupo I, II e III).

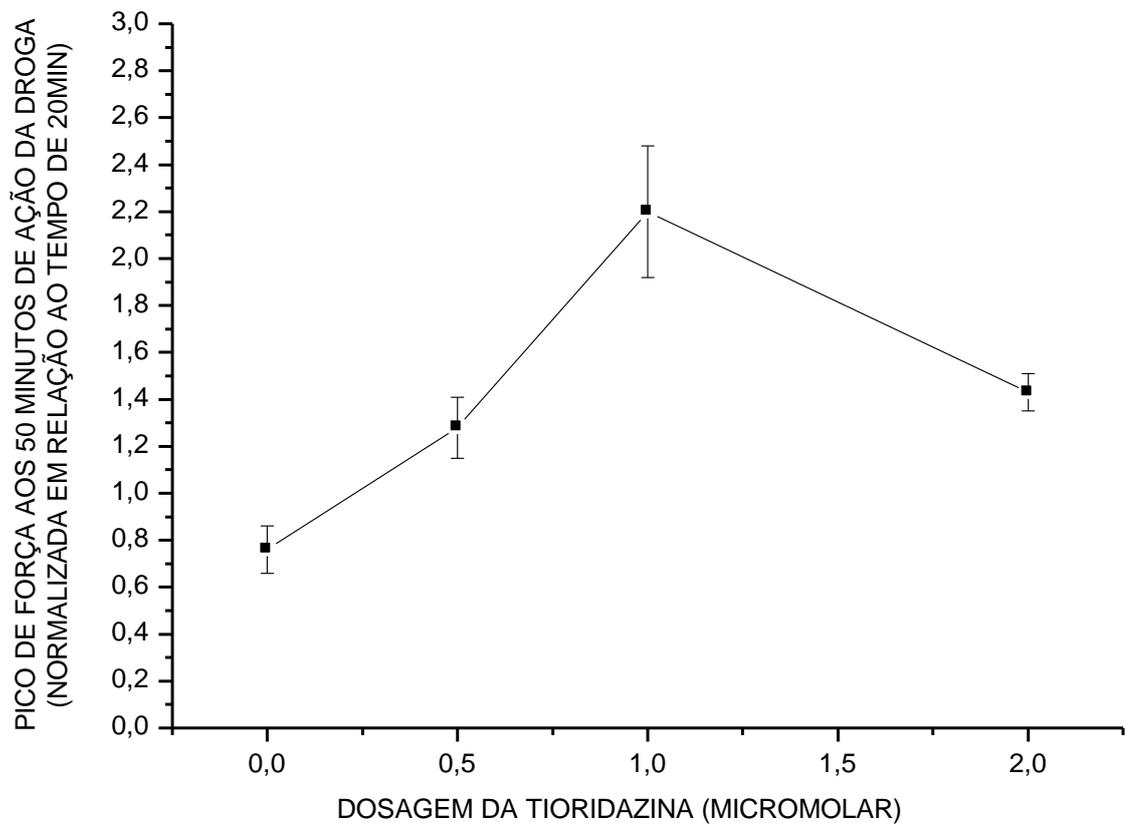


Figura 16: Gráfico da variação do pico de força (normalizada) em relação a concentração da Tioridazina (em μM) após 50 minutos de sua diluição na solução de perfusão.

6. Discussão e Conclusões

6.1. Efeito do estiramento sobre a força de contração atrial

Neste estudo evidenciou-se um aumento aproximadamente linear da força de contração do miocárdio ao aumento do estiramento desse músculo. Essa relação atinge um limite máximo a partir do qual o estiramento causa decréscimo na força de contração. Este comportamento da força em relação ao estiramento esta de acordo com os trabalhos conhecidos, desde o final do século XIX e início do século XX, de Frank (1895), Starling (1897), Knowlton & Starling (1912) e Patterson; Piper; Starling (1914). Desta forma, esses resultados indicam que a montagem experimental feita nesse estudo reproduz o esperado para o comportamento da força do músculo cardíaco de rato, sendo desta forma aplicável para estudos do inotropismo cardíaco *in vitro*.

6.2. Efeito da Frequência sobre a Força de Contração Atrial

Neste estudo notamos um decaimento na força de contração com o aumento da frequência cardíaca. Diferente do presente estudo, Endoh (2008) analisou o coração de sapos *in vitro* em solução de KH, encontrando uma relação de força/frequência positiva, ou seja, aumento da força em consequência do aumento da frequência cardíaca. A explicação dada para esse aumento da força foi um maior armazenamento de Ca^{2+} pelo SR. Dois mecanismos seriam responsáveis por esse maior armazenamento: um aumento no número de repolarizações por minuto causariam um maior tempo de abertura do canais de Ca^{2+} tipo L, aumento da concentração de Ca^{2+} para o interior da célula e posteriormente uma maior absorção desse Ca^{2+} para o SR, causando assim um maior armazenamento; ou o aumento no número de despolarizações causaria um acúmulo de Na^+ no interior da celular, fazendo com que o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ trabalhasse no sentido reverso, ou seja, transportando (expelindo) Na^+ para fora da célula e conseqüentemente transportando (introduzindo) Ca^{2+} para dentro da célula.

Porém, em algumas situações o coração pode apresentar alteração na força/frequência, como é o caso da insuficiência cardíaca, que em estágio avançado apresenta uma alteração da relação semelhante à encontrada nesse trabalho. Para Schwinger e colaboradores (1993), essa alteração na insuficiência cardíaca se dá principalmente pela falta de Ca^{2+} livre no citosol para o início do processo de contração. Segundo Endoh (2006) e Hobai & O'Rourke (2006) essa diminuição da força se dá devido a uma diminuição da ação da SERCA2a, que é a enzima responsável pela absorção do Ca^{2+} pelo SR. Se a absorção do Ca^{2+} pelo SR está prejudicada,

logo o armazenamento do Ca^{2+} também está prejudicado, causando assim liberações de Ca^{2+} em concentrações menores durante o fenômeno CICR.

Em situações experimentais a relação entre força e frequência cardíaca é bem discutida, principalmente no rato. Uma explicação dada por Shattock & Bers (1989) é a de que uma diminuição na duração do potencial de ação causaria uma expulsão do Ca^{2+} intracelular através do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ durante a contração, causando uma perda de Ca^{2+} pelo SR em altas frequências.

Mais recentemente, Dibb; Eisner; Trafford (2007) especularam que um efeito inotrópico negativo, frente a uma resposta cronotrópica positiva, poderia ser causado por refração na ação dos receptores rianodínicos, efeito esse mais sensível durante a estimulação de altas frequências.

Desta forma, a redução na força de contração frente a um estímulo cronotrópico positivo, como encontrado nesse estudo, pode ser devido a uma diminuição na concentração do Ca^{2+} no SR que, por sua vez, pode ser explicado por uma diminuição na ação da SERCA2a, por perda do Ca^{2+} pelo trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ou ainda por uma refração na ação dos receptores rianodínicos.

6.3. Efeito da Tioridazina sobre a Contração e o Relaxamento Atrial

Neste trabalho a presença da Tioridazina causou um aumento na força de contração do átrio *in vitro*. Todas as concentrações estudadas apresentaram um efeito inotrópico positivo quando comparadas ao grupo controle. Este efeito apresentou uma característica concentração-dependente não linear (vide figura 15). Além disso, parece não haver alteração significativa notadamente na cinética de entrada ou saída do Ca^{2+} na presença da droga. Isto é corroborado pelos resultados do $t_{1/2}$ de contração e do $t_{1/2}$ de relaxamento que permaneceram essencialmente inalterados nos experimentos com os grupos tratados com a Tioridazina e Controle.

Alguns estudos encontraram um efeito bloqueador de canais de Ca^{2+} por Tioridazina. Inicialmente, Gould e colaboradores (1984), a fim de estudar as alterações na ejeção em pacientes tratados com Tioridazina, observaram que a Tioridazina apresentava uma ação semelhante ao Verapamil (droga antagonista dos canais de Ca^{2+}), causando assim uma ação inotrópica negativa nos vasos deferentes de cobaias (porcos da Índia), ação esta responsável pela disfunção na ejeção. Este efeito no coração também causaria uma diminuição na

força de contração, além de explicar os efeitos arrítmicos causados por outros antagonistas de Ca^{2+} (prenilamina e lidoflazina) como: prolongamento do segmento Q-T acompanhado de arritmias ventriculares e *Torsades de Pointes*. O sítio de atuação da Tioridazina parece estar no 3H-nitrendipina, o que foi comprovado através da competição da droga pelo Tiapamil (droga já conhecida por atuar nesse sítio dos canais de Ca^{2+}). A afinidade da Tioridazina por esse sítio no coração ocorreu a partir da concentração de $1,24 \pm 0,09\mu\text{M}$. Concentrações acima desses valores geram uma perda consecutivamente maior da força de contração.

Resultados semelhantes foram obtidos por Thorgeirsson & Rudolph (1984), que comparam a ação da Tioridazina com a do Diltiazem como drogas bloqueadoras de canais de Ca^{2+} . Assim como descrito por Gould e colaboradores (1984), também houve uma ação da Tioridazina sobre os sítios 3H-nitrendipina, bloqueando a entrada de Ca^{2+} por esses canais. Porém, neste estudo, o efeito da droga foi na concentração de $30\mu\text{M}$. Vale salientar que em ambos os estudos os efeitos da Tioridazina foram analisados *in vitro* em soluções diferentes da solução de KH utilizada no presente estudo, o que pode explicar, pelo menos em parte, a diferença qualitativa nos efeitos observados.

Ainda em desacordo com os resultados encontrados nesse estudo, em 1980, Brannan e colaboradores analisaram os efeitos inotrópicos da Tioridazina em cães anestesiados, através de uma esternotomia mediana e introdução de um “strain gauge” no ventrículo direito para monitorar a força de contração miocárdica. Houve uma diminuição de 50% da força de contração miocárdica quando a concentração de Tioridazina atingiu 11mg/kg (aproximadamente $380\mu\text{M}$). Quando comparado com outras drogas, como o Haloperidol e a Clorpromazina (dois outros antipsicóticos), a concentração para que a Tioridazina alcançasse esse efeito foi duas vezes maior que a dos outros dois antipsicóticos.

Também utilizando o átrio esquerdo *in vitro*, o estudo de Landmark (1972) avaliou o efeito da Tioridazina sobre a força em diferentes concentrações de Ca^{2+} , frequências e intensidade da estimulação. Neste estudo foi achado que, na concentração de $25\mu\text{M}$, a Tioridazina reduz a força de contração cardíaca, efeito esse antagonizado por um aumento na concentração do Ca^{2+} . Além disso, a força de contração caiu gradativamente com o aumento da frequência de contração, necessitando de um aumento na intensidade da estimulação. Concluiu-se naquele estudo que o efeito inotrópico negativo da Tioridazina era dependente da concentração extracelular de Ca^{2+} e da frequência e intensidade da estimulação elétrica. A

diferença qualitativa destes resultados com os nossos pode dever-se, em parte, à discrepância nas concentrações de Tioridazina utilizadas no presente trabalho, que variou de 0,5 a 2 μM .

Por outro lado, Hollander & Cain (1971) encontram efeitos inotrópicos positivos *in vitro* similares aos encontrados no presente estudo. No entanto, ainda assim, efeitos inotrópicos negativos apareceram quando a Tioridazina foi administrada previamente via parenteral (ainda *in vivo*) com dosagem de 30mg/kg (aproximadamente 1mM), podendo depreender-se assim que a concentração, o tempo e a via de administração poderiam estar relacionados com um aumento ou uma perda da força de contração pelo miocárdio.

A fim de estudar os efeitos da Tioridazina na contração dos músculos lumbricais de sapos, Bruton; Westerblad; Lännergren (1996) isolaram estes músculos e o submeteram a tetanização por estimulação elétrica. Os resultados mostraram que a tetanização não foi possível na presença da droga, devido à perda completa da força de contração. Essa perda de força durante a tetanização não foi revertida com a administração de cafeína – que auxilia na liberação do Ca^{2+} do SR (Altimari et al, 2006). Somente após administração de 190mM de K^+ houve tetanização muscular normal. Esse resultado indica que o meio onde o experimento está sendo realizado, principalmente *in vitro*, afeta a intensidade dos efeitos da Tioridazina sobre a contração muscular do tecido. Nos experimentos do presente estudo houve permanente equilíbrio nos eletrólitos, pH, temperatura, glicose e oxigenação, minimizando este fator nos efeitos da Tioridazina.

Ainda no estudo de Bruton; Westerblad; Lännergren (1996) se observou, em fibra muscular de sapo, um aumento da força de contração devido às fenotiazinas. Esse aumento foi gradual até o décimo primeiro minuto de experimento. Após esse tempo a força caiu drasticamente até a perda total da contratilidade. A concentração da droga nesse experimento foi de 100 μM . O aumento da força de contração chegou a 42,1 \pm 9,0% quando comparado ao grupo controle. A hipótese dada para esse ganho de força foi um aumento na liberação de Ca^{2+} pelo SR e um retardo na sua remoção. Apesar do modelo muscular desse trabalho ser diferente do efetuado neste estudo, não podemos concluir que o aumento da força de contração no nosso estudo foi devido a um aumento na liberação de Ca^{2+} pelo SR, pois não houve alteração na cinética de contração, notada através da comparação da sigmóide de contração dos átrios banhados com solução e KH contendo Tioridazina, com a dos átrios banhados apenas com solução de KH (vide figura 14 e 15). Os dados do presente trabalho também não corroboram a idéia de um possível retardo na remoção do Ca^{2+} citossólico, visto

que a cinética de relaxamento, similarmente à da contração, não se alterou na presença da droga estudada.

Outra hipótese para o ganho de força de contração seria a de um processo que ocorresse através de um aumento da sensibilidade da miofibrila pelo Ca^{2+} . Este aumento da sensibilidade do Ca^{2+} a miofibrila já foi descrito anteriormente em outra medicação do grupo das Fenotiazinas, a Trifluoperazina. Em 1988, Kurebayashi & Ogawa estudaram esse efeito da Triofluoperazina e encontraram também um efeito concentração dependente na estimulação da força de contração de músculo esquelético isolado de sapos. A justificativa para esse efeito foi que a droga poderia estar atuando em sítios diferentes, sendo esses sítios estimulados por alta ou baixa concentração do fármaco, podendo essa ser também a explicação para os resultados encontrados no presente estudo. Neste trabalho a força de contração do átrio esquerdo isolado apresentou maior ganho na concentração de $1\mu\text{M}$ de Tioridazina e menor ganho de força na concentração de $0,5\mu\text{M}$ (menor concentração) e $2\mu\text{M}$ (maior concentração), sem, entretanto, alterar as cinéticas de contração ou relaxamento muscular.

Efeitos semelhantes aos citados anteriormente foram notados com a Clorpromazina (outra droga do grupo das Fenotiazinas). Em um estudo realizado por Clergue; Riou; Lecarpentier (1990), a Clorpromazina causou um aumento na força de contração de músculos papilares do ventrículo esquerdo de ratos (*in vitro*), quando utilizada a concentração de $1\mu\text{M}$. Porém, naquele trabalho ocorreu diminuição no inotropismo em concentrações maiores (10^{-5} e 10^{-4}M). Esse efeito também foi explicado pelo aumento da sensibilidade ao Ca^{2+} pelos miofilamentos de actina e miosina, sendo este efeito concentração dependente.

Mais recentemente, Qin e colaboradores (2009) encontraram uma ação agonista nos receptores rianodínicos em miócitos, na presença de Trifluoperazina. Essa ação causou uma maior liberação de Ca^{2+} pelo SR e um retardo na sua reabsorção do citosol. Estes efeitos causariam um aumento na força de contração cardíaca, consistindo em outra consideração hipotética que poderia explicar o ganho no pico de força encontrado no presente estudo.

Em suma, a montagem experimental utilizada no presente estudo é adequada para estudos de força de contração de átrio esquerdo, eletricamente estimulado, *in vitro*. O efeito inotrópico da Tioridazina sobre a força atrial é positivo nas concentrações extracelulares entre $0,5$ e $2\mu\text{M}$. Adicionalmente, este efeito não é diretamente proporcional à concentração deste fármaco, o qual exibiu efeito inotrópico positivo maior para a concentração de $1\mu\text{M}$ e menor

para as concentrações de 0,5 μ M e 2 μ M. Estes resultados não estão em consonância nem corroboram diversos relatos da literatura, o que parece ser uma conseqüência da grande variabilidade de efeitos que as fenotiazinas têm, no geral, no sistema cardiovascular como um todo. Por outro lado, os dados do presente trabalho estão em consonância com achados recentes acerca do efeito das fenotiazinas sobre a homeostase de Ca²⁺, como o de Qin e colaboradores (2009), provendo amparo experimental quantitativo para a idéia de que há importante participação do SR no efeito inotrópico daquelas drogas, e achados mais antigos, como o de Kurebayashi & Ogawa (1988), onde o aumento do inotropismo cardíaco pelas Fenotiazinas poderia ser explicado pelo aumento da sensibilidade das miofibrilas pelo Ca²⁺. Isto, em última análise pode ajudar a elucidar a complexidade de efeitos que este tipo de fármaco tem, notadamente sobre o inotropismo cardíaco, e por conseqüência, sobre a função bombeadora do coração.

Referências Bibliográficas

ALTAMIRANO, J., BERS, D. M.. Voltage dependence of cardiac excitation-contraction coupling. **Circ. Res.**, v. 101, p. 590-597, 2007

ALTIMARI, L. R., MORAES, A. C., TIRAPEGUI, J., MOREAU, R. L. M.. Cafeína e performance em exercícios anaeróbios. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 42, n. 1, p. 17-27, 2006

BASSANI, R. A.. Transient outward potassium current and Ca²⁺ homeostasis in the heart: beyond the action potential. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 393-403, 2006

BERS, D. M.. Cardiac excitation-contraction coupling. **Nature**, v. 415, p. 198-205, 2002

BERNE, R.M.; LEVY, M.N. **Fisiologia**. 4. ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 341-400, 2000

BLAUSTEIN, M. P., LEDERER, W. J.. Sodium/Calcium exchange: its physiological implications. **Physiol. Rev.**, v. 79, n. 3, p. 763-785, 1999

BRANNAN, M. D., RIGGS, J. J., HAGEMAN, W. E., PRUSS, T. P.. A comparison of the cardiovascular effects of haloperidol, thioridazine and chlorpromazine HCl. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 244, n. 1, p. 48-57, 1980

BRUTON, J. D., WESTERBLAD, H., LÄNNERGRÉN, J.. Reversible depression of action potentials and force production in frog single muscle fibres by calmodulin-inhibitors. **Acta Physiol. Scand.**, v. 156, p. 441-446, 1996

BYDŁOWSKI, S. P., BYDŁOWSKI, C. R.. Fisiologia do músculo esquelético. In: DOUGLAS, C. R. **Tratado de fisiologia aplicada a saúde**. 5. ed. São Paulo: Robe, 2002. p. 153-166.

BROWN, C. S., FARMER, R. G., SOBERMAN, J. E., EICHNER, S. F.. Pharmacokinetic factors in the adverse cardiovascular effects of antipsychotic drugs. **Clin. Pharmacokinet**, v. 43, n. 1, p. 33-56, 2004.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. Guide to the care and use of experimental animals. Disponível em: http://www.ccac.ca/English/gui_pol/guides/englishe/toc_v1.htm. Acesso em 10 de janeiro de 2004.

CARREIRO, S. V., MARTINS, R. R., CARVALHO, A.. Psicofármacos e morte súbita. **Acta Méd. Port.**, v. 19, p. 151-164, 2006.

CIRENZA, C., JABER, J., NOGUEIRA JR., A. P., AMARAL, A., HENZ, B. D., PINTO JR., N. P. P., PAOLA, A. A. V.. Terapêutica das arritmias ventriculares. In: NOBRE, F. &

- SERRANO JR., C. V.. **Tratado de cardiologia SOCESP**. 1. ed. São Paulo: Manole, 2005, p. 1241-1252.
- CLERGUE, M., RIOU, B., LECARPENTIER, Y.. Inotropic and lusitropic effects of chlorpromazine on rat left ventricular papillary muscle. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 253, n. 1, p. 296-304, 1990
- DIBB, K. M., EISNER, D. A., TRAFFORD, A. W., Regulation of systolic $[Ca^{2+}]_i$ and cellular Ca^{2+} flux balance in rat ventricular myocytes by SR Ca^{2+} , L-type Ca^{2+} current and diastolic $[Ca^{2+}]_i$. **Journal of Physiology**, v. 585, n. 2, p. 579-592, 2007
- DOUGLAS, C. R., MENDES, M. Controle da função cardíaca. In: DOUGLAS, C. R. **Tratado de fisiologia aplicada a saúde**. 5. ed. São Paulo: Robe, 2002. p. 647-711.
- ENDO, M. Cardiac Ca^{2+} signaling and Ca^{2+} sensitizers. **Circ. J.**, v. 72, p. 1915-1925, 2008
- ENDO, M. Signal transduction and Ca^{2+} signaling in intact myocardium. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 100, p. 525-537, 2006
- FRANK, O. Zur dynamik des herzmuskels. **Ztschr Biol**, v. 32, p. 370-447, 1895.
- FERREIRA, M. P., VASQUES, E. R., TAVARES, J. G. P., ALVES, B. J., RODRIGUES, T., GODOY, C. M. G.. Alterações eletrocardiográficas induzidas por fenotiazinas em corações isolados de rato. In: 21^o. CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA. Salvador: SBEB, 2008. Disponível em <http://www.sbeb.org.br/cbeb2008/Modelagem,%20Simula%20E7ao%20e%20Controle%20de%20Sinais%20Fisio%20F3gicos/o_0890.pdf>. Acesso em 20 de Abril de 2009
- FUKUDA, N., TERUI, T., OHTSUKI, I., ISHIWATA, S., KURIHANA, S. Tinti and Troponin: Central Players in Frank-Starling Mechanism of Heart. **Current Cardiology Reviews**, v. 5, p. 119-124, 2009
- GLASSMAN, A. H., BIGGER, J. T., Antipsychotic drugs: prolonged QTc interval, Torsade de Pointes, and sudden death. **Am. J. Psychiatry**. v. 158, p. 1774-1782, 2001.
- GORDON, A. M., HUXLEY, A. F., JULIAN, F. J. The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibers. **Journal of Physiology**, v. 184, p. 170-192, 1966.
- GOULD, R. J., MURPHY, K. M., REYNOLDS, I. J., SNYDER, S. H.. Calcium channel blockade: possible explanation for thioridazine's peripheral side effects. **Am. J. Psychiatry.**, v. 141, p. 352-357, 1984
- HADDAD, P. M., ANDERSON, I. M.. Antipsychotic-related QTc prolongation, torsade pointes and sudden death. **Drugs**, v. 62, n. 11, p. 1649-1671, 2002.

HOBAI, I. A., O'ROURKE, B. O. Decrease sarcoplasmic reticulum calcium content is responsible for defective excitation-contraction coupling in canine heart failure. **Circulation**, v. 103, p. 1577-1584, 2006

HOLLANDER, P. B., CAIN, R. M.. Effects of thioridazine on transmembrane potential and contractile characteristics of guinea pig hearts. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 16, n. 2, p. 129-135, 1971

HODGKIN, A. L., HUXLEY, A. F.. A Quantitative Description of Membrane Current and its Application to Conduction and Excitation in Nerve. **Journal of Physiology**, v.117, p. 500-544, 1952

KELLY, H. G., FAY, J. E., LAVERTY, S. G. Thioridazine Hydrochloride (Mellaril): Its effect on the electrocardiogram and report of two fatalities with electrocardiographic abnormalities. **Canad. Med. Ass. J.**, v. 89, p. 546-554, 1963.

KEURS, H. E. D. J., BOYDEN, P. A. Calcium and arrhythmogenesis. **Physiological Reviews**, v. 87, p. 457-506, 2007

KNOWTON, F.P., STARLING, E. H. The influence of variations in temperature and blood pressure on the performance of the isolated mammalian heart. **Journal of Physiology**, v. 44, p. 206-219, 1912.

KUREBAYASHI, N., OGAWA, Y.. Increase by trifluoperazine in calcium sensitivity of myofibrils in a skinned fibre from frog skeletal muscle. **Journal of Physiology**, v. 403, p. 407-424, 1988

LANDMARK, K.. The action of promazine and thioridazine in isolated rat atria. 3. Effects of varying concentrations of calcium and different frequencies and strengths of stimulation on contractile force and excitability. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 17, n. 3, p. 365-374, 1972

MACKIN, P. Cardiac effects of psychiatric drugs. **Hum. Psychopharmacol Clin Exp**. v. 23, p. 3-14, 2007

MIGUEL JUNIOR, A. **Síndrome do Q-T longo: Torsades de Pointes**. Medicina Geriátrica, 2010. Disponível em: <http://www.medicinageriatria.com.br/tag/taquicardia-ventricular>. Acesso em 21 Janeiro 2010

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 and Biophysical Research Communications**. v. 351, p. 273-280, 2006.

MURPHY, A. R.. Músculo. In: BERNE, R. M., LEVY, M. N., KOEPPEN, B. M., STANTON, B. A.. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, p. 255-266.

MURPHY, R. M., LARKINS, N. T., MOLLICA, J. P., BEARD, N. A., LAMB, G. D. Calsequestrin content and SERCA determine normal and maximal Ca^{2+} storage levels in sarcoplasmic reticulum of fast- and slow-twitch fibres of rat. **J. Physiol.** v. 587, n. 2, p. 443-460, 2009

ORDWAY, D., VIVEIROS, M., LEANDRO, C., BETTENCOURT, R., ALMEIDA, J., MARTINS, M., KRISTIANSEN, J. E., MOLNAR, J., AMARAL, L. Clinical concentrations of Thioridazine kill intracellular multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. **American Society for Microbiology.** v. 47, n. 3, p. 917-922, 2003.

PATTERSON, S. W., PIPER, H., STARLING, E. H. The regulation of the heart beat. **Journal of Physiology**, v. 48, p. 463-513, 1914.

QIN, J., ALEKSEY, V. Z., MAURA, P., LOTHAR, A. B., MICHAEL, F. Trifluoperazine: a ryanodine receptor agonist. **Eur. J. Physiol.**, v. 458, p. 643-651, 2009

RAY, W. A., MERIDITH, S., THAPA, P. B., MEADOR, K. G., HALL, K., MURRAY, K. T. Antipsychotics and the risk of sudden cardiac death. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 58, n. 12, p. 1161-1167, 2001

SCHWINGER, R. H. G., BÖHM, M., MÜLLER-EHMSSEN, J., UHLMANN, R., SCHMIDT, U., STÄBLEIN, A., ÜBERFUHR, P., KREUZER, E., REICHAERT, R., HANS-JOACHIM, E., ERDMANN, E. Effect of inotropic stimulation on the negative force-frequency relationship in the failing human heart. **Circulation**, v. 88, n. 5, p. 2267-2276, 1993

SHATTOCK, M. J., BERS, D. M. Rat vs. rabbit ventricle? Ca flux intracellular Na assessed by ion-selective microelectrodes. **Am. J. Physiol.**, v. 256, p. 813-822, 1989

SOHASKEY, C. D. Nitrate Enhances the Survival of *Mycobacterium tuberculosis* during Inhibition of Respiration. **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 8, p. 2981-2986, 2008

STARLING, E. H. The Arris and Gale lectures on some points in the pathology of heart disease. Lecture I. The compensating mechanisms of the heart. **Lancet**, v. 1, p. 569-572, 1897.

THANACOODY, H. K. R. Thioridazine: resurrection as an antimicrobial agent? **Br. J. Clin. Pharmacol.** v. 64, n. 5, p. 566-574, 2007

THORGEIRSSON, G., RUDOLPH, S. A. Diltiazem-like effect of thioridazine on the dihydropyridine binding site of the calcium channel of rat myocardial membranes. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 121, n. 2, p. 657-663. 1984

WHO, PHARMACEUTICALS NEWSLETTER, Tioridazine – withdrawn due to poor benefit/risk profile. n. 1, p.2, 2005

Disponível em http://www.who.int/medicines/publications/newsletter/en/news2005_1.pdf. Acesso em: 10 Dezembro 2008

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](#)