

**Efeitos do tratamento crônico com diferentes doses
de carvedilol sobre a variabilidade de frequência
cardíaca e de pressão arterial de ratos infartados**

Eduardo Miranda Dantas

Tese de doutorado em Ciências Fisiológicas
(Fisiologia Cardiovascular)

Doutorado em Ciências Fisiológicas
(Fisiologia Cardiovascular)

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, Março de 2012

Efeitos do tratamento crônico com diferentes doses de Carvedilol sobre a variabilidade de frequência cardíaca e de pressão arterial de ratos infartados

Eduardo Miranda Dantas

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo Mill

Aprovada em 09/03/2012 por:

Prof. Dr. José Geraldo Mill (UFES)
(Orientador)

Prof. Dr. Rodrigo Andreão Varejão (IFES)

Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva (UFTM)

Prof. Dr. Elisardo Corral Vasquez (UFES)

Prof. Dr. Dalton Valentim Vassallo (UFES)

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, Março de 2012

Dantas, Eduardo Miranda, 1982.

Efeitos do tratamento crônico com diferentes doses de Carvedilol sobre a variabilidade de frequência cardíaca e de pressão arterial de ratos infartados. [Vitória] 2012

XVI, 72 p., 29,7 cm, (UFES, D. Sc., Ciências Fisiológicas, 2012)

Tese, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGCF.

1. Infarto do miocárdio 2. Carvedilol 3. Beta-bloqueador 4. Variabilidade da pressão arterial 5. Variabilidade da frequência cardíaca

I – PPGCF/UFES II - Título

DEDICATÓRIA

À minha mãe que sempre incentivou meus estudos, que me apoiou em todos os momentos e que me ajudou a vencer todas as dificuldades.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, prof. José Geraldo Mill, por ser um grande professor e, acima de tudo, uma pessoa maravilhosa. Agradeço por todos os seus ensinamentos, pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório com a sua equipe, e por ter acreditado na minha força de trabalho. A realização do meu objetivo de fazer mestrado e doutorado, o contato com o meio científico, e com a pesquisa só foi possível com a sua ajuda. É com muito orgulho que eu agradeço por ter contado com sua orientação na graduação, no mestrado e no doutorado.

Ao CNPq pelo apoio financeiro. A bolsa de doutorado permitiu que eu me dedicasse não só ao desenvolvimento da minha tese, como também participasse de outros trabalhos em benefício do nosso programa de pós-graduação.

Ao Enildo que trabalhou em parceria comigo durante todo o tempo em que eu estive presente no laboratório. Em especial, agradeço sua participação no meu trabalho de doutorado infartando meus ratos, por ter me ajudado a padronizar técnicas de coleta de dados e por ter me ensinado bastante coisa, fruto da sua

experiência e do seu trabalho. Agradeço também sua ajuda dada a todos meus colegas de laboratório, quando precisaram.

Ao professor Valdo José Dias da Silva por ter-nos recebido com toda boa vontade em seu laboratório, por ter-nos ensinado os primeiros passos sobre variabilidade de frequência cardíaca e de pressão arterial e por ter se mostrado sempre disponível para nos ajudar quando precisamos. Da mesma forma, também agradeço aos seus alunos Vanessa e Otávio, que alteraram a sua rotina de trabalho para nos ajudar quando precisamos.

Ao prof. Rodrigo Varejão Andreão pelo suporte que nos foi dado, pela parceria, orientação e pelo seu trabalho intelectual que possibilitou nossas análises de variabilidade de pressão arterial e de frequência cardíaca feitas neste trabalho. Agradeço também aos seus alunos Marcelo Ramos e Bruna Sgaria, que sob a sua orientação, atuaram na elaboração e nos ajustes dos softwares de análise de variabilidade. Nossa parceria gerou alguns trabalhos que nos fez perceber que todo o esforço empregado pela equipe valeu a pena.

A todos os meus colegas de laboratório Wellington, Marcela, Enildo, Marcelo, Sérgio, Rebeca, Ludimila, Pedro, Daniel, Luciana, Leonard, Diana, Débora e Viviane, e a todos os outros colegas da

pós-graduação pela ajuda nos momentos que precisamos, pela convivência, coleguismo e pelas trocas de experiência.

A minha esposa Christine pelo companheirismo e pela paciência nos momentos em que eu estava ocupado e pela ajuda na busca de artigos usados na elaboração desse trabalho nos momentos de dificuldade.

Aos animais de experimento que deram a vida pela ciência. Que nunca falte a eles o respeito, os cuidados e os melhores tratamentos durante a sua existência.

A professora Ivanita Stefanon pelas aulas na graduação, e por ter-me feito gostar de Fisiologia.

Aos professores Dalton, Vasquez e, mais uma vez, ao prof. Mill por todos os ensinamentos ao longo do meu período de pós-graduação. Agradeço pela oportunidade de ter conhecido não apenas três grandes professores que foram muito importantes para a minha formação, mas também três grandes cientistas reconhecidos em nível mundial, que dedicaram a vida à produção da ciência. O grande número de artigos publicados por vocês revela a competência e a dedicação de vocês. Obrigado também pelo trabalho que vocês têm desempenhado mantendo o nosso programa de pós-graduação em funcionamento.

Aos professores Valdo, Rodrigo, Dalton, Vasquez e Mill pela participação na comissão examinadora do meu doutorado. Eu tenho

uma admiração enorme por cada um de vocês. As sugestões de cada membro foram essenciais para melhorar esse trabalho.

À minha família por tudo. Aos meus irmãos, que me ajudaram em muitos momentos, inclusive na busca de artigos, assistindo minhas aulas e seminários durante a minha pós-graduação. Aos meus avós, Henerides e Carolina, que sempre estiveram perto de nós. A minha mãe que sempre acreditou em mim, me apoiou, e que em momento nenhum deixou que eu desistisse dos meus planos. Sem a sua ajuda, eu não teria percorrido nem a metade do meu caminho.

A Deus que sempre olhou por mim, me protegeu, me conduziu pelo meu caminho, e que me deu forças para prosseguir apesar de todas as dificuldades.

RESUMO

O **objetivo** foi avaliar os efeitos do tratamento crônico com diferentes doses de carvedilol sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e da pressão arterial (VPA) de ratos com infarto do miocárdio (IM). **Metodologia:** Ratos *Wistar* machos (peso corporal 180-250g) foram incluídos no estudo. Os animais foram submetidos à IM por ligadura do ramo interventricular anterior da coronária esquerda (N=40) ou a uma cirurgia fictícia (N=29, *sham*) e randomizados para receberem tratamento (na água de beber) com placebo (metilcelulose 0,5%) ou carvedilol em dose baixa (2 mg/kg/dia) ou alta (20 mg/kg/dia): sham placebo (SP, N=12), sham dose baixa (SDB, N=8), sham dose alta (SDA, N=9), infarto placebo (IP, N=13), infarto dose baixa (IDB, N=12) e infarto dose alta (IDA, N=15). Trinta dias após, os animais acordados foram submetidos à avaliação hemodinâmica (registro invasivo da pressão arterial e eletrocardiograma) para análise da VPA e VFC feitas no domínio do tempo (variância da pressão sistólica e dos intervalos R-R) e da frequência (VLF, LF, HF) usando o método autorregressivo com ordem do modelo fixa em 16. Registros pressóricos de ventrículo esquerdo foram obtidos por cateterismo ventricular nos animais anestesiados. Os dados são apresentados como média e desvio padrão. **Resultados:** O IM determinou aumento no peso cardíaco ($0,31 \pm 0,04$ mg/g SP vs. $0,45 \pm 0,10$ mg/g IP, $P < 0,05$), prejuízo da função ventricular esquerda com redução da pressão ventricular sistólica (PVS: 132 ± 11 mmHg SP vs. 116 ± 16 mmHg IP, $P < 0,05$), aumento da pressão ventricular diastólica inicial (PVDI: -4 ± 5 mmHg SP vs. 9 ± 7 mmHg IP, $P < 0,05$) e final (PVDF: 6 ± 13 mmHg SP vs. 17 ± 9 mmHg IP, $P < 0,05$). Observou-se ainda uma redução do LF de VPA (61 ± 22 n.u. SP vs. 32 ± 25 n.u. IP, $P < 0,05$), sem alteração dos parâmetros de VFC (variância de R-R: $20,88 \pm 12,13$ ms² SP vs. $29,85 \pm 25,20$ ms² IP, $P > 0,05$). A dose baixa de carvedilol evitou o aumento do peso cardíaco ($0,45 \pm 0,10$ mg/g IP vs. $0,34 \pm 0,04$ mg/g IDB, $P < 0,05$), da PVDI (9 ± 7 mmHg IP vs. 0 ± 5 mmHg IDB, $P < 0,05$) e da PVDF (17 ± 9 mmHg IP vs. 9 ± 6 mmHg IDB, $P < 0,05$), mas não modificou a PVS (116 ± 16 mmHg IP vs. $114 \pm$

16 mmHg IDB, $P > 0,05$). A dose alta de carvedilol preveniu o aumento da PVDI (9 ± 7 mmHg IP vs. 1 ± 7 mmHg IDA, $P < 0,05$) mas não o aumento do peso cardíaco ($0,45 \pm 0,10$) mg/g IP vs. $0,42 \pm 0,05$ mg/g IDA, $P > 0,05$) e da PVDF (17 ± 9 mmHg IP vs. 12 ± 9 mmHg IDA, $P > 0,05$) e exacerbou a queda na PVS (119 ± 10 mmHg IP vs. 104 ± 12 IDA, $P < 0,05$). Nenhum dos tratamentos afetou nem a VPA (variância da pressão: $13,02 \pm 8,30$ mmHg² IP, $13,69 \pm 4,88$ mmHg² IDB, $10,91 \pm 5,14$ mmHg² IDA, $P > 0,05$) nem a VFC (variância de R-R: $29,85 \pm 25,20$ ms² IP, $49,64 \pm 32,58$ ms² IDB, $30,90 \pm 33,00$ ms² IDA, $P > 0,05$). **Conclusão:** A dose baixa de carvedilol produziu melhora hemodinâmica e impediu o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca após IM. Esses efeitos parecem ser independentes de ajustes no balanceamento autonômico para o coração e vasos, uma vez que não tiveram repercussões importantes sobre os componentes espectrais da VPA e da VFC.

Palavras chave: 1. infarto do miocárdio 2. carvedilol 3. beta-bloqueador 4. variabilidade da pressão arterial 5. variabilidade da frequência cardíaca

ABSTRACT

The **objective** was to evaluate the effects of chronic treatment with carvedilol (Carv) on heart rate (HRV) and blood pressure (BPV) variability in rats with myocardial infarction (MI). **Methods:** Male Wistar rats (body weight 180-250g) were included in the study. The rats underwent MI by ligation of anterior interventricular branch of left coronary artery (N = 40) or a sham operation (SO, N = 29, sham) and randomized to receive vehicle (drinking water) with placebo (Plac, methylcellulose 0.5%) or low (L-Carv, 2 mg/kg/day) or high (H-Carv, 20 mg/kg/day) dose carvedilol: SO-Plac (N=12), SO-L-Carv (N=8), SO-H-Carv (N=9), MI-Plac (N=13), MI-L-Carv (N=12) and MI-H-Carv (N=15). Thirty days later, conscious animals underwent hemodynamic evaluation (invasive records of BP and electrocardiogram) for the analysis of BPV and HRV carried out in the time (variance of systolic pressure and R-R interval) and frequency (VLF, LF, HF) domains using the autoregressive modeling with model order set in 16. Ventricular pressure records were obtained by catheterization in the anesthetized animals. Results are shown as mean and standard deviation. **Results:** MI produced increase in cardiac weight 0.31 ± 0.04 mg/g SO-Plac vs. 0.45 ± 0.10 mg/g MI-Plac, $P < 0.05$), impaired left ventricular function with decrease of ventricular systolic pressure (LVSP: 132 ± 11 mmHg SO-Plac vs. 116 ± 16 mmHg MI-Plac, $P < 0.05$), increase of ventricular initial diastolic (LVDIP: -4 ± 5 mmHg SO-Plac vs. 9 ± 7 mmHg MI-Plac, $P < 0.05$) and ventricular end diastolic (LVDEP: 6 ± 13 mmHg SO-Plac vs. 17 ± 9 mmHg MI-Plac, $P < 0.05$) pressures. We also observed a reduction of LF BPV (61 ± 22 n.u. SO-Plac vs. 32 ± 25 n.u. MI-Plac, $P < 0.05$) without changes of HRV parameters (variance of R-R: 20.88 ± 12.13 ms² SO-Plac vs. 29.85 ± 25.20 ms² MI-Plac, $P > 0.05$). Low dose carvedilol prevented increase in cardiac weight (0.45 ± 0.10 mg/g MI-Plac vs. 0.34 ± 0.04 mg/g MI-L-Carv, $P < 0.05$), LVDIP (9 ± 7 mmHg MI-Plac vs. 0 ± 5 mmHg MI-L-Carv, $P < 0.05$) and LVDEP (17 ± 9 mmHg MI-plac vs. 9 ± 6 mmHg MI-L-Carv, $P < 0.05$), but did not change LVSP (116 ± 16 mmHg MI-Plac vs. 114 ± 16 MI-L-Carv mmHg, $P > 0.05$). High dose carvedilol prevented the LVDIP increase (9 ± 7 mmHg MI-Plac vs. 1 ± 7 mmHg MI-H-Carv, $P < 0.05$), but did not prevent neither the increase in cardiac weight (0.45 ± 0.10 mg/g MI-Plac vs. 0.42 ± 0.05 mg/g MI-H-Carv, $P > 0.05$) nor of the LVDEP (17 ± 9 mmHg MI-Plac vs. 12 ± 9 mmHg MI-H-Carv, $P > 0.05$) and exacerbated the fall of LVSP (119 ± 10 mmHg MI-Plac vs. 104 ± 12 mmHg MI-H-Carv,

P<0.05). None of the treatments affected the BPV (variance of pressure: 13.02 ± 8.30 mmHg² MI-Plac, 13.69 ± 4.88 mmHg² MI-L-Carv, 10.91 ± 5.14 mmHg² MI-H-Carv, P>0.05) nor the HRV (variance of RR: 29.85 ± 25.20 ms² MI-Plac, 49.64 ± 32.58 ms² MI-L-Carv, 30.90 ± 33.00 ms² MI-H-Carv, P>0.05). **Conclusion:** Low dose carvedilol improved hemodynamic parameters and prevented the development of cardiac hypertrophy after MI. These effects seem to be independent of adjustments in the autonomic balance to the heart and vessels, since they did not have a significant impact on the spectral components of HRV and VPA.

Keywords: 1. Myocardial infarct 2. Carvedilol 3. Beta-Blocker 4. Blood pressure Variability 5. Heart Rate Variability

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Registros eletrocardiográficos avaliados na derivação D1 imediatamente antes (à esquerda) e 24h após o infarto (direita).....	24
Figura 2 –	Registros eletrocardiográfico (acima) e pressórico (abaixo) obtidos nos ratos acordados com livre movimentação na gaiola.....	27
Figura 3 –	Registros da pressão ventricular esquerda obtido nos ratos anestesiados em condição basal, sobrecarga de salina e recuperação.....	30
Figura 4 –	Imagem obtida de um coração infartado após coloração com trifeniltetrazólio.....	33
Figura 5 –	Peso corporal inicial, antes do início do tratamento (A) e final, após 30 dias de tratamento (B).....	39
Figura 6 –	Tamanho do infarto em percentual da área infartada. IP – infarto placebo (N=13), IDB – infarto dose baixa (N=12), IDA – infarto dose alta (N=15).....	40
Figura 7 –	Teste de sobrecarga de salina. (A)- Pressão ventricular diastólica inicial. (B)- Pressão ventricular diastólica final. Dados representam a média. A seta no eixo das abscissas indicam o início e o término da infusão de salina.....	44

Figura 8 –	Variação da frequência cardíaca produzida por bloqueio autonômico em ratos acordados.....	46
Figura 9 –	Variáveis espectrais de variabilidade de pressão arterial do bloqueio autonômico representadas em unidades normalizadas (n.u.).....	48
Figura 10 –	Box plots das variáveis espectrais normalizadas de variabilidade de frequência cardíaca, LF (A) e HF (B), representadas em unidades normalizadas (n.u.), e relação LF/HF (C), geradas no bloqueio autonômico.....	50
Figura 11 –	Box plots das variáveis espectrais de variabilidade de pressão arterial, representadas em unidades normalizadas (n.u.), após tratamento com carvedilol.....	52
Figura 12 –	Box plots das variáveis espectrais de variabilidade de frequência cardíaca, representadas em unidades normalizadas (n.u.), e a relação LF/HF, após tratamento com carvedilol.....	54
Figura 13 –	Peso cardíaco avaliado um mês após o infarto ou falso infarto (sham). A- peso absoluto; B- peso relativo.....	55
TABELA 1 –	Variáveis hemodinâmicas avaliadas durante 30 min de registro contínuo nos ratos acordados.....	41
TABELA 2 –	Variáveis hemodinâmicas avaliadas nos ratos anestesiados em condições basais.....	43

TABELA 3 – Variabilidade espectral da pressão arterial sob diferentes formas de bloqueio autonômico.....	47
TABELA 4 – Variabilidade espectral da frequência cardíaca em diferentes fases do bloqueio autonômico.....	49
TABELA 5 – Análise temporal e espectral de variabilidade de pressão arterial após tratamento com carvedilol.....	51
TABELA 6 – Análise temporal e espectral da variabilidade de frequência cardíaca após tratamento com carvedilol.....	53
Quadro 1 Efeitos do infarto e do tratamento com diferentes doses de carvedilol nos ratos infartados e não infartados.....	56

ABREVIATURAS

DEP – densidade espectral de potência

FC – frequência cardíaca

HF – componente espectral de alta frequência

IDA – infarto dose alta

IDB – infarto dose baixa

IM – infarto do miocárdio

IP – infarto placebo

LF – componente espectral de baixa frequência

LF/HF – relação entre o componente de baixa frequência e alta frequência

n. u. – unidades normalizadas

PAD – pressão arterial diastólica

PAM – pressão arterial média

PAS – pressão arterial sistólica

SDA – sham dose alta

SDB – sham dose baixa

SP – sham placebo

VFC – variabilidade de frequência cardíaca

VPA – variabilidade de pressão arterial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
2.1 AMOSTRA E PROCEDIMENTO DE INFARTO DO MIOCÁRDIO.....	23
2.2 TRATAMENTOS.....	25
2.3 AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS E AQUISIÇÃO DO ECG.....	25
2.4 MEDIDA DAS PRESSÕES VENTRICULARES ESQUERDA, AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO CARDÍACA E PESO CARDÍACO.....	29
2.5 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DO INFARTO.....	32
2.6 ANÁLISES DE VARIABILIDADE DE PRESSÃO ARTERIAL E DE FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	33
2.7 BLOQUEIO DO SISTEMA NERVOSO AUTONÔMICO PARA VALIDAÇÃO DO SOFTWARE DE ANÁLISE ESPECTRAL.....	35
2.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	36
3 RESULTADOS.....	39
3.1 PESO CORPORAL E TAMANHO DO INFARTO.....	39
3.2 RESULTADOS HEMODINÂMICOS.....	40

3.2.1 Pressão arterial acordado e frequência cardíaca.....	40
3.2.2 Avaliação da função cardíaca.....	41
3.3 BLOQUEIO AUTONÔMICO.....	45
3.4 ANÁLISES DE VARIABILIDADE DE PRESSÃO ARTERIAL E DE FREQUÊNCIA CARDÍACA - INFLUÊNCIA DO INFARTO E DO TRATAMENTO COM CARVEDILOL.....	51
3.5 PESO CARDÍACO.....	54
4 DISCUSSÃO.....	58
5 CONCLUSÃO.....	66
6 REFERÊNCIAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares representam hoje a principal causa de morte e de incapacidade no mundo (1-3). As doenças isquêmicas do coração foram responsáveis por 7,2 milhões de morte no ano de 2004, correspondendo a 12,2% dos óbitos registrados em todo mundo, e estimativas indicam que elas serão uma das maiores causas de morte em 2030 (1). Novos métodos que permitam compreender, monitorar e combater as doenças cardiovasculares estão sendo investigados visando melhorar os processos de prevenção e tratamento para esse conjunto de doenças. Nesse contexto, tem havido uma busca contínua de novos marcadores de risco que sejam mais específicos e sensíveis para estimar o prognóstico de portadores de doenças cardiovasculares prevalentes, como a hipertensão e o infarto do miocárdio.

A pressão arterial constitui uma variável fisiológica de extrema importância para a regulação homeostática. O valor da pressão arterial não é fixo, mas varia continuamente com o débito cardíaco e a resistência vascular periférica. Portanto, a presença de variação na pressão indica a existência de reguladores homeostáticos ativos, uma vez que o débito cardíaco varia em função do retorno venoso, e a resistência vascular periférica sofre flutuações em função das necessidades da oferta de oxigênio e pela presença de metabólitos vasoativos nos diversos territórios circulatórios. Nos últimos anos, com o desenvolvimento de algoritmos computacionais, as variações da pressão arterial e da frequência cardíaca têm sido estudadas em vários aspectos, designados como análises no domínio do tempo (4-6), usando principalmente registros de longo-prazo (≈ 24 h), e no domínio da frequência (análise espectral) (6-8), por meio de registros de curto-prazo (com

duração de poucos minutos, geralmente em torno de 5 min) ou longo-prazo com a técnica de abordagem sequencial espectral de Wigner-Ville (9), ou ainda usando os métodos tradicionais não paramétrico (transformada rápida de Fourier) e paramétrico (autorregressivo), dividindo as séries de registros em segmentos estacionários. As análises no domínio do tempo são constituídas por medidas diretas de parâmetros cíclicos, tais como frequência cardíaca, pressão arterial, intervalos R-R ou intervalos de pulso, e por parâmetros derivados das diferenças de intervalos R-R, intervalos de pulso, ou pressóricos, como desvio padrão da pressão arterial sistólica e dos intervalos R-R (obtidos pela extração da raiz quadrada da variância da pressão sistólica e dos intervalos R-R, respectivamente), raiz quadrada da média da soma dos quadrados das diferenças entre os intervalos R-R adjacentes (*rMSSD*, sigla do inglês: *the square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent R-R intervals*), dentre outros (6;10). A análise espectral, por outro lado, possibilita subdividir a variabilidade de pressão arterial (VPA) em diferentes componentes de frequência, por quantificar a variância (energia ou *power*) e classificá-las em frequências específicas (9). Desse modo, oscilações rítmicas situadas em frequência muito baixa (menores que 0,04 Hz em humanos e <0,2 Hz em ratos), com interpretação fisiológica complexa, parecem sofrer influências de vários fatores como catecolaminas (11), sistema renina-angiotensina (12-15); estresse térmico (16); hipovolemia (17); As oscilações de frequência baixa (0,04-0,15Hz em humanos e 0,2-0,75 Hz em ratos), também conhecidas como ondas de Mayer, têm sido associadas com a modulação simpática do tono vascular (18-20); e finalmente, oscilações de frequência alta (0,15-0,4 Hz em humanos e 0,75-2,5 Hz em ratos) parecem estar associadas com efeitos mecânicos da respiração sobre o coração e grandes vasos torácicos (21;22). A VPA tem recebido atenção crescente

nos últimos anos, por ser um indicador de integridade funcional do aparelho cardiovascular e, portanto, um marcador de risco cardiovascular (5;23). Desse modo, a avaliação da VPA pode fornecer informações valiosas sobre mecanismos de regulação cardiovascular (21;24;25).

Os componentes espectrais de variabilidade de frequência cardíaca (VFC), embora sejam classificados da mesma forma que os da VPA (isto é, na mesma faixa de frequência), não são interpretados exatamente da mesma maneira. O componente de frequência alta de VFC sofre influência da respiração e reflete principalmente a modulação parassimpática (6), enquanto que o componente de frequência baixa de VFC reflete predominantemente a modulação simpática sinoatrial (6;9), mas é ao menos em parte influenciado pela modulação vagal (26). O componente VLF de VFC sofre influência de inúmeros mecanismos fisiológicos (como descrito para VLF de VPA) e sua interpretação fisiológica exata precisa ainda ser esclarecida (6). A VFC tem se mostrado como uma técnica de grande utilidade para avaliação e acompanhamento do estado de saúde cardiovascular tendo um valor prognóstico muito bem estabelecido em várias doenças, como infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca, e diabetes *mellitus* (6).

Avanços no tratamento farmacológico aumentaram a sobrevivência de pacientes cardíacos. O papel essencial dos betabloqueadores no aumento da sobrevivência pós-infarto do miocárdio (IM) foi estabelecido nas últimas três décadas por diversos ensaios clínicos randomizados (27-31). Por isso, desde 1990, as diretrizes do Colégio Americano de Cardiologia/Associação Americana do Coração (32) recomendam primordialmente (classe I ou IIa) a terapia β -bloqueadora para a maioria dos pacientes infartados, exceto para aqueles com contraindicações. Existe uma extensa relação de betabloqueadores em uso clínico. Recentemente, um dos

componentes deste grupo farmacológico que vem recebendo grande atenção é o carvedilol, por apresentar atividade betabloqueadora não seletiva e por agir também como um bloqueador alfa-1 seletivo. Além disso, o carvedilol tem propriedades antioxidantes, e o seu uso é então indicado em situações de aumento crônico do estresse oxidativo, como ocorre no IM e na insuficiência cardíaca (33). O uso crônico de carvedilol em cardiopatas melhora os sintomas clínicos da insuficiência cardíaca, estabiliza os parâmetros hemodinâmicos, aumenta a sensibilidade do barorreflexo e também aumenta a VFC, a qual quando deprimida é indicadora de mal prognóstico (34;35).

Concomitante aos avanços no tratamento medicamentoso, ferramentas que permitam avaliar e estimar o estado de saúde de diferentes populações, saudáveis ou portadores de alguma doença, têm sido usadas para auxiliar nas intervenções terapêuticas. Assim, sabe-se hoje, que muitos índices de VFC estão alterados em condições clínicas como diabetes (36), hipertensão (37) e insuficiência cardíaca (38) e que a redução da VFC está associada com aumento de risco de mortalidade (39). Da mesma forma, o aumento na variabilidade pressórica avaliada através da MAPA ao longo de 24h (40;41), que reflete a variação da pressão batimento-a-batimento, está relacionada ao aumento da prevalência de gravidade de lesões nos órgãos alvo em hipertensos. Assim a VPA poderia ser usada para avaliar os efeitos do tratamento anti-hipertensivo (42), além de fornecer importantes informações prognósticas sobre futuras complicações cardiovasculares (43) como mortalidade, IM, acidente vascular cerebral e doença cardíaca coronariana (44). Ao contrário, em outras situações, especificamente após o infarto agudo do miocárdio, há redução dos índices espectrais de VPA (45), o que representa um indicador piora do prognóstico.

Apesar do uso extenso de betabloqueadores em pacientes com infarto do miocárdio, não existem trabalhos experimentais na literatura evidenciando o impacto do uso isolado do carvedilol na VPA e VFC. Este trabalho, portanto, foi realizado visando esclarecer o papel do tratamento crônico com carvedilol nos índices espectrais e temporais de VPA e VFC em ratos infartados. Tendo em vista que o intervalo terapêutico do carvedilol é relativamente pequeno, comparamos os efeitos de duas doses de carvedilol, baixa e alta, sobre a hemodinâmica e VPA e VFC de ratos infartados.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 AMOSTRA E PROCEDIMENTO DE INFARTO DO MIOCÁRDIO

Ratos machos da linhagem *Wistar* (n=75) provenientes do biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, com peso corporal entre 180-250g, foram utilizados no experimento. Inicialmente, os animais foram pesados em balança com precisão de 1g (Toledo, 9094) e anestesiados com injeção intramuscular de quetamina e xilazina (35 mg/kg de peso corporal de quetamina e 10 mg/kg de peso corporal de xilazina) e submetidos a uma cirurgia de ligadura dos ramos descendentes anteriores da artéria coronária esquerda (N=46) como descrito previamente (46), para produção do infarto do miocárdio. Ratos controles foram submetidos a uma cirurgia fictícia (N=29, *sham*) na qual os mesmos procedimentos cirúrgicos foram realizados sem, todavia, interromper o fluxo coronariano. Vinte e quatro horas após a cirurgia, os animais foram anestesiados novamente com o mesmo protocolo e imobilizados em decúbito dorsal em prancha para obtenção de um registro eletrocardiográfico padrão. Com base em estudos prévios realizados em nosso laboratório (47), foram considerados portadores de infarto transmural os animais que apresentavam onda Q com grande amplitude e de inscrição lenta na derivação D1 (Figura 1). Seis animais que não apresentavam onda Q nesta derivação foram excluídos do estudo. Os animais que prosseguiram no estudo (N=69) foram então randomizados para os seguintes grupos: sham placebo (N=12), sham tratado com dose baixa de carvedilol (N=8), sham tratado com dose alta de carvedilol (N=9), infarto placebo (N=13), infarto tratado com dose baixa de carvedilol (N=12) e infarto tratado com dose alta de carvedilol (N=15). O tratamento com dose

alta consistiu em fornecer 20 mg Kg⁻¹ peso corporal⁻¹ dia e o tratamento com dose baixa 2 mg Kg⁻¹ peso corporal⁻¹ dia de carvedilol na água de beber (48).

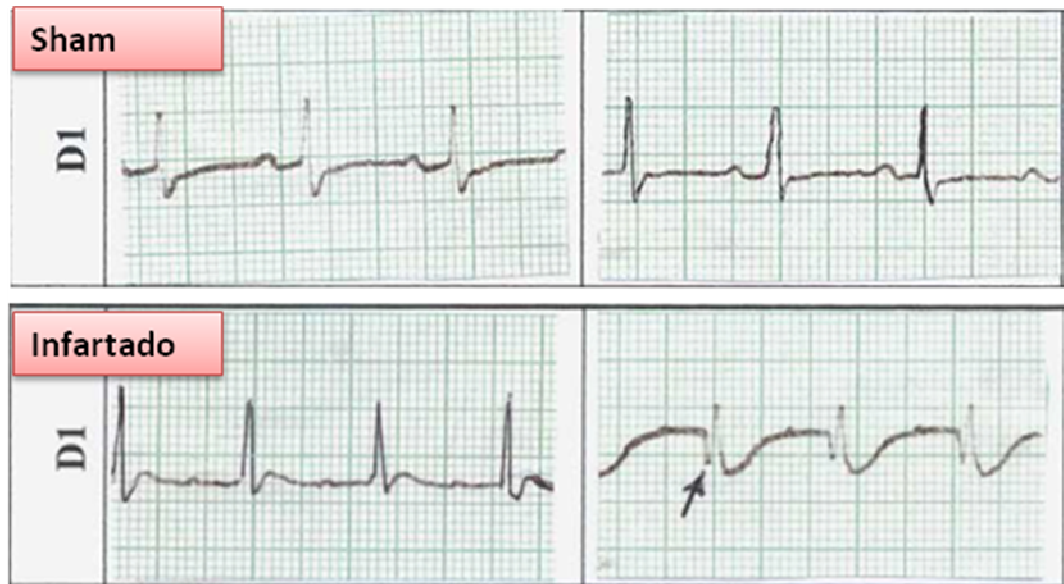


Figura 1 – Registros eletrocardiográficos avaliados na derivação D1 imediatamente antes (à esquerda) e 24h após o infarto (direita). Uma onda Q com aparece em D1 24h após a ligadura coronariana (abaixo, à direita, indicado pela seta), mas nenhuma alteração pode ser vista quando uma cirurgia fictícia é realizada (acima, à direita).

O estudo foi aprovado por um comitê de ética institucional (Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Espírito Santo, protocolo no. #056/2011) e os experimentos foram conduzidos de acordo com o Manual de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório publicado pelo *US National Institute of Health (NIH Publication #85-23, revisado em 1996)*. Os animais foram alojados em um ambiente silencioso, com temperatura controlada (22 ± 2 °C), ciclo claro-escuro de 12h-12h, com água e ração fornecidas *ad libitum*.

2.2 TRATAMENTOS

O tratamento foi feito com adição de carvedilol na água de beber. A ingestão hídrica (contendo veículo usado para dissolver o carvedilol – metilcelulose 0.5%) foi determinada com base na média de consumo semanal em um estudo piloto (≈ 35 mL/dia). Os animais dos grupos dose baixa receberam uma solução em uma concentração aproximada de 16 mg de carvedilol por litro de veículo por dia (equivalendo a cerca de 2 mg Kg^{-1} peso corporal⁻¹ dia de carvedilol). Os ratos do grupo dose alta receberam uma solução contendo aproximadamente 174 mg de carvedilol por litro de veículo por dia (o que corresponde a aproximadamente 20 mg Kg^{-1} peso corporal⁻¹ dia de carvedilol). O valor exato da concentração, no entanto, variava de acordo com período de tratamento, uma vez que ajustes para peso corporal eram feitos semanalmente. Os grupos placebo foram tratados somente com o veículo. O protocolo de tratamento de ratos com dose alta e baixa de carvedilol foi determinado em um estudo anterior (48).

2.3 AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS E AQUISIÇÃO DO ECG

Trinta dias após o tratamento com carvedilol ou placebo a medicação foi interrompida 24h antes das avaliações experimentais e os animais foram pesados (Toledo, 9094) e anestesiados com solução de quetamina e xilazina por via intraperitoneal (90 mg Kg^{-1} peso corporal de quetamina e 10 mg Kg^{-1} peso corporal de xilazina) e submetidos a uma cirurgia para implantação de uma cânula na artéria femoral esquerda para medida da pressão arterial. A cânula foi passada ao longo do

espaço subcutâneo com auxílio de um trocáter e exteriorizada na região dorsal do pescoço onde foi fixada à pele. Em seguida, foram implantados três eletrodos sob a pele do dorso para aquisição dos sinais eletrocardiográficos. Vinte e quatro horas após a cirurgia, a cânula foi lavada com 0.1 ml de solução salina heparinizada para obtenção de registro contínuo (30 minutos) da pressão arterial pulsátil e do ECG com os animais acordados e com livre movimentação na gaiola (figura 2). O registro pressórico foi obtido com transdutor de pressão (*TRA021, LSI, Letica, Scientific Instruments*) e um bioamplificador (*ML 132*), conectado a um sistema de aquisição de dados (*Powerlab 4 sp, modelo sp 4922, Adinstruments; Bridge Amp, modelo ml 110*, taxa de amostragem 2 KHz). A aquisição dos sinais eletrocardiográficos foi padronizada na derivação D1. Os registros foram gravados em um computador no software *Chart 5.5.1*. A frequência cardíaca foi calculada pelo inverso da média dos intervalos R-R em todo o registro multiplicado por 60 (FC (bpm)=(média R-R no registro)⁻¹ x 60).

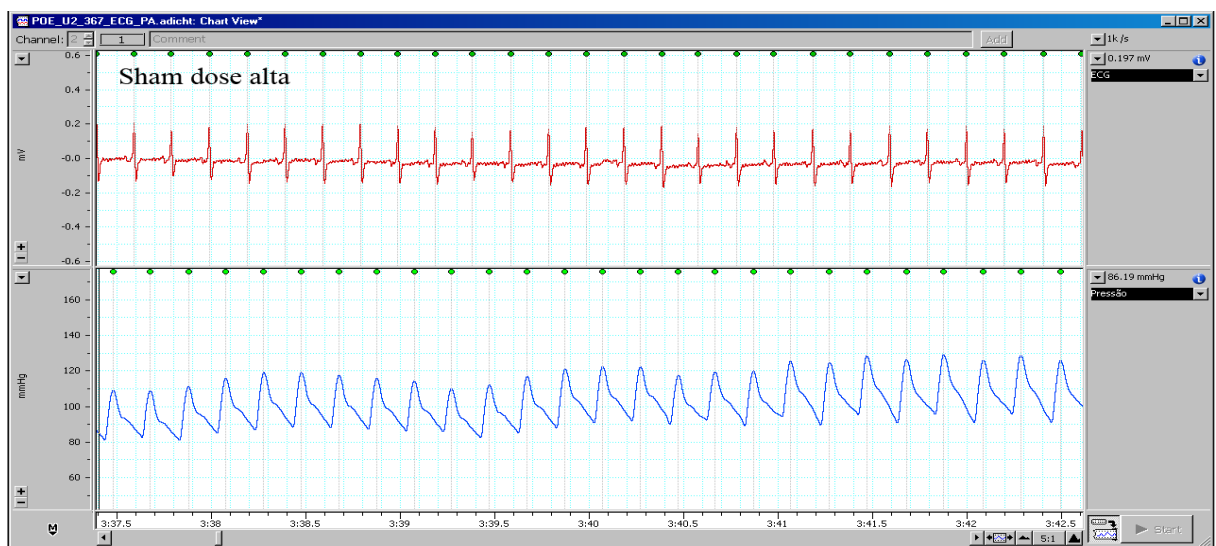
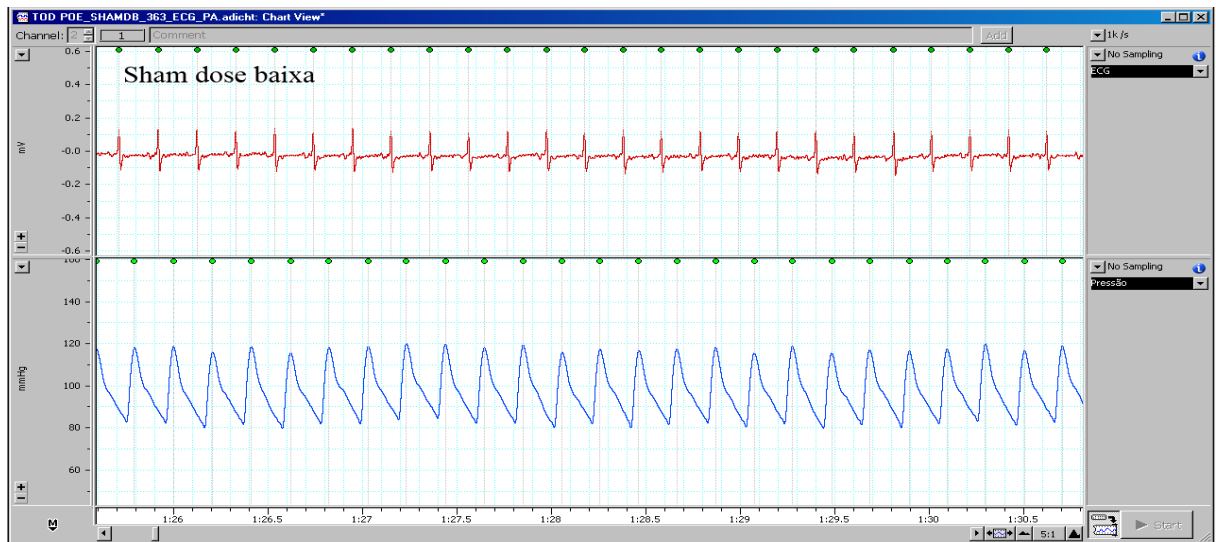
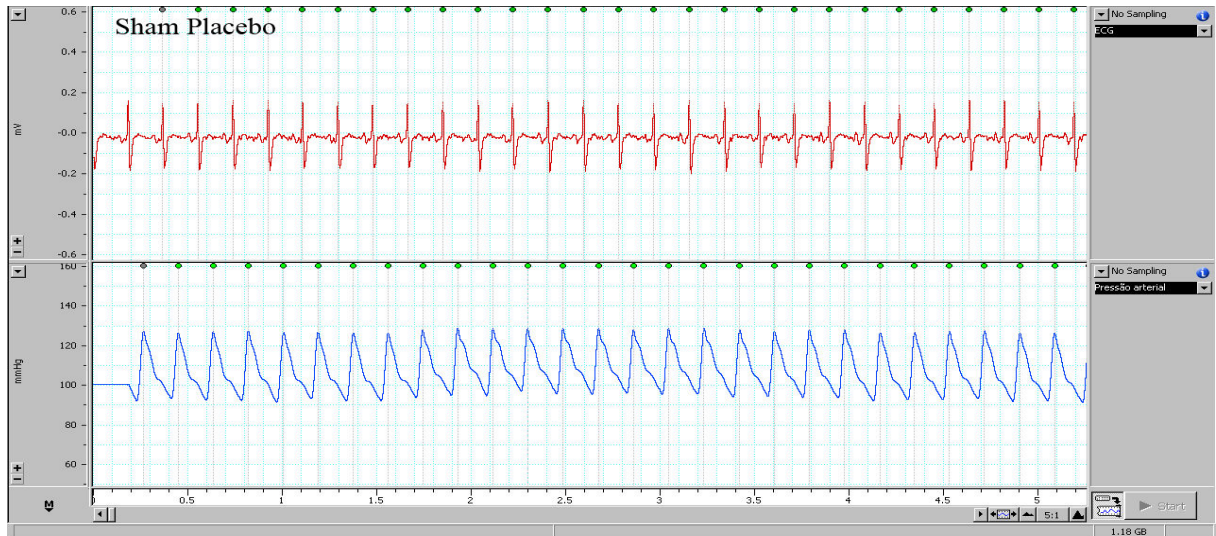


Figura 2 – Registros eletrocardiográfico (acima) e pressórico (abaixo) obtidos nos ratos acordados com livre movimentação na gaiola.

Continua

Continuação

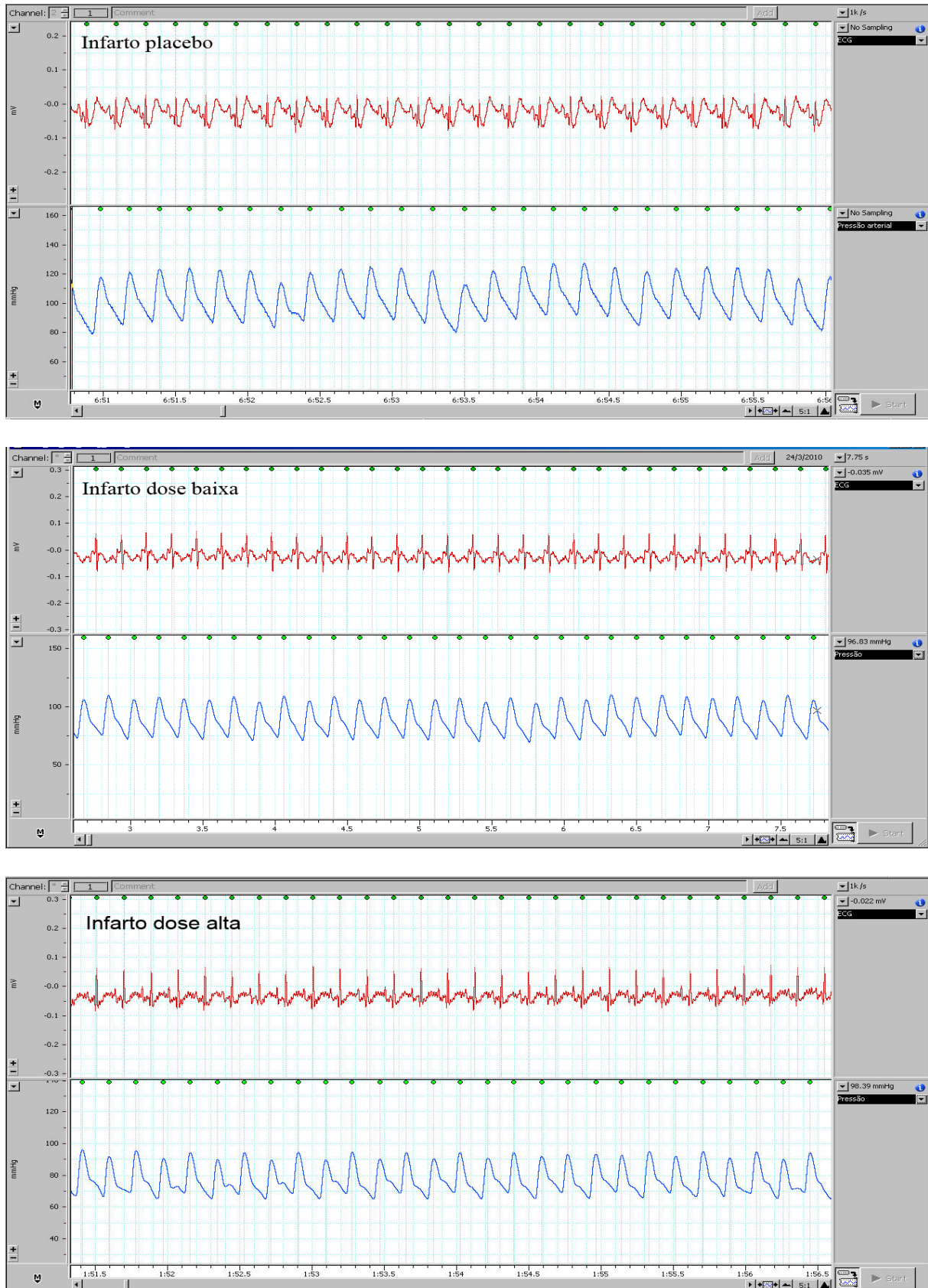


Figura 2 – Registros eletrocardiográfico (acima) e pressórico (abaixo) obtidos nos ratos acordados com livre movimentação na gaiola.

2.4 MEDIDA DAS PRESSÕES VENTRICULARES ESQUERDA, AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO CARDÍACA E PESO CARDÍACO

Imediatamente após o registro da pressão arterial, os ratos foram anestesiados (90mg/kg de peso corporal de quetamina e 10mg/kg de peso corporal de xilazina, via intraperitoneal) e submetidos à introdução de cateter (PE 50) na veia jugular interna direita para infusão de soluções e na artéria carótida comum direita (PE50) para obter acesso ao ventrículo esquerdo para registro da pressão intraventricular. O sistema de aquisição de dados foi o mesmo descrito anteriormente (transdutor de pressão - *TRA021, LSI, Letica, Scientific Instruments; Powerlab 4 sp, modelo sp 4922, Adinstruments; Bridge Amp, modelo ml 110*, taxa de amostragem: 2 KHz). A resposta pressórica do ventrículo esquerdo a uma sobrecarga de volume foi feita através da infusão contínua (Bomba INSIGHT, BI 2000) de solução salina (NaCl 0,9%) na velocidade de $0,7 \text{ ml min}^{-1}$ para cada 210g rato durante 3 minutos com registro contínuo da pressão no ventrículo esquerdo. Foram obtidos os valores de pico da pressão ventricular sistólica e diastólica final na condição basal (antes da infusão), ao final da infusão (3 min) e 5 minutos após o término da infusão (registro de recuperação). Exemplos de registros da função ventricular estão ilustrados na figura 3.

Em seguida os animais foram submetidos à eutanásia sob sedação profunda pela infusão de solução 3 M de cloreto de potássio na cânula venosa. Após a parada cardíaca, o tórax foi aberto, o coração removido e lavado em solução salina, e o excesso de líquido absorvido em filtro de papel. O peso úmido total do coração foi determinado em uma balança analítica com precisão de 0,01g (Marte, AL500).

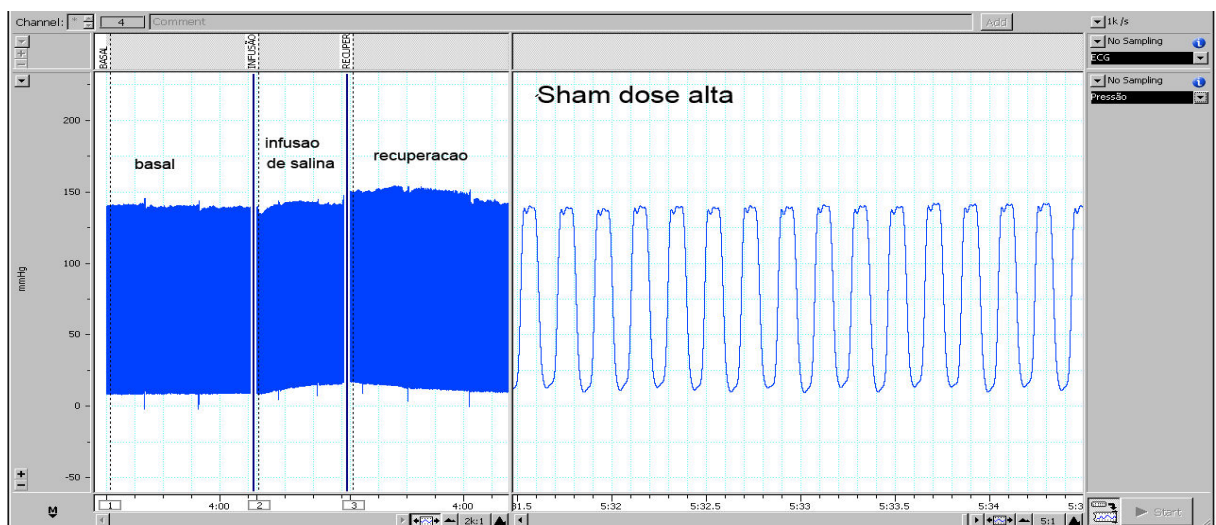
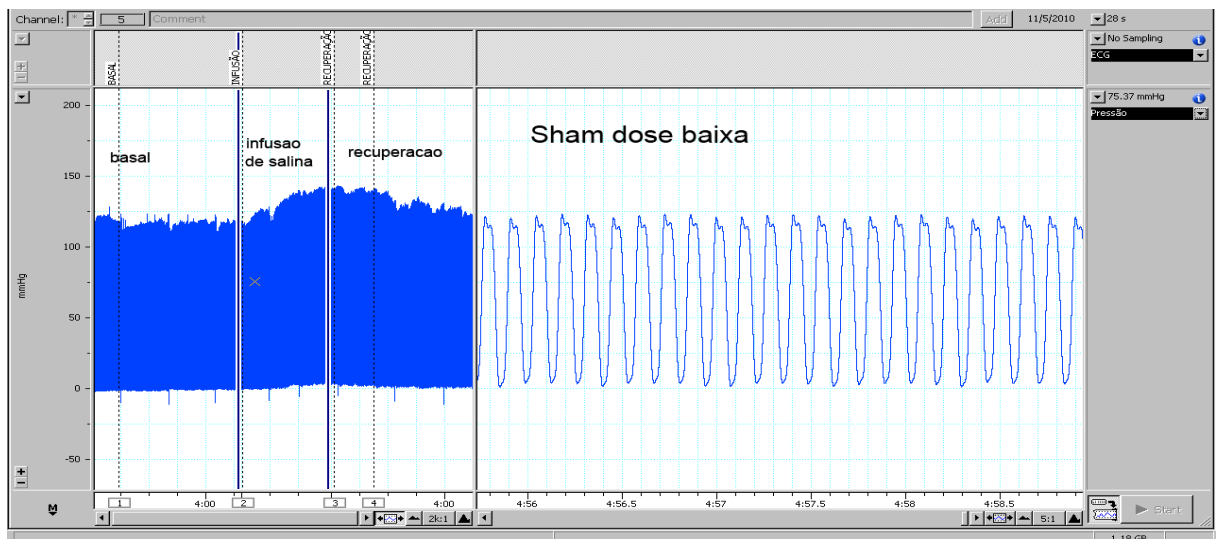
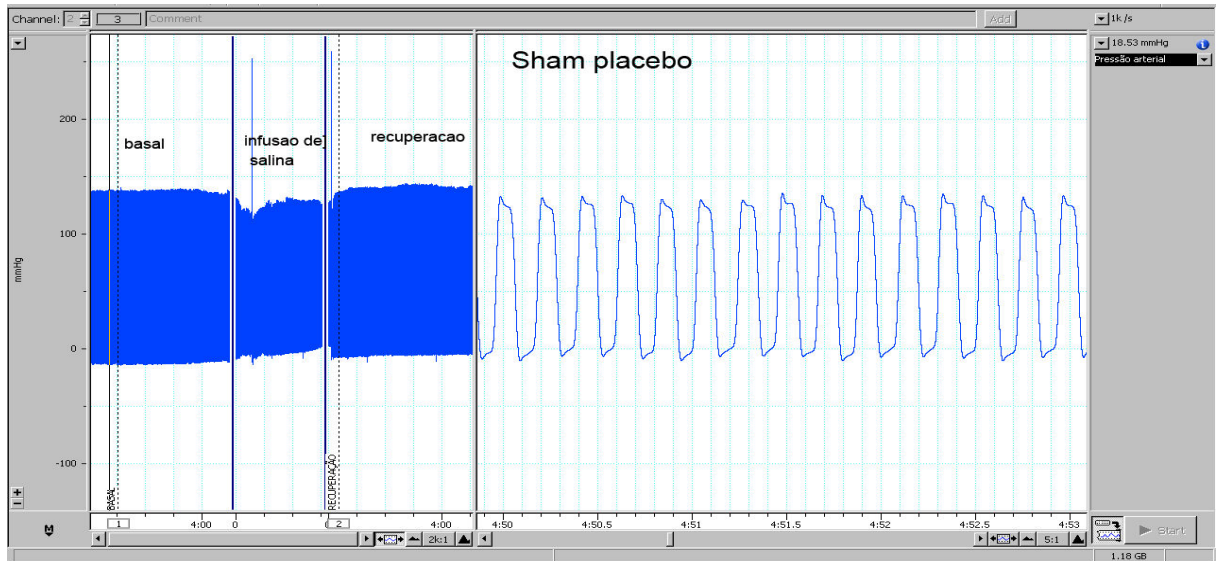


Figura 3 – Registros da pressão ventricular esquerda obtido nos ratos anestesiados em condição basal, sobrecarga de salina e recuperação.

Continua

Continuação

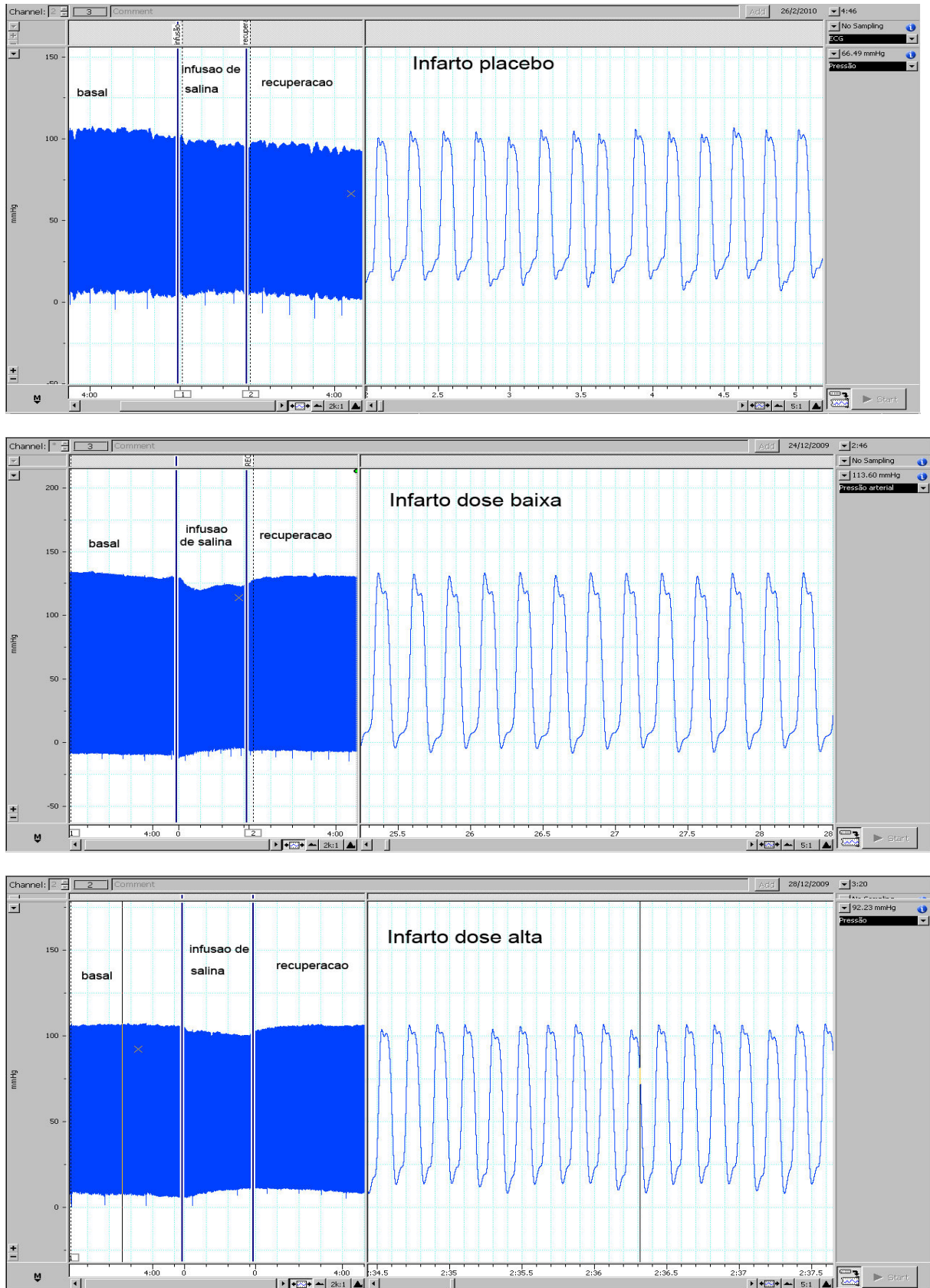


Figura 3 – Registros da pressão ventricular esquerda obtido nos ratos anestesiados em condição basal, sobrecarga de salina e recuperação.

2.5 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DO INFARTO

Após a pesagem, os corações foram envolvidos em filme plástico e armazenados durante 30 minutos a -12°C para facilitar os cortes do tecido. Em seguida cada coração foi seccionado transversalmente em quatro segmentos de espessura similar desde o ápice até a base. Os fragmentos foram imersos em solução com cloreto de trifeniltetrazólio (10%) a 37°C por 10 minutos e, em seguida, submersos em formalina tamponada (10%) por 20 minutos. Esse procedimento permite aumentar o contraste entre o miocárdio intacto e a cicatriz do infarto. As imagens das secções foram digitalizadas (HP scanjet 2400) e analisadas por planimetria com o software Image J 1.40g (figura 4). O tamanho do infarto, expresso em porcentagem, foi calculado dividindo-se a soma da fração da circunferência das regiões infartadas de todas as secções pela soma da fração da circunferência de todos os fragmentos do ventrículo esquerdo (incluindo aquelas sem cicatriz de infarto) e multiplicando por 100 (49). Somente os infartos com tamanho maior ou igual a 25% foram incluídos no estudo. O peso relativo foi calculado dividindo o peso cardíaco (em mg) pelo peso corporal (g).

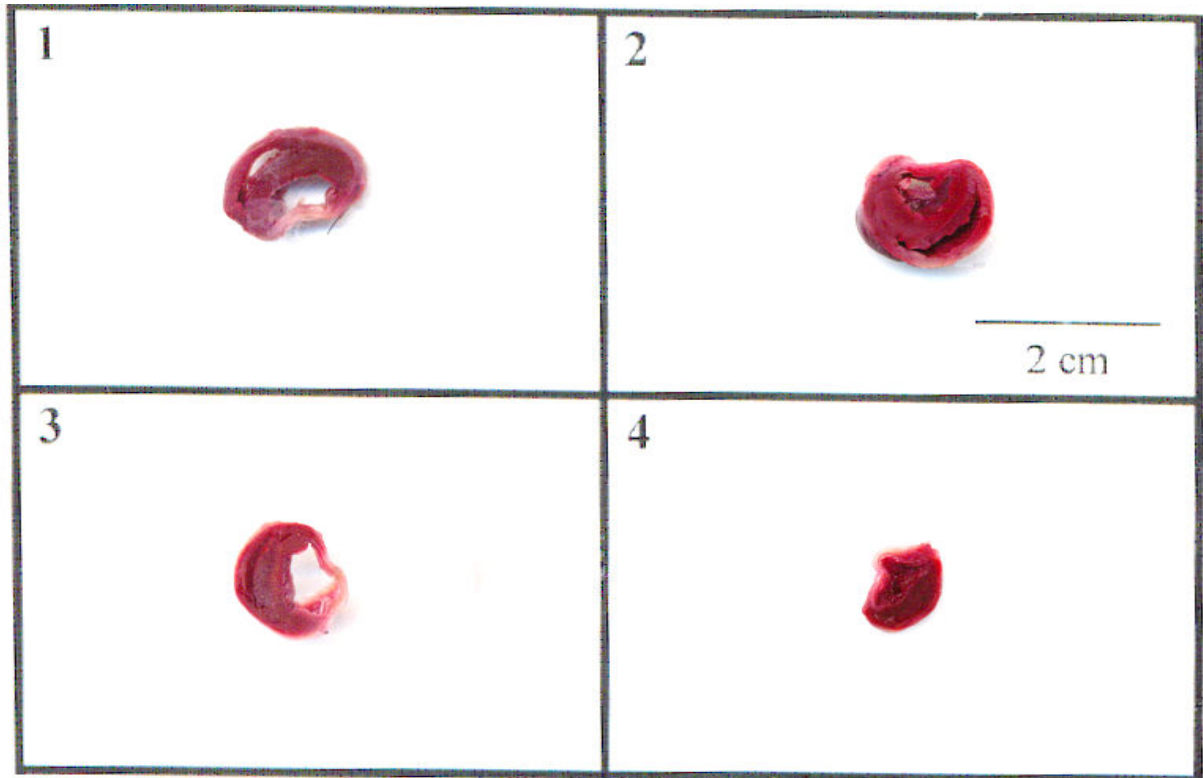


Figura 4 – Imagem obtida de um coração infartado após coloração com trifeníltetrazólio. A região infartada aparece em branco, enquanto que a região não infartada aparece em vermelho.

2.6 ANÁLISES DE VARIABILIDADE DE PRESSÃO ARTERIAL E DE FREQUÊNCIA CARDÍACA

A partir de registros basais contínuos de pressão arterial e de ECG, com aproximadamente 30 minutos de duração, foram realizadas análises de VFC e de VPA no domínio do tempo e da frequência. As análises de VPA foram feitas pela série de pressão arterial sistólica e as análises de VFC pela série de intervalos R-R do ECG. Os registros foram inspecionados e batimentos ectópicos e artefatos foram removidos manualmente (50). As análises no domínio do tempo incluíram a variância da pressão sistólica e dos intervalos R-R. Nas análises no domínio da frequência, as séries temporais de intervalos R-R e de pressão sistólica foram divididas em

segmentos contínuos de 300 batimentos com sobreposição de 50%. Após calcular a média dos valores e a variância de cada segmento, foi realizada análise espectral pelo método autorregressivo com ordem de modelo fixa em 16 (51). O método consiste em estimar os coeficientes de um sistema linear por meio do método de *Yule-Walker*, usando o algoritmo recursivo de *Levinson-Durbin* para resolução das equações, a partir dos segmentos estacionários das séries temporais. O sistema linear é então empregado para determinar a densidade espectral de potência (DEP) de cada segmento. A DEP é decomposta em componentes fundamentais (raízes complexo-conjugadas do sistema linear), que constituem os componentes oscilatórios, classificados da seguinte forma: frequência muito baixa (VLF, 0.01–0.20 Hz, do inglês *very low frequency*) baixa frequência (LF, 0.20–0.75 Hz, do inglês *low frequency*) e alta frequência (HF, 0.75–2.50 Hz, do inglês *high frequency*) (52). Os valores de cada componente foram expressos em unidades absolutas e a normalização foi feita pela divisão da energia de um determinado componente espectral pela energia total menos a energia de VLF e multiplicando o resultado por 100. A relação LF/HF foi calculada pela divisão do componente LF pelo HF em unidades normalizadas (6;25). O software usado nas análises foi programado de modo personalizado em MATLAB (sob orientação do prof. Dr. Rodrigo Varejão Andreão, do Instituto Federal do Espírito Santo). Todas as equações das análises no domínio da frequência usadas neste trabalho, bem como as informações utilizadas na programação do algoritmo recursivo encontram-se detalhadamente descritas por Kay e Marple, 1981 (53).

2.7 BLOQUEIO DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMICO PARA VALIDAÇÃO DO SOFTWARE DE ANÁLISE ESPECTRAL

Um protocolo adicional foi realizado para testar a capacidade do *software* de análise detectar variações temporais e espectrais decorrentes de intervenções farmacológicas. Para isso, dez ratos *Wistar* foram obtidos do biotério da Universidade Federal do Espírito Santo, com peso entre 200-300g. Os animais foram anestesiados (90 mg Kg⁻¹ peso corporal de quetamina e 10 mg Kg⁻¹ peso corporal de xilazina) e submetidos ao cateterismo da artéria e da veia femoral esquerda. A VFC e a VPA foram analisadas nesse protocolo experimental pelas séries de intervalos de pulso e de pressão arterial sistólica. O experimento foi realizado em dois dias, iniciado vinte e quatro horas após a anestesia para cateterismo. No primeiro dia, foi avaliado o efeito da modulação vagal, e no segundo, a influência simpática sobre a frequência cardíaca. Para isso, 4 mg/kg de peso corporal de metilbrometo de atropina (Sigma Chemical Co., USA) e 8 mg/kg de peso corporal de propranolol (Sigma Chemical Co., USA) foram injetados em solução por via intravenosa. No primeiro dia de estudo, a frequência cardíaca e a pressão arterial foram registradas em condições basais (10 min), durante o bloqueio farmacológico parassimpático (10 min), realizado pela administração *in bolus* de atropina, seguido pelo bloqueio duplo (10 min), por meio de uma injeção adicional de propranolol. A frequência cardíaca sob duplo bloqueio foi considerada como sendo a frequência cardíaca intrínseca (54). No segundo dia de protocolo, a influência simpática sobre a frequência cardíaca foi avaliada pela injeção de propranolol, seguida por administração de atropina (10 min após) para avaliar novamente a frequência cardíaca intrínseca, com o bloqueio duplo. Em cada dia de estudo os registros foram

feitos num período basal (10 min) e 10min depois de cada infusão venosa e o efeito máximo alcançado foi determinado entre os períodos de 4 minutos e 30 segundos e 6 minutos e 30 segundos após cada infusão venosa.

2.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de *Shapiro-Wilk* e a homogeneidade das variâncias pelo teste de *Levene*. As variáveis que não apresentaram distribuição normal ou que as variâncias não foram homogêneas entre os grupos sofreram transformação logarítmica (os componentes espectrais absolutos de VPA no bloqueio autonômico) ou foram transformados em postos (peso corporal final, frequência cardíaca nos ratos acordados e anestesiados, pressões ventriculares diastólicas (inicial e final), DP/DT^+ , variáveis espectrais normalizadas de VFC no bloqueio autonômico, variáveis espectrais absolutas e normalizadas de VPA após o tratamento com carvedilol, variáveis espectrais absolutas e normalizadas de VFC após o tratamento com carvedilol e peso relativo do coração) antes das comparações. O peso corporal (inicial e final) e as variáveis hemodinâmicas avaliadas nos ratos acordados e sob anestesia durante o cateterismo cardíaco foram apresentados como média \pm desvio padrão e comparadas por análise de variância (ANOVA) de três vias, sendo considerados os seguintes fatores: presença ou não de infarto, tratamento com carvedilol ou placebo e dose de carvedilol alta ou baixa. As comparações múltiplas foram feitas pelo teste de Fisher LSD (diferença mínima significativa, do inglês *least significant difference*). O tamanho do infarto foi comparado por ANOVA de duas vias. As variáveis avaliadas no teste de sobrecarga de volume foram apresentadas como média \pm erro

padrão da média e comparadas por ANOVA duas vias para medidas repetidas (fatores: grupo de tratamento e condição de medida: basal, período de infusão ou período de recuperação) seguido por comparações múltiplas de Fisher. As variáveis do experimento de bloqueio autonômico foram expressas como média \pm erro padrão da média e comparadas por ANOVA duas vias para medidas repetidas, sendo um fator o período de medida (dia 1 ou 2) e o outro fator a condição de medida (basal, bloqueio simpático, vagal ou duplo). Em seguida, comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Fisher, considerando válidas apenas as comparações de bloqueio (simpático, vagal ou duplo) contra os valores basais. As variáveis das análises de VPA e VFC foram comparadas por ANOVA três vias seguidas por comparações múltiplas de Fisher, quando diferenças significantes foram encontradas. Somente as seguintes comparações foram levadas em consideração nas análises *pos-hoc* após ANOVA:

- sham placebo vs. sham dose baixa (£), para testar o efeito do tratamento com dose baixa de carvedilol;
- sham placebo vs. sham dose alta (¢), para testar o efeito do tratamento com dose alta de carvedilol;
- sham placebo vs. infarto placebo (*) para avaliar o efeito do IM;
- infarto placebo vs. infarto dose baixa, para testar o efeito do tratamento com dose baixa no IM (#).
- infarto placebo vs. infarto dose alta para testar o efeito do tratamento com dose alta no IM (§).

SPSS 15.0, Stata/SE 10.1, e Sigmastat 3.11 foram usados para realizar as comparações e elaborar os gráficos. A significância estatística foi estabelecida para $P < 0.05$.

3 RESULTADOS

3.1 PESO CORPORAL E TAMANHO DO INFARTO

O peso corporal inicial e final e o tamanho do infarto são mostrados nas figuras 5 e 6, respectivamente. Os ratos apresentaram valores semelhantes de peso corporal e o tratamento com carvedilol não afetou de maneira significativa o ganho de peso nos animais tratados.

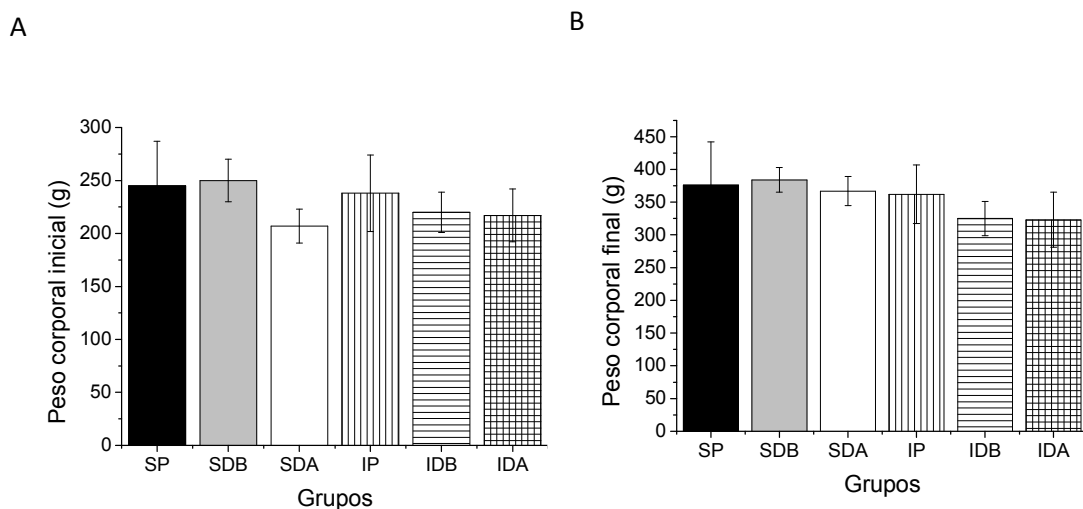


Figura 5. Peso corporal inicial, antes do início do tratamento (A) e final, após 30 dias de tratamento (B). SP - sham placebo (N=12), SDB – sham dose baixa (N=8), SDA – sham dose alta (N=9), IP – infarto placebo (N=13), IDB – infarto dose baixa (N=12), IDA – infarto dose alta (N=15). A e B - As barras indicam a média \pm desvio padrão. Comparações realizadas por ANOVA de 3 vias e *post hoc* de Fisher. Valores do peso corporal final foram transformados em postos antes das comparações. Não houve diferenças significativas entre grupos.

A distribuição randômica dos ratos infartados em diferentes grupos um dia após a ligadura arterial garantiu um tamanho de infarto semelhante entre os grupos (figura 6). O tratamento com carvedilol não alterou o tamanho do infarto.

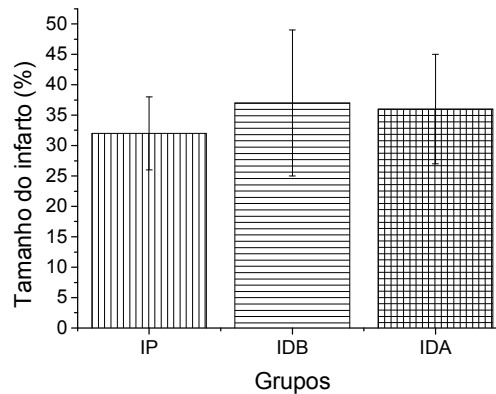


Figura 6. Tamanho do infarto em percentual da área infartada. IP – infarto placebo (N=13), IDB – infarto dose baixa (N=12), IDA – infarto dose alta (N=15). A - Dados \pm representam a média \pm desvio padrão. Comparações realizadas por ANOVA 2 vias. Não houve diferenças entre grupos.

3.2 RESULTADOS HEMODINÂMICOS

3.2.1 Pressão arterial acordado e frequência cardíaca

Os valores de pressão arterial sistólica, diastólica e média, e frequência cardíaca avaliados nos animais acordados e com livre movimentação na gaiola são mostrados na tabela 1. Um efeito de interação entre infarto e dose alta de carvedilol ($P < 0.02$) foi observado trinta dias após o infarto nas comparações de pressão arterial sistólica, diastólica e média. Ratos infartados tratados com dose alta apresentaram pressão arterial sistólica, diastólica e média menor do que os ratos infartados tratados com placebo. A frequência cardíaca, porém, foi semelhante entre os grupos e não sofreu influência do tratamento.

TABELA 1 – VARIÁVEIS HEMODINÂMICAS AVALIADAS DURANTE 30 MIN DE REGISTRO
CONTÍNUO NOS RATOS ACORDADOS

	SP (N=12)	SDB (N=7)	SDA (N=9)	IP (N=12)	IDB (N=12)	IDA (N=14)
PAS (mmHg)	123 ± 6	126 ± 5	129 ± 14	119 ± 10	116 ± 11	104 ± 12 §
PAD (mmHg)	91 ± 6	89 ± 4	93 ± 9	91 ± 7	84 ± 10	79 ± 10 §
PAM (mmHg)	106 ± 6	106 ± 5	109 ± 11	103 ± 9	98 ± 10	90 ± 11 §
FC (bpm)	359 ± 42	341 ± 36	340 ± 24	366 ± 58	355 ± 40	347 ± 26

Dados são: média ± desvio padrão. SP – sham placebo, SDB – sham dose baixa, SDA – sham dose alta, IP – infarto placebo, IDB – infarto dose baixa, IDA – infarto dose alta. P<0.05: (§) infarto placebo vs. infarto dose alta. As pressões arteriais, sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM), foram comparadas por ANOVA de 3 vias e *pos hoc* de Fisher. Os valores de frequência cardíaca foram transformados em postos antes das comparações.

3.2.2 Avaliação da função cardíaca

Após as medidas de pressão arterial nos ratos acordados, os animais foram anestesiados e submetidos a um cateterismo cardíaco para avaliação da função ventricular esquerda. Os resultados estão mostrados na tabela 2. O infarto alterou de modo significativo todas as variáveis hemodinâmicas avaliadas (pressão ventricular sistólica, diastólica, dP/dT^+ e dP/dT^-) exceto a frequência cardíaca. O tratamento com dose baixa de carvedilol, por outro lado, restaurou os níveis normais de pressão ventricular diastólica (inicial e final) nos animais infartados. O tratamento com a dose alta de carvedilol, apesar de ter preservado os valores normais de pressão diastólica inicial nos ratos infartados, não conseguiu manter em valores normais a pressão diastólica final de ventrículo esquerdo. Além disso, determinou queda adicional da pressão arterial além daquela já determinada pela presença do infarto.

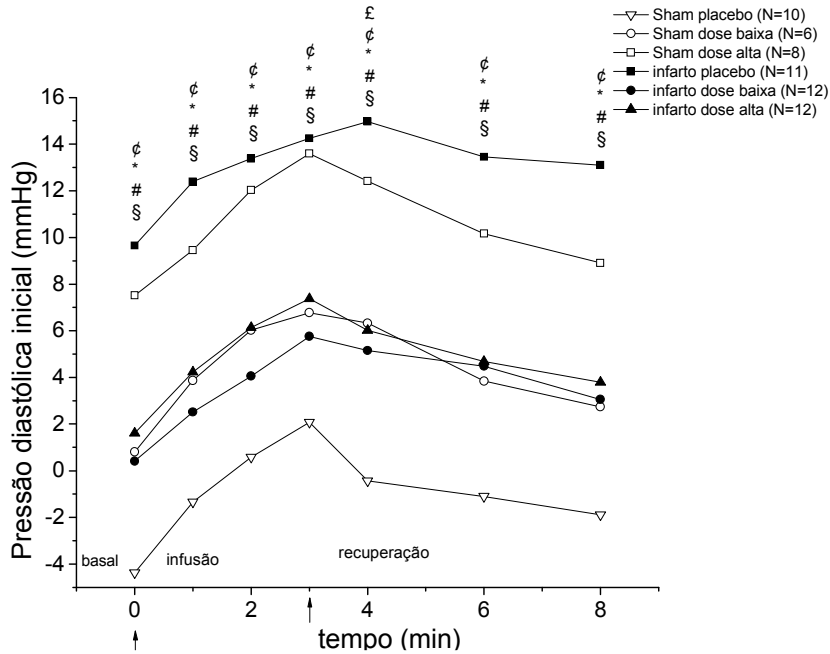
Após a avaliação hemodinâmica basal, foi determinado o comportamento da função ventricular esquerda na presença de sobrecarga de volume. O comportamento da pressão diastólica em resposta à infusão constante de solução salina (durante 3 minutos) está ilustrado na figura 7. Observou-se por efeito do infarto um deslocamento superior da curva de pressão diastólica inicial e final (infarto placebo) em comparação com ratos não infartados (sham placebo), indicando valores maiores de pressão diastólica, que permaneceram elevados durante todo o período de registro. Em contrapartida, o tratamento crônico com dose baixa de carvedilol restaurou totalmente a pressão normal no coração infartado, enquanto que o tratamento com dose alta melhorou parcialmente a função cardíaca no coração infartado, restaurando a pressão diastólica inicial normal, mas não a diastólica final (infarto dose alta) (figura 7- A e B). Surpreendentemente, houve também redução perceptível na função cardíaca dos ratos não infartados tratados com dose alta de carvedilol, demonstrado pelo deslocamento superior da curva de pressão diastólica inicial em comparação com a curva normal (sham placebo vs. sham dose alta, $P < 0.05$).

TABELA 2 – VARIÁVEIS HEMODINÂMICAS AVALIADAS NOS RATOS ANESTESIADOS EM CONDIÇÕES BASAIS

	Sham Placebo (N=12)	Sham Dose Baixa (N=7)	Sham Dose Alta (N=9)	Infarto Placebo (N=13)	Infarto Dose Baixa (N=12)	Infarto Dose Alta (N=14)
Pressão Ventricular Sistólica (mmHg)	132 ± 11	120 ± 9	136 ± 10	116 ± 16 *	114 ± 16	104 ± 11 §
PV Diastólica Inicial (mmHg)	-4 ± 5	1 ± 2	7 ± 3	9 ± 7 *	0 ± 5 #	1 ± 7 §
PV Diastólica Final (mmHg)	6 ± 5	5 ± 2	12 ± 3	18 ± 9 *	9 ± 6 #	12 ± 9
Frequência Cardíaca (bpm)	301 ± 68	305 ± 84	297 ± 25	283 ± 46	304 ± 58	321 ± 37
dP/dT ⁺ (mmHg/s)	5030 ± 430	4767 ± 452	5180 ± 548	3868 ± 1304 *	4323 ± 749	3662 ± 664
dP/dT ⁻ (mmHg/s)	-4184±582	-3839±436	-4100±395	-3071±443 *	-3426±562	-2922±620

Dados são: média ± desvio padrão; PV – pressão ventricular; dP/dT⁺ – velocidade máxima de contração ventricular; dP/dT⁻ – velocidade máxima de relaxamento ventricular. P<0.05: (*) sham placebo vs. infarto placebo; (§) infarto placebo vs. infarto dose alta. (#) infarto placebo vs. infarto dose baixa. Os dados foram comparados por ANOVA de 3 vias e pos hoc de Fisher. Pressões diastólica inicial e final, dP/dT⁺ e frequência cardíaca foram transformadas em postos antes das comparações.

A



B

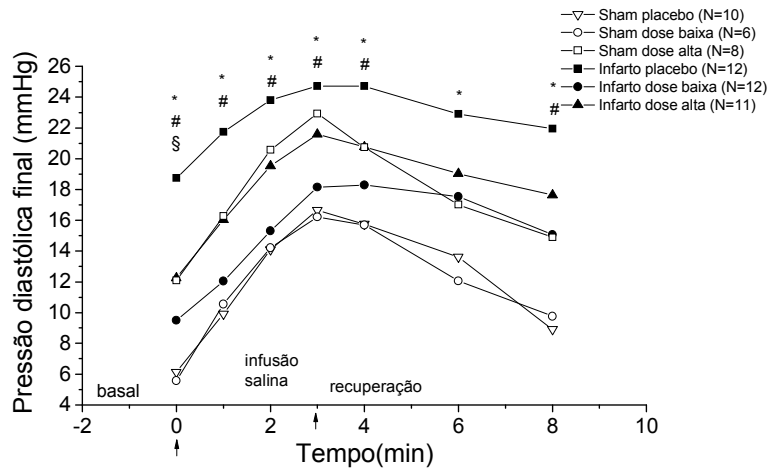


Figura 7. Teste de sobrecarga de salina. (A)- Pressão ventricular diastólica inicial. (B)- Pressão ventricular diastólica final. Dados representam a média. As setas no eixo das abscissas indicam o início e o término da infusão de salina. $P < 0.05$: (£) sham placebo vs. sham dose baixa; (¢) sham placebo vs. sham dose alta; (*) sham placebo vs. infarto placebo; (#) infarto placebo vs. sham dose baixa; (§) infarto placebo vs. infarto dose alta. Comparações realizadas por ANOVA 2 vias para medidas repetidas e *pos hoc* de Fisher.

3.3 BLOQUEIO AUTONÔMICO

Um protocolo experimental de bloqueio autonômico foi realizado para testar a capacidade do software em detectar variações nos componentes espectrais de VPA e VFC por meio de intervenções farmacológicas. A figura 8 ilustra a variação da frequência cardíaca de acordo com diferentes condições de medida: basal, bloqueio vagal (atropina), bloqueio simpático (propranolol), ou bloqueio duplo (atropina+propranolol) nos dois dias de experimento. No primeiro dia, uma elevação significativa ($P < 0,05$) na frequência cardíaca foi observada em decorrência do bloqueio vagal com atropina. Em seguida, uma queda parcial da frequência cardíaca, significativa ($P < 0,05$) em relação à condição de bloqueio vagal, ocorreu em consequência do bloqueio simpático com propranolol. Apesar da queda, a frequência permaneceu mais elevada do que no período basal com o bloqueio duplo, indicando que nesse ponto os ratos atingiram a frequência cardíaca intrínseca. No segundo dia de experimento, uma redução na frequência cardíaca foi observada após o bloqueio simpático com propranolol. Entretanto, a injeção de atropina (bloqueio duplo) não elevou significativamente a frequência cardíaca em relação ao período basal (variação ≈ 30 bpm).

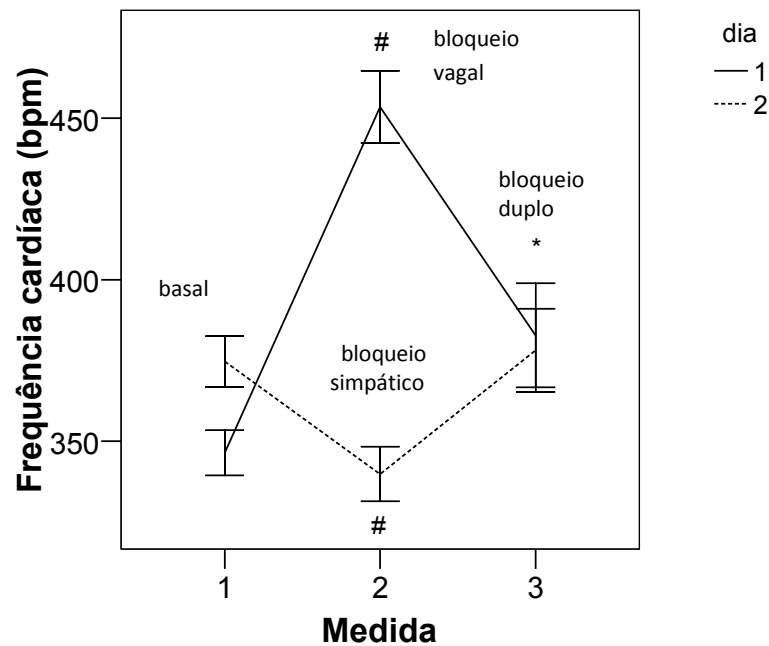


Figura 8. Variação da frequência cardíaca produzida por bloqueio autonômico em ratos acordados. Os valores representam a média \pm erro padrão da média. Medida 1 – período basal; medida 2 – bloqueio vagal no primeiro dia e bloqueio simpático no segundo dia; medida 3 – bloqueio duplo. # - $P < 0,05$ bloqueio vagal ou simpático vs. basal; * - $P < 0,05$ bloqueio duplo vs. basal observados no primeiro dia. Comparações realizadas por ANOVA de duas vias para medidas repetidas e comparações múltiplas realizadas pelo teste de Fisher (N=10).

Os componentes espectrais de VPA são apresentados na tabela 3 e figura 9. Após bloqueio muscarínico com atropina ocorreu aumento de todos os componentes espectrais os quais retornaram para valores mais baixos em relação à condição basal após o duplo bloqueio autonômico (tabela 3). Observa-se recuperação dos valores basais da VPA no reinício do protocolo experimental no segundo dia. Após o bloqueio simpático com propranolol, observou-se apenas redução no valor absoluto do componente LF. A variabilidade pressórica sob influência da frequência cardíaca intrínseca foi similar no primeiro e segundo dias do protocolo experimental.

TABELA 3 – VARIABILIDADE ESPECTRAL DA PRESSÃO ARTERIAL SOB DIFERENTES FORMAS DE BLOQUEIO AUTONÔMICO

1º Dia (N=10)	Basal	Bloqueio vagal	Bloqueio duplo
VLF (mmHg ²)	11,93 ± 2,66	88,17 ± 26,43 #	9,25 ± 5,23
LF (mmHg ²)	3,74 ± 1,26	39,89 ± 10,85 #	4,75 ± 3,86
HF (mmHg ²)	2,85 ± 0,55	17,09 ± 5,07 #	2,38 ± 1,49
2º Dia (N=10)	Basal	Bloqueio simpático	Bloqueio duplo
VLF (mmHg ²)	13,52 ± 2,71	27,79 ± 17,81	9,31 ± 2,68
LF (mmHg ²)	4,97 ± 1,21	2,46 ± 1,18 #	1,67 ± 0,48
HF (mmHg ²)	3,02 ± 0,88	2,67 ± 1,08	1,65 ± 0,69

Dados são: média ± erro padrão da média. P<0.05: # basal vs. bloqueio vagal ou simpático; *- basal vs. bloqueio duplo. Dados foram comparados por ANOVA 2 vias para medidas repetidas e *pos hoc* de Fisher.

Os componentes normalizados do espectro (LF e HF) são mostrados na figura 9. No primeiro dia, a administração de atropina desencadeou um aumento significativo de LF (n.u.). Em seguida, a infusão de propranolol induziu uma queda significativa de LF (n.u.), em comparação com a elevação causada pela atropina. No segundo dia, o efeito betabloqueador do propranolol sobre a FC foi acompanhado de reduções significativas nos valores normalizados de LF. A infusão de atropina promoveu uma discreta elevação dos valores normalizados de LF, mas estes permaneceram significativamente abaixo do basal.

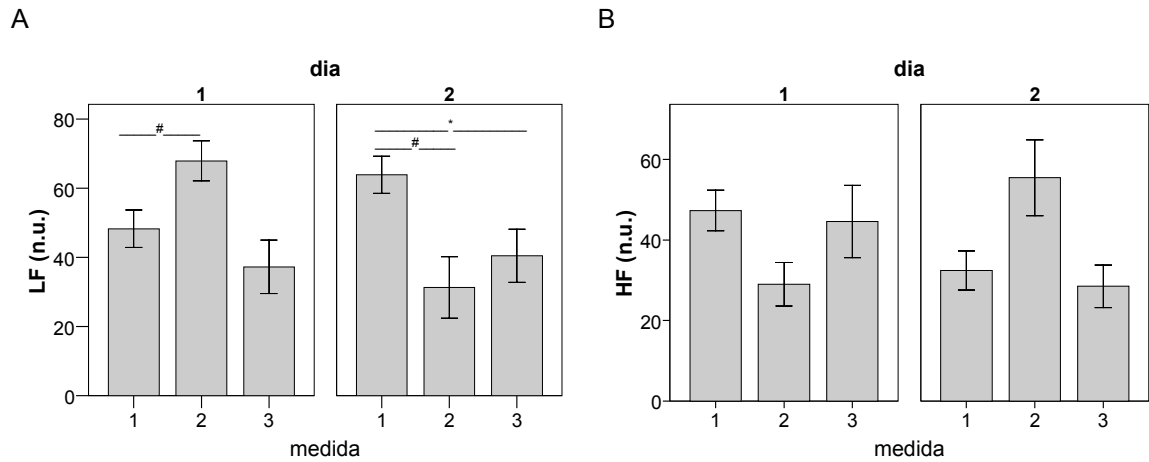


Figura 9. Variáveis espectrais de variabilidade de pressão arterial do bloqueio autônomo representadas em unidades normalizadas (n.u.). A- LF; B- HF. Valores são: média \pm erro padrão da média. 1 – medida basal; 2 – bloqueio vagal no primeiro dia ou bloqueio simpático no segundo dia. 3- bloqueio duplo. $P < 0.05$: (#) basal vs. bloqueio vagal ou simpático; (*) basal vs. bloqueio duplo. Comparações realizadas por ANOVA 2 vias para medidas repetidas e *post hoc* de Fisher (N=10).

As variáveis espectrais geradas nas análises de VFC são mostradas na tabela 4 e figura 10. As variações dos valores absolutos (tabela 4) durante o bloqueio farmacológico foram muito discretas e não alcançaram significância ($P < 0.05$).

TABELA 4 – VARIABILIDADE ESPECTRAL DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM DIFERENTES FASES DO BLOQUEIO AUTONÔMICO

Dia 1 (N=10)	Basal	Bloqueio vagal	Bloqueio duplo
VLF (ms ²)	18,25 ± 5,40	175,57 ± 128,30	19,95 ± 14,38
LF (ms ²)	1,10 ± 0,52	45,72 ± 33,46	5,17 ± 4,91
HF (ms ²)	14,45 ± 3,86	129,66 ± 94,86	14,78 ± 9,48
Dia 2 (N=10)	Basal	Bloqueio simpático	Bloqueio duplo
VLF (ms ²)	42,99 ± 28,20	107,65 ± 91,35	25,28 ± 17,46
LF (ms ²)	9,84 ± 8,15	49,13 ± 46,62	9,47 ± 9,16
HF (ms ²)	31,67 ± 20,24	53,83 ± 40,12	15,80 ± 8,42

Dados são: média ± erro padrão da média. Os dados foram transformados em postos e comparados por ANOVA 2 vias para medidas repetidas. As análises de VFC no experimento do bloqueio autonômico foram feitas a partir do intervalo de pulso sistólico.

A figura 10 mostra as variações nos componentes espectrais normalizados durante o bloqueio farmacológico do sistema nervoso autônomo. As tendências observadas foram coerentes com os bloqueios realizados. Entretanto, somente o componente HF foi significativamente modificado no primeiro dia após o bloqueio vagal e duplo.

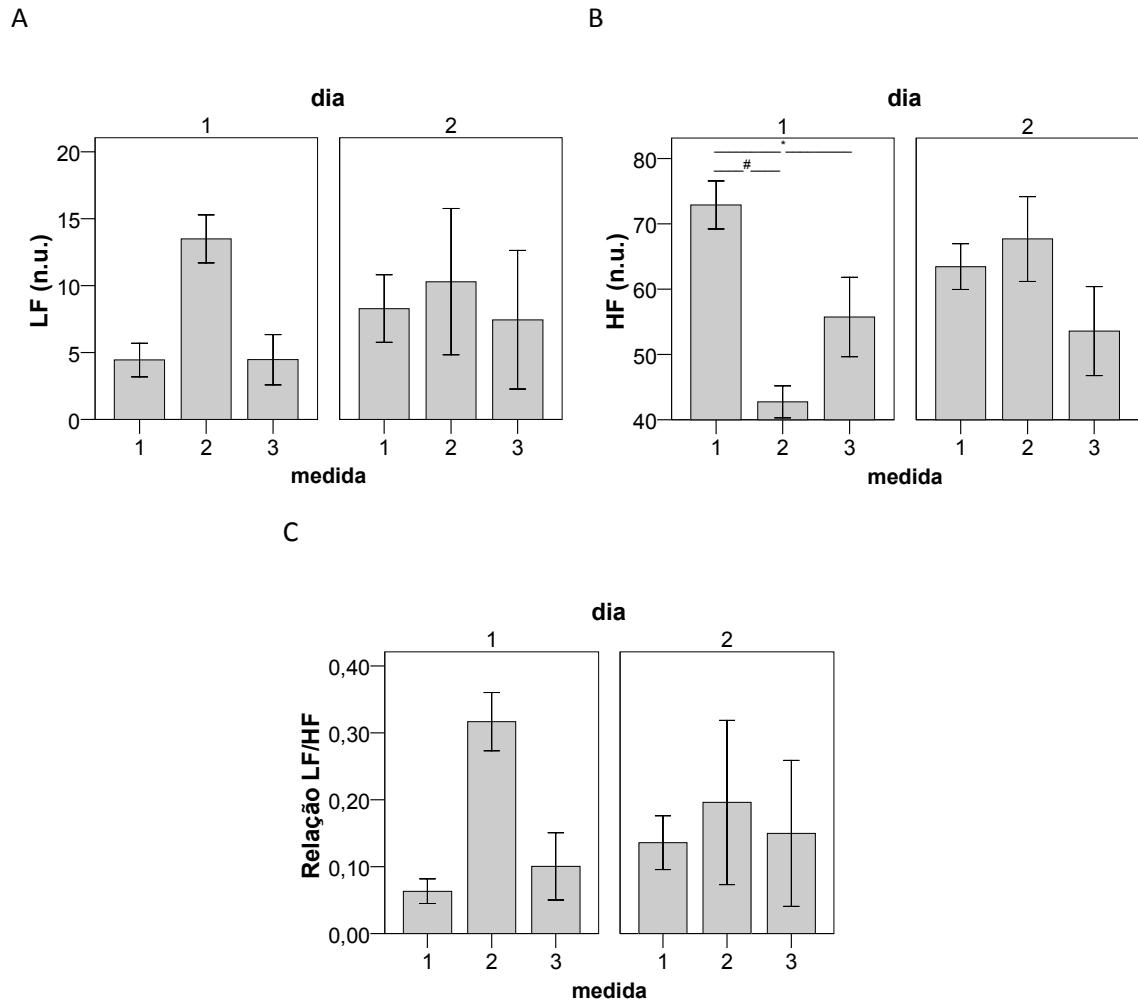


Figura 10. Dados são: média \pm erro padrão da média. Variáveis espectrais normalizadas de variabilidade de frequência cardíaca: LF (A) e HF (B), representadas em unidades normalizadas (n.u.), e relação LF/HF (C), geradas no bloqueio autônomo. Medidas: 1 – medida basal; 2 – bloqueio vagal no primeiro dia e bloqueio simpático no segundo dia. 3- bloqueio duplo. $P < 0.05$: # basal vs. bloqueio vagal; * basal vs. bloqueio duplo. Os dados foram transformados em postos e comparados por ANOVA 2 vias para medidas repetidas, seguidos por comparações múltiplas de Fisher (N=10).

3.4 ANÁLISES DE VARIABILIDADE DE PRESSÃO ARTERIAL E DE FREQUÊNCIA CARDÍACA - INFLUÊNCIA DO INFARTO E DO TRATAMENTO COM CARVEDILOL

As análises de VPA, feitas a partir das séries de pressão sistólica, são mostradas na tabela 5. Tendências para redução na variância da pressão sistólica e nos componentes espectrais VLF e LF absolutos foram observadas nos animais infartados tratados com placebo. Essas tendências não foram influenciadas pelo tratamento com dose baixa de carvedilol nos ratos infartados. Por outro lado, o tratamento com dose alta de carvedilol aumentou as tendências promovidas pelo IM. O componente HF absoluto, em contrapartida tendeu a aumentar com o IM e não foi influenciado significativamente pelo tratamento com carvedilol.

TABELA 5 – ANÁLISE TEMPORAL E ESPECTRAL DE VARIABILIDADE DE PRESSÃO ARTERIAL APÓS TRATAMENTO COM CARVEDILOL

	SP (N=11)	SDB (N=8)	SDA (N=9)	IP (N=10)	IDB (N=12)	IDA (N=15)
Variância da Pressão						
Sistólica (mmHg ²)	19,42 ± 12,21	27,00 ± 15,81	23,74 ± 15,34	13,02 ± 8,30	13,69 ± 4,88	10,91 5,14
VLF (mmHg ²)	11,73 ± 8,66	16,99 ± 9,20	15,22 ± 10,75	6,96 ± 6,14	7,20 ± 2,64	5,02 ± 2,92
LF (mmHg ²)	4,04 ± 3,53	5,75 ± 6,42	5,31 ± 3,78	1,68 ± 1,74	1,78 ± 1,06	1,17 ± 1,39
HF (mmHg ²)	1,87 ± 1,21	2,46 ± 1,35	1,82 ± 1,35	2,87 ± 1,80	3,01 ± 1,68	2,47 ± 1,10

Dados são: média ± desvio padrão. SP – sham placebo; SDB – sham dose baixa; SDA – sham dose alta; IP- infarto placebo; IDB- infarto dose baixa; IDA – infarto dose alta. Dados foram comparados por ANOVA 3 vias.

A figura 11 ilustra os componentes espectrais LF e HF normalizados de VPA. Uma redução no componente LF foi observada nos animais infartados. O tratamento com carvedilol não impediu a alteração desse componente. Uma tendência para aumento no componente HF normalizado foi observada nos animais infartados sem, contudo atingir valores significativos.

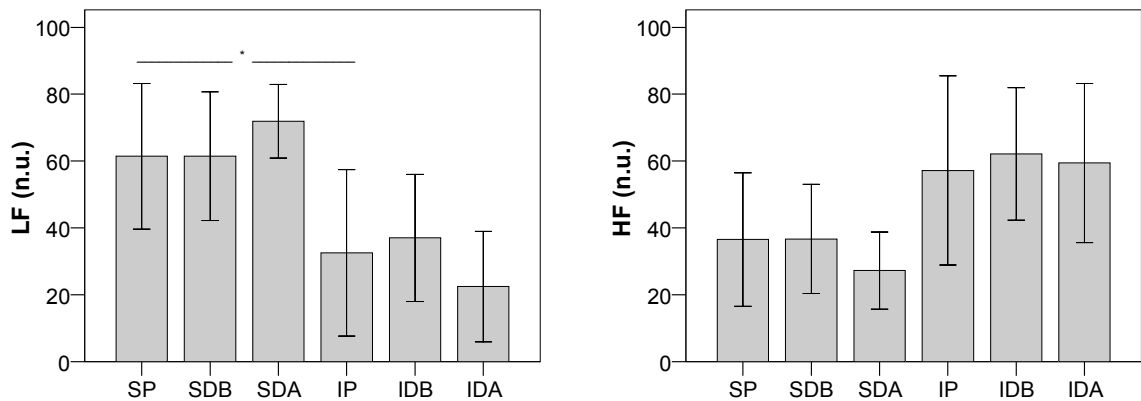


Figura 11. Dados são: média \pm desvio padrão. Variáveis espectrais de variabilidade de pressão arterial, representadas em unidades normalizadas (n.u.), após tratamento com carvedilol. SP – sham placebo (N=11); SDB – sham dose baixa (N=8); SDA – sham dose alta (N=9); IP- infarto placebo (N=10); IDB – infarto dose baixa (N=12); IDA – infarto dose alta (N=15).* P<0,05: sham placebo vs. infarto placebo. Comparações realizadas por ANOVA 3 vias e *pos hoc* de Fisher.

As análises de VFC feitas a partir da série de intervalos R-R do ECG estão apresentadas na tabela 6 e figura 12. A variância dos intervalos R-R e as variáveis espectrais absolutas não foram diferentes entre grupos (tabela 6).

TABELA 6 - ANÁLISE TEMPORAL E ESPECTRAL DA VARIABILIDADE DE FREQUÊNCIA
CARDÍACA APÓS TRATAMENTO COM CARVEDILOL

	SP	SDB	SDA	IP	IDB	IDA
	(N=10)	(N=8)	(N=9)	(N=10)	(N=9)	(N=14)
Variância R-R (ms ²)	20,88 ± 12,13	39,95 ± 24,88	23,58 ± 18,07	29,85 ± 25,20	49,64 ± 32,58	30,90 ± 33,00
VLf (ms ²)	9,38 ± 5,26	20,16 ± 15,48	12,42 ± 11,13	12,80 ± 9,84	23,81 ± 16,64	13,14 ± 13,83
LF (ms ²)	1,58 ± 1,44	2,85 ± 1,88	1,56 ± 1,23	2,06 ± 1,72	3,92 ± 4,09	1,87 ± 2,20
HF (ms ²)	4,68 ± 3,04	8,98 ± 7,18	5,23 ± 4,98	8,07 ± 7,68	14,68 ± 11,64	9,91 ± 11,65

Dados são: média e desvio padrão. SP – sham placebo; SDB – sham dose baixa, SDA- sham dose alta; IP – infarto placebo; IDB – infarto dose baixa; IDA – infarto dose alta. Comparações feitas por ANOVA 3 vias. Dados foram transformados em postos antes das comparações.

A figura 12 ilustra as variáveis espectrais normalizadas de VFC. Da mesma forma que as variáveis absolutas, as variáveis normalizadas também não foram influenciadas nem pelo IM, nem pelo tratamento com carvedilol (figura 12). Entretanto, uma tendência discreta para redução na modulação parassimpática (redução do componente HF) foi observada nos ratos infartados tratados com placebo que, todavia, não atingiu os níveis de significância estabelecidos ($P > 0.05$).

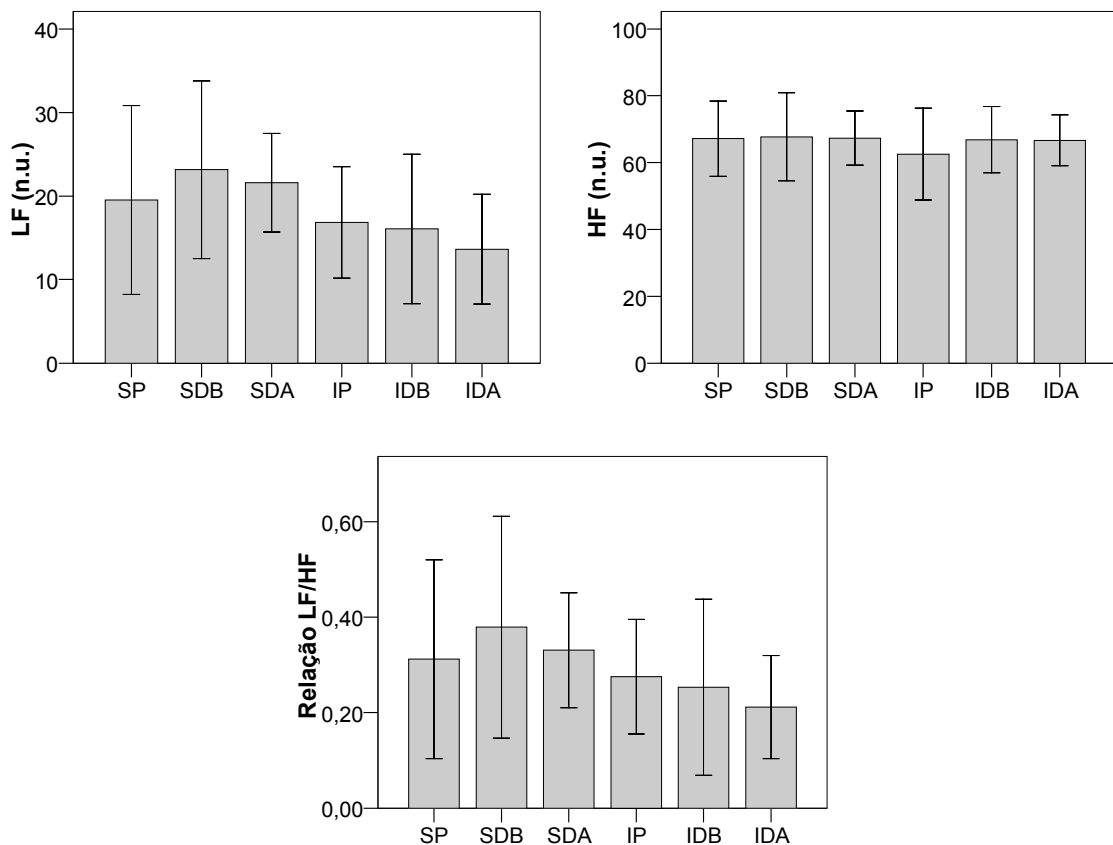


Figura 12. Dados são: média \pm desvio padrão. Variáveis espectrais de variabilidade de frequência cardíaca, representadas em unidades normalizadas (n.u.), e a relação LF/HF, após tratamento com carvedilol. SP – sham placebo (N=10); SDB – sham dose baixa (N=8); SDA – sham dose alta (N=9); IP- infarto placebo (N=10); IDB – infarto dose baixa (N=9); IDA – infarto dose alta (N=14). Comparações realizadas por ANOVA 3 vias. Dados foram transformados em postos antes das comparações.

3.5 PESO CARDÍACO

O peso cardíaco é ilustrado na figura 13. Os pesos absoluto e relativo do coração foram significativamente maiores nos ratos infartados (14A e 14B), mas o tratamento com dose baixa evitou a elevação dos pesos. Por outro lado, o tratamento com dose alta de carvedilol não foi capaz de alterar de modo significativo o peso dos corações infartados. O peso do coração corrigido pela massa corporal é

mostrado na figura 13 B e a mesma observação feita no peso absoluto, foi confirmada no peso relativo.

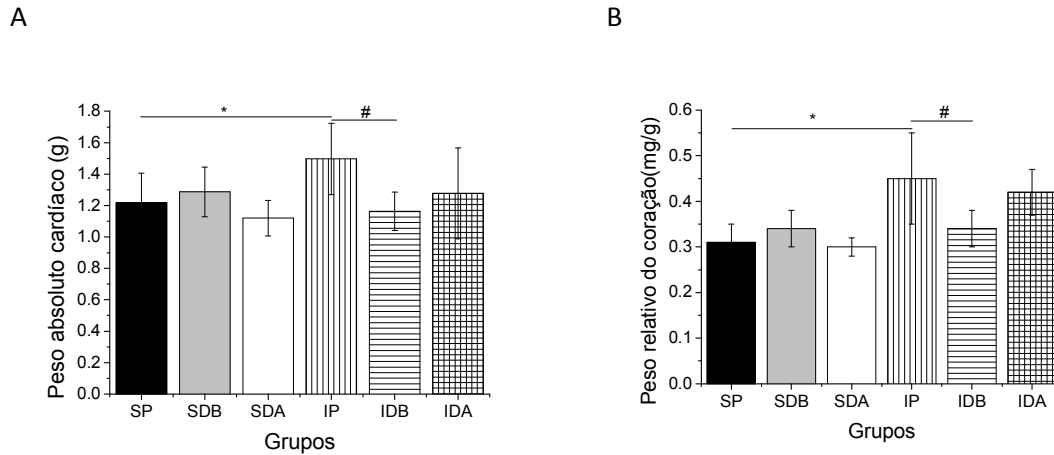


Figura 13 Peso cardíaco avaliado um mês após o infarto ou falso infarto (sham). A- peso absoluto; B- peso relativo (corrigido pela massa corporal). Dados representam a média \pm desvio padrão em A e B. Grupos: SP- sham placebo (N=12); SDB – sham dose baixa (N=8); SDA – sham dose alta (N=9); IP – infarto placebo (N=13); IDB – infarto dose baixa (N=12); IDA- infarto dose alta (N=15). * $P < 0,05$ sham placebo vs. infarto placebo; $P < 0.05$ infarto placebo e infarto dose baixa. Comparações feitas por ANOVA 3 vias e pos hoc de Fisher. Os valores peso relativo foram transformados em postos antes das comparações.

Por fim, o quadro 1 apresenta de modo resumido, as principais alterações encontradas no presente estudo decorrente do IM, assim como o efeito do tratamento com diferentes doses de carvedilol nos ratos infartados e não infartados.

	Efeitos promovidos pelo tratamento com carvedilol sem infarto		Alterações induzidas pelo infarto	Efeitos promovidos pelo tratamento com carvedilol no infarto	
	DB	DA		DB	DA
Peso corporal	SM	SM	SM	SM	SM
Hemodinâmica acordado					
PAS	SM	SM	SM	SM	↓
PAD	SM	SM	SM	SM	↓
PAM	SM	SM	SM	SM	↓
FC	SM	SM	SM	SM	SM
Hemodinâmica anestesiado					
PVS	SM	SM	↓	SM	↓
PVDI	SM	SM	↑	Evitou ↑	Evitou ↑
PVDF	SM	SM	↑	Evitou ↑	SM
FC	SM	SM	SM	SM	SM
dP/dT ⁺	SM	SM	↓	SM	SM
dP/dT ⁻	SM	SM	↑	SM	SM

Quadro 1. Efeitos do infarto e do tratamento com diferentes doses de carvedilol nos ratos infartados e não infartados. DB- Dose baixa; DA – dose alta; PAS- Pressão arterial sistólica; PAD – pressão arterial diastólica; PAM – pressão arterial média; FC – Frequência cardíaca; PVS – pressão ventricular sistólica; PVDI – pressão ventricular diastólica inicial; PVDF– pressão ventricular diastólica final; dP/dT⁺ – velocidade máxima de contração ventricular; dP/dT⁻ – velocidade máxima de relaxamento ventricular; ↓- Redução; ↑ - Aumento; SM – Sem modificação;

Continua

Continuação

		Efeitos promovidos pelo tratamento com carvedilol sem infarto		Alterações induzidas pelo infarto	Efeitos promovidos pelo tratamento com carvedilol no infarto	
		DB	DA		DB	DA
PVDI (TSS)						
Basal	SM	↑		↑	Evitou ↑	Evitou ↑
Infusão	SM	↑		↑	Evitou ↑	Evitou ↑
Recuperação	↑	↑		↑	Evitou ↑	Evitou ↑
PVDF (TSS)						
Basal	SM	SM		↑	Evitou ↑	Evitou ↑
Infusão	SM	SM		↑	Evitou ↑	SM
Recuperação	SM	SM		↑	Evitou ↑	SM
VPA	SM	SM		↓ LF normalizado	SM	SM
VFC	SM	SM		SM	SM	SM
Peso cardíaco						
Absoluto	SM	SM		↑	Evitou ↑	SM
Relativo	SM	SM		↑	Evitou ↑	SM

Quadro 1. Efeitos do infarto e do tratamento com diferentes doses de carvedilol nos ratos infartados e não infartados. TSS – teste de sobrecarga de salina; PVDI – pressão ventricular diastólica inicial; PVDF – pressão ventricular diastólica final; ↓- Redução; ↑ - Aumento; SM – Sem modificação;

4 DISCUSSÃO

Esse trabalho avaliou o efeito do tratamento crônico com diferentes doses de carvedilol em ratos com IM produzido por ligadura coronariana. De modo particular foram avaliados os efeitos produzidos sobre a variabilidade pressórica e VFC. O efeito do IM sobre a VPA foi avaliado em estudos anteriores (8;45;55), mas para o nosso conhecimento, esse foi o primeiro estudo experimental que investigou o efeito isolado do tratamento em longo prazo com diferentes doses de carvedilol sobre a VPA e VFC, iniciado imediatamente após o IM e continuado por um mês.

Trinta dias após a ligadura coronariana os ratos infartados estavam hemodinamicamente bem adaptados, com pressão diastólica, média e FC semelhante à de ratos não infartados quando as avaliações foram feitas nos ratos acordados. Contudo, tendências para redução na pressão sistólica foram observadas nos animais infartados. Por outro lado, o tratamento do IM com dose alta de carvedilol causou uma redução significativa na pressão arterial sistólica, diastólica e média (tabela 1). O desempenho mecânico do ventrículo esquerdo ficou bastante prejudicado nos animais infartados quanto comparados com ratos não infartados (tabela 2). Uma elevação na pressão ventricular diastólica inicial e final e alterações na dP/dT^+ e dP/dT^- foram observadas por efeito do IM. Adicionalmente, o teste de sobrecarga de volume confirmou níveis mais elevados de pressão ventricular diastólica nos ratos infartados durante todos os momentos testados. Ao contrário, o tratamento com dose alta e baixa de carvedilol evitou o aumento significativo na pressão diastólica (inicial), mas somente o tratamento com dose baixa evitou a elevação na pressão diastólica final confirmando os mesmos resultados observados anteriormente (48). As doses de carvedilol usadas no trabalho de Watanabe et al.

(48) foram idênticas àsquelas usadas no nosso estudo. Todavia, nós usamos um modelo experimental de infarto do miocárdio e não de insuficiência cardíaca induzida por processo autoimune.

O efeito do infarto sobre a VPA foi avaliado clinicamente em período agudo (3 – 5 dias) pós-infarto por Kardos et al. (45). Foi observada uma redução significativa nos componentes LF e HF e na energia total do espectro nos indivíduos infartados em comparação com os controles. A hipótese levantada pelos autores foi a de que a diminuição na VPA poderia estar relacionada com alterações no débito cardíaco causado pela redução da complacência do ventrículo esquerdo. No entanto, até hoje, poucos estudos avaliaram em condições experimentais o efeito isolado do infarto sobre a VPA, o que permite quantificar o efeito do IM e de diferentes protocolos de tratamentos. Um deles (8) investigou o efeito do IM sobre os índices espectrais de VPA 90 dias após a ligadura arterial, no qual se observou uma elevação no componente LF (absoluto), que os autores atribuíram a um aumento da modulação simpática, sem alteração de HF. Por outro lado, outro estudo (56) relatou uma queda do componente LF de VPA associada com uma perda significativa da sensibilidade barorreflexa nos ratos infartados. Nossos resultados concordam principalmente com os de Januário (56) confirmando uma redução no componente LF normalizado de VPA nos ratos infartados em comparação com os ratos não infartados. Entretanto, o tratamento com carvedilol não evitou essa alteração. Sabe-se que o componente LF de VPA coincide com as ondas lentas de pressão arterial (ondas de Mayer) e está relacionado com a modulação simpática vascular (9). As alterações hemodinâmicas observadas em nossos resultados, com aumento da pressão diastólica acompanhada da alteração das dP/dTs (positiva e negativa) nos ratos infartados, indicam um quadro de insuficiência cardíaca. Como já está bem

estabelecido na literatura, o aumento da atividade simpática é característica da insuficiência cardíaca. Já foi descrito anteriormente que redução no componente oscilatório LF pode estar associada com o excesso de atividade simpática (57), decorrente provavelmente da perda de sensibilidade dos receptores adrenérgicos ao neurotransmissor, modificação nas vias de sinalização pós-receptores, ou saturação da descarga simpática nos nervos periféricos. Também foi observado no presente trabalho uma tendência para aumento do componente HF (absoluto e normalizado) de VPA. Uma vez que esse componente está intimamente relacionado com a respiração, as tendências observadas para aumento podem estar associadas com ativação de quimiorreceptores periféricos, como previamente descrito na insuficiência cardíaca (58). A hiperexcitação quimiorreceptora provocada por hipoxemia e a queda de perfusão nos corpos aórticos e carotídeos desencadeiam uma resposta hiperventilatória e estimulação vasomotora simpática, associada com uma queda na sensibilidade barorreflexa cardíaca e arterial (58).

Em conformidade com nossos resultados, uma alteração semelhante na VPA foi observada na insuficiência cardíaca congestiva (59). Pacientes insuficientes, quando comparados a controles saudáveis, tiveram uma supressão no componente espectral LF observada em repouso, mas também em resposta ao *tilt* e exercício. O reaparecimento da energia de LF foi observado durante a recuperação pós-exercício. Em nosso estudo nós não testamos a VPA de ratos infartados sob a influência de manobras simpático-excitatórias. É possível que as respostas cardiovasculares diante de um estímulo estressor possam também estar alteradas cronicamente após o IM. Essa hipótese precisa ser testada.

Outro estudo (60) avaliou a VPA em curto prazo na insuficiência cardíaca crônica. Os pacientes com insuficiência tiveram uma VPA menor do que os

controles, relacionada com uma disfunção ventricular esquerda, que permitia identificar aqueles com um risco elevado de morte. Uma diminuição na VPA foi também observada em pacientes com insuficiência cardíaca crônica, secundária a doença arterial coronariana (61).

O efeito crônico do IM sobre a VFC foi descrito por Mostarda et al. (8). Noventa dias após o infarto, observou-se uma redução da energia dos componentes absolutos (LF e HF). Todavia, nos componentes normalizados, verificou-se queda de LF e aumento de HF e, conseqüentemente, queda da relação LF/HF. Embora pareça contraditória a redução no componente espectral LF, relacionado com a modulação predominantemente simpática (25), estudos anteriores (57) confirmam a queda de LF na insuficiência cardíaca grave que parece estar relacionada com uma desnervação simpática funcional. Por outro lado, nossos resultados mostraram tendências para uma redução muito discreta da modulação vagal nos ratos infartados sem tratamento, mas que não alcançaram os níveis de significância estabelecidos.

O tratamento com carvedilol tem mostrado inúmeros benefícios em portadores de insuficiência cardíaca, tais como melhora dos sintomas e da qualidade de vida e aumento da tolerância ao esforço físico (62). Do ponto de vista funcional, tem-se observado melhora da função cardíaca, da VFC e VPA, aumenta a sensibilidade do barorreflexo (34;35;63), reduz fibrose cardíaca e tem efeitos antioxidantes e antiproliferativos que talvez estejam envolvidos com o efeito antiapoptótico após lesão miocárdica (48;64-68).

As doses de tratamento usadas no presente estudo seguiram as informações de um estudo prévio (48). Em conformidade com resultados anteriores (48) nossas

comparações do efeito das diferentes doses de carvedilol revelaram que o tratamento com dose baixa de carvedilol apresentou resultados melhores do que o tratamento com dose alta. O tratamento com dose alta ou exacerbou os prejuízos funcionais causados pelo IM (na pressão arterial sistólica, diastólica e média e na pressão ventricular sistólica), ou não melhorou de forma tão eficiente como o tratamento com dose baixa, os demais parâmetros alterados pelo IM (pressão ventricular diastólica final e peso cardíaco). Considerando que a dose alta utilizada no presente estudo é consideravelmente maior do que as que são usadas nos tratamentos clínicos, quando é feita a correção por superfície corporal, e que a dose alta não pode ser ajustada experimentalmente para o valor máximo tolerado, como se faz nos tratamentos em seres humanos, é possível especular que a falha do tratamento tenha ocorrido possivelmente por efeitos tóxicos da sobredose beta-bloqueadora. Os resultados mais notáveis do tratamento com carvedilol (dose baixa) foram observados sobre os parâmetros mais comprometidos pelo infarto, que foram as variáveis hemodinâmicas (avaliadas sob a influência de anestesia) e o peso cardíaco. É provável que o aparecimento de alterações funcionais mais evidentes, incluindo àquelas na VPA ou VFC, exijam, portanto, tamanhos de infarto maiores do que aqueles apresentados no presente trabalho.

O efeito do tratamento com carvedilol foi avaliado previamente (63) sobre a VFC e VPA de pacientes com insuficiência cardíaca. A verificação dos reais efeitos deste betabloqueador no contexto clínico, entretanto, é difícil interpretar, tendo em vista que pacientes com insuficiência cardíaca necessitam de terapia simultânea com várias drogas. No trabalho em questão (63) os pacientes estavam também sob uso de digoxina, enalapril e furosemida. A digoxina apresenta efeito direto sobre o músculo liso vascular, enquanto que o enalapril bloqueia a geração de angiotensina

II. Portanto, ambos os tratamentos têm potencial para interferir na VPA, notadamente no componente LF o qual parece depender predominantemente de ajustes cíclicos do tono vascular periférico (9). O tratamento com carvedilol nos pacientes (dose de 25 mg/dia) melhorou a VFC, aumentando a energia total do espectro e os componentes absolutos (LF e HF) e o HF normalizado, reduzindo o LF normalizado e a relação LF/HF, o que sugere uma redução na modulação simpática e um aumento na modulação parassimpática para o coração. Em relação à VPA observou-se redução no LF normalizado, que os autores atribuíram ao efeito de redução na modulação simpática para os vasos devido ao efeito bloqueador do carvedilol sobre receptores α -1, e um aumento no HF normalizado. Estes dados, entretanto, são de comparabilidade restrita aos estudos com animais de experimentação. Em nosso estudo, o carvedilol foi iniciado ainda na fase aguda do infarto, ou seja, antes do desenvolvimento do quadro crônico de insuficiência cardíaca. Além disso, o carvedilol foi testado como dose única em animais com e sem infarto. Outros estudos (34;35) também relataram benefícios do tratamento com carvedilol sobre a VFC, mostrando aumento da modulação vagal, redução da modulação simpática e aumento da energia total do espectro, dentre outras modificações. No presente trabalho nós não encontramos alterações na VFC causadas nem pelo IM nem pelo tratamento com carvedilol. Contudo, como foi afirmado anteriormente, é possível que a lesão causada pelo infarto no nosso estudo não tenha sido intensa o suficiente para causar alterações significativas na VFC.

O aumento do peso cardíaco constitui um marcador importante de remodelamento no coração infartado e esse fato ocorreu nos animais com IM sem tratamento. O tratamento com dose baixa de carvedilol preveniu esse aumento. Em contrapartida, Watanabe et al. (48) relataram que ambos os tratamentos, com dose

alta e baixa, evitaram significativamente o aumento do peso cardíaco na insuficiência cardíaca em relação ao grupo não tratado (veículo). Por outro lado, somente o tratamento com dose baixa tornou semelhante o peso cardíaco do grupo normal e do grupo com insuficiência (tratado com dose baixa). Nossos achados, em conformidade com os de Watanabe et al., indicam que o tratamento com dose baixa de carvedilol apresentou melhores efeitos sobre a normalização do peso cardíaco do que o tratamento com dose alta.

As avaliações funcionais e no peso cardíaco feitas no presente trabalho não foram acompanhadas por estudo morfológico para investigar a estrutura cardíaca e quantificar a hipertrofia e fibrose nos corações infartados e avaliar os possíveis efeitos do tratamento com carvedilol. Entretanto, foi visto previamente (48) que o tratamento com dose baixa, mas não com dose alta, reduziu significativamente a área de fibrose nos corações com insuficiência cardíaca tratados com dose baixa de carvedilol.

Finalmente, algumas limitações desse estudo precisam ser discutidas. Em primeiro lugar, não foi avaliada a mortalidade. Contudo, a maioria dos óbitos em nosso protocolo ocorreu no período de 24h, não ultrapassando 72h, após a ligadura arterial. Por isso, acreditamos que as mortes tenham sido ocasionadas principalmente por complicações do IM e não por efeito do tratamento com carvedilol, uma vez que os ratos tratados com placebo também morreram. Em segundo lugar, o número de animais usados na amostra foi insuficiente para detectar pequenas diferenças na VPA e VFC causadas pelo infarto e pelo tratamento com carvedilol. Para detectar uma variação de $6,40 \text{ mmHg}^2$ (diferença na média da variância dos grupos sham placebo e infarto placebo) na variância da pressão sistólica (uma das principais variáveis investigadas) com desvios padrão de

12,20 (sham placebo) e 8,30 (infarto placebo) obtidos nesse trabalho, por exemplo, seria necessário uma amostra de 42 ratos por grupo, considerando o alfa (erro tipo I) ajustado para 0,05 e o beta (erro tipo II) ajustado para 0,20. Dessa forma, o tamanho total da amostra necessário para detectar as diferenças para essa variável seria de, no mínimo, 252 ratos (42 ratos x 6 grupos experimentais = 252 ratos). Experimentos adicionais, aumentando o tamanho da amostra, são necessários para realizar novas constatações. Outra alternativa seria aumentar o tamanho da lesão causada experimentalmente pelo procedimento do infarto para maximizar as diferenças entre grupos e minimizar o tamanho da amostra necessário para detectar as diferenças.

5 CONCLUSÃO

Em resumo, esse estudo mostrou que o IM causou prejuízos maiores sobre parâmetros hemodinâmicos e no peso cardíaco do que nos componentes temporais e espectrais de VPA e VFC. Contudo, os ratos infartados apresentaram uma redução no componente LF normalizado de VPA, que não foi evitado pelo tratamento com carvedilol. Os resultados desse estudo fornecem evidências de melhores resultados obtidos com o tratamento crônico com baixa dose de carvedilol sobre a pressão ventricular diastólica final e peso cardíaco e, portanto, desaconselhamos tratamento crônico com dose alta de carvedilol, que por outro lado se mostrou menos eficiente ou até mesmo prejudicial para certos parâmetros avaliados. Novos estudos ampliando o tamanho da amostra, que permitam identificar as vias centrais de regulação da pressão arterial, e que investiguem o papel do tratamento com carvedilol sobre as alterações morfológicas são necessários para esclarecer os mecanismos que participam do controle da pressão e o papel do tratamento com carvedilol sobre a estrutura cardíaca.

6 REFERÊNCIAS

- (1) World Health Organization. The global burden of disease 2004 update. Geneva: World Health Organization; 2008.
- (2) Gaziano TA, Bitton A, Anand S, Abrahams-Gessel S, Murphy A. Growing epidemic of coronary heart disease in low- and middle-income countries. *Curr Probl Cardiol* 2010 Feb;35(2):72-115.
- (3) Mittal BV, Singh AK. Hypertension in the developing world: challenges and opportunities. *Am J Kidney Dis* 2010 Mar;55(3):590-8.
- (4) Mancia G, Ferrari A, Gregorini L, Parati G, Pomidossi G, Bertinieri G, et al. Blood pressure and heart rate variabilities in normotensive and hypertensive human beings. *Circ Res* 1983 Jul;53(1):96-104.
- (5) Mancia G, Frattola A, Parati G, Santucci C, Ulian L. Blood pressure variability and organ damage. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24 Suppl A:S6-11.
- (6) Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* 1996 Mar 1;93(5):1043-65.
- (7) Hughson RL, Maillet A, Dureau G, Yamamoto Y, Gharib C. Spectral analysis of blood pressure variability in heart transplant patients. *Hypertension* 1995 Apr;25(4 Pt 1):643-50.
- (8) Mostarda C, Rodrigues B, Vane M, Moreira ED, Rosa KT, Moraes-Silva IC, et al. Autonomic impairment after myocardial infarction: role in cardiac remodelling and mortality. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2010 Apr;37(4):447-52.
- (9) Parati G, Saul JP, Di RM, Mancia G. Spectral analysis of blood pressure and heart rate variability in evaluating cardiovascular regulation. A critical appraisal. *Hypertension* 1995 Jun;25(6):1276-86.
- (10) Sloan RP, Shapiro PA, Bagiella E, Myers MM, Gorman JM. Cardiac autonomic control buffers blood pressure variability responses to challenge: a psychophysiologic model of coronary artery disease. *Psychosom Med* 1999 Jan;61(1):58-68.
- (11) Radaelli A, Castiglioni P, Centola M, Cesana F, Balestri G, Ferrari AU, et al. Adrenergic origin of very low-frequency blood pressure oscillations in the unanesthetized rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006 Jan;290(1):H357-H364.

- (12) Blanc J, Lambert G, Elghozi JL. Endogenous renin and related short-term blood pressure variability in the conscious rat. *Eur J Pharmacol* 2000 Apr 14;394(2-3):311-20.
- (13) Gouedard O, Blanc J, Gaudet E, Ponchon P, Elghozi JL. Contribution of the renin-angiotensin system to short-term blood pressure variability during blockade of nitric oxide synthesis in the rat. *Br J Pharmacol* 1996 Nov;119(6):1085-92.
- (14) Ponchon P, Elghozi JL. Contribution of the renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems to short-term variability of blood pressure in two-kidney, one-clip hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1996 Feb 15;297(1-2):61-70.
- (15) Ponchon P, Grichois ML, Elghozi JL. Effect of losartan on short-term variability of blood pressure of renovascular hypertensive rats: a spectral study. *J Hypertens Suppl* 1993 Dec;11(5):S244-S245.
- (16) Stauss HM, Morgan DA, Anderson KE, Massett MP, Kregel KC. Modulation of baroreflex sensitivity and spectral power of blood pressure by heat stress and aging. *Am J Physiol* 1997 Feb;272(2 Pt 2):H776-H784.
- (17) Ponchon P, Elghozi JL. Contribution of humoral systems to the short-term variability of blood pressure after severe hemorrhage. *Am J Physiol* 1997 Jul;273(1 Pt 2):R58-R69.
- (18) Julien C, Malpas SC, Stauss HM. Sympathetic modulation of blood pressure variability. *J Hypertens* 2001 Oct;19(10):1707-12.
- (19) Stauss HM, Kregel KC. Frequency response characteristic of sympathetic-mediated vasomotor waves in conscious rats. *Am J Physiol* 1996 Oct;271(4 Pt 2):H1416-H1422.
- (20) Stauss HM, Persson PB, Johnson AK, Kregel KC. Frequency-response characteristics of autonomic nervous system function in conscious rats. *Am J Physiol* 1997 Aug;273(2 Pt 2):H786-H795.
- (21) Julien C, Zhang ZQ, Cerutti C, Barres C. Hemodynamic analysis of arterial pressure oscillations in conscious rats. *J Auton Nerv Syst* 1995 Jan 3;50(3):239-52.
- (22) Saul JP, Berger RD, Albrecht P, Stein SP, Chen MH, Cohen RJ. Transfer function analysis of the circulation: unique insights into cardiovascular regulation. *Am J Physiol* 1991 Oct;261(4 Pt 2):H1231-H1245.
- (23) Martinka P, Fielitz J, Patzak A, Regitz-Zagrosek V, Persson PB, Stauss HM. Mechanisms of blood pressure variability-induced cardiac hypertrophy and dysfunction in mice with impaired baroreflex. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005 Mar;288(3):R767-R776.
- (24) Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NC, Shannon DC, Cohen RJ. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *Am J Physiol* 1985 Oct;249(4 Pt 2):H867-H875.

- (25) Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 1991 Aug;84(2):482-92.
- (26) Pomeranz B, Macaulay RJ, Caudill MA, Kutz I, Adam D, Gordon D, et al. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. *Am J Physiol* 1985 Jan;248(1 Pt 2):H151-H153.
- (27) A randomized trial of propranolol in patients with acute myocardial infarction. I. Mortality results. *JAMA* 1982 Mar 26;247(12):1707-14.
- (28) Dargie HJ. Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: the CAPRICORN randomised trial. *Lancet* 2001 May 5;357(9266):1385-90.
- (29) Hjalmarson A, Elmfeldt D, Herlitz J, Holmberg S, Malek I, Nyberg G, et al. Effect on mortality of metoprolol in acute myocardial infarction. A double-blind randomised trial. *Lancet* 1981 Oct 17;2(8251):823-7.
- (30) Pedersen TR. Six-year follow-up of the Norwegian Multicenter Study on Timolol after Acute Myocardial Infarction. *N Engl J Med* 1985 Oct 24;313(17):1055-8.
- (31) Teo KK, Yusuf S, Furberg CD. Effects of prophylactic antiarrhythmic drug therapy in acute myocardial infarction. An overview of results from randomized controlled trials. *JAMA* 1993 Oct 6;270(13):1589-95.
- (32) Gunnar RM, Bourdillon PD, Dixon DW, Fuster V, Karp RB, Kennedy JW, et al. ACC/AHA guidelines for the early management of patients with acute myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Assessment of Diagnostic and Therapeutic Cardiovascular Procedures (subcommittee to develop guidelines for the early management of patients with acute myocardial infarction). *Circulation* 1990 Aug;82(2):664-707.
- (33) Zhuang XF, Yin CQ, Wang HY, Sun NL. Distinctive effects of carvedilol in the non-infarct zone: remodelling of the ligated rat heart linked to oxidative stress. *J Int Med Res* 2009 Sep;37(5):1354-64.
- (34) Bullinga JR, Alharethi R, Schram MS, Bristow MR, Gilbert EM. Changes in heart rate variability are correlated to hemodynamic improvement with chronic CARVEDILOL therapy in heart failure. *J Card Fail* 2005 Dec;11(9):693-9.
- (35) Mortara A, La Rovere MT, Pinna GD, Maestri R, Capomolla S, Cobelli F. Nonselective beta-adrenergic blocking agent, carvedilol, improves arterial baroflex gain and heart rate variability in patients with stable chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000 Nov 1;36(5):1612-8.
- (36) Malpas SC, Maling TJ. Heart-rate variability and cardiac autonomic function in diabetes. *Diabetes* 1990 Oct;39(10):1177-81.

- (37) Konrady AO, Rudomanov OG, Yacovleva OI, Shlyakhto EV. Power spectral components of heart rate variability in different types of cardiac remodelling in hypertensive patients. *Med Sci Monit* 2001 Jan;7(1):58-63.
- (38) Scavini S, Volterrani M, Zanelli E, Pagani M, Mazzuero G, Coats AJ, et al. Is heart rate variability a reliable method to assess autonomic modulation in left ventricular dysfunction and heart failure? Assessment of autonomic modulation with heart rate variability. *Int J Cardiol* 1998 Nov 30;67(1):9-17.
- (39) Tsuji H, Venditti FJ, Jr., Manders ES, Evans JC, Larson MG, Feldman CL, et al. Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1994 Aug;90(2):878-83.
- (40) Parati G, Pomidossi G, Albini F, Malaspina D, Mancia G. Relationship of 24-hour blood pressure mean and variability to severity of target-organ damage in hypertension. *J Hypertens* 1987 Feb;5(1):93-8.
- (41) Palatini P, Penzo M, Racioppa A, Zugno E, Guzzardi G, Anaclerio M, et al. Clinical relevance of nighttime blood pressure and of daytime blood pressure variability. *Arch Intern Med* 1992 Sep;152(9):1855-60.
- (42) Parati G, Frattola A, Di RM, Mancia G. Blood pressure variability. Importance in research and in clinical hypertension. *Arq Bras Cardiol* 1996 Aug;67(2):131-3.
- (43) Frattola A, Parati G, Cuspidi C, Albini F, Mancia G. Prognostic value of 24-hour blood pressure variability. *J Hypertens* 1993 Oct;11(10):1133-7.
- (44) Pickering TG, James GD. Ambulatory blood pressure and prognosis. *J Hypertens Suppl* 1994 Nov;12(8):S29-S33.
- (45) Kardos A, Halmai L, Rudas L, Csanady M. Changes in blood pressure and heart period variability in patients with recent acute myocardial infarction. *Clin Sci (Lond)* 1996;91 Suppl:52-5.
- (46) Mill JG, Leite DV, Novaes MA, Lima-Pereira FE, Vassallo DV. Propranolol reduces myocardial hypertrophy in the right cardiac chambers after infarction in rats. *Braz J Med Biol Res* 1992;25(8):865-9.
- (47) Pimentel EB. *Estabilidade temporal do registro do eletrocardiograma em ratos com infarto do miocárdio*. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo; 2006.
- (48) Watanabe K, Ohta Y, Nakazawa M, Higuchi H, Hasegawa G, Naito M, et al. Low dose carvedilol inhibits progression of heart failure in rats with dilated cardiomyopathy. *Br J Pharmacol* 2000 Aug;130(7):1489-95.
- (49) Takagawa J, Zhang Y, Wong ML, Sievers RE, Kapasi NK, Wang Y, et al. Myocardial infarct size measurement in the mouse chronic infarction model: comparison of area- and length-based approaches. *J Appl Physiol* 2007 Jun;102(6):2104-11.

- (50) Lippman N, Stein KM, Lerman BB. Comparison of methods for removal of ectopy in measurement of heart rate variability. *Am J Physiol* 1994 Jul;267(1 Pt 2):H411-H418.
- (51) Dantas EM, Sant'anna ML, Andreao RV, Goncalves CP, Morra EA, Baldo MP, et al. Spectral analysis of heart rate variability with the autoregressive method: What model order to choose? *Comput Biol Med* 2011 Dec 1.
- (52) Souza HC, Martins-Pinge MC, Dias da Silva VJ, Borghi-Silva A, Gastaldi AC, Blanco JH, et al. Heart rate and arterial pressure variability in the experimental renovascular hypertension model in rats. *Auton Neurosci* 2008 May 30;139(1-2):38-45.
- (53) Kay SM, Marple SJ. *Spectrum Analysis - A Modern Perspective*. IEEE 1981 Nov;69(11):1380-419.
- (54) Silva GJ, Ushizima MR, Lessa PS, Cardoso L, Drager LF, Atala MM, et al. Critical analysis of autoregressive and fast Fourier transform markers of cardiovascular variability in rats and humans. *Braz J Med Biol Res* 2009 Apr;42(4):386-96.
- (55) Detollenaere MS, Duprez DA, De Buyzere ML, Vandekerckhove HJ, De Backer GG, Clement DL. 24 hour ambulatory blood pressure variability and cardiac parasympathetic function 2 and 6 weeks after acute myocardial infarction. *Clin Auton Res* 1993 Aug;3(4):255-9.
- (56) Januário EN. Efeitos da estimulação colinérgica com brometo de piridostigmina sobre a modulação autonômica cardiovascular em ratos com insuficiência cardíaca decorrente do infarto do miocárdio. Tese (Doutorado em Patologia). Programa de Pós-Graduação em Patologia. Uberaba, MG: Universidade Federal do triângulo Mineiro; 2009.
- (57) Guzzetti S, Cogliati C, Turiel M, Crema C, Lombardi F, Malliani A. Sympathetic predominance followed by functional denervation in the progression of chronic heart failure. *Eur Heart J* 1995 Aug;16(8):1100-7.
- (58) Kara T, Narkiewicz K, Somers VK. Chemoreflexes--physiology and clinical implications. *Acta Physiol Scand* 2003 Mar;177(3):377-84.
- (59) Radaelli A, Perlangeli S, Cerutti MC, Mircoli L, Mori I, Boselli L, et al. Altered blood pressure variability in patients with congestive heart failure. *J Hypertens* 1999 Dec;17(12 Pt 2):1905-10.
- (60) Gibelin P, Spillner E, Bonnan S, Chevallier T. Non-invasive blood pressure variability in chronic heart failure: characteristics and prognostic value. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2003 Oct;96(10):955-62.
- (61) Caruana MP, Lahiri A, Cashman PM, Altman DG, Raftery EB. Effects of chronic congestive heart failure secondary to coronary artery disease on the circadian rhythm of blood pressure and heart rate. *Am J Cardiol* 1988 Oct 1;62(10 Pt 1):755-9.

- (62) Sanderson JE, Chan SK, Yip G, Yeung LY, Chan KW, Raymond K, et al. Beta-blockade in heart failure: a comparison of carvedilol with metoprolol. *J Am Coll Cardiol* 1999 Nov 1;34(5):1522-8.
- (63) Piccirillo G, Luparini RL, Celli V, Moise A, Lionetti M, Marigliano V, et al. Effects of carvedilol on heart rate and blood pressure variability in subjects with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2000 Dec 15;86(12):1392-5, A6.
- (64) Yue TL, Wang X, Gu JL, Ruffolo RR, Jr., Feuerstein GZ. Carvedilol, a new vasodilating beta-adrenoceptor blocker, inhibits oxidation of low-density lipoproteins by vascular smooth muscle cells and prevents leukocyte adhesion to smooth muscle cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1995 Jun;273(3):1442-9.
- (65) Ohlstein EH, Douglas SA, Sung CP, Yue TL, Loudon C, Arleth A, et al. Carvedilol, a cardiovascular drug, prevents vascular smooth muscle cell proliferation, migration, and neointimal formation following vascular injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993 Jul 1;90(13):6189-93.
- (66) Patel MK, Chan P, Betteridge LJ, Schachter M, Sever PS. Inhibition of human vascular smooth muscle cell proliferation by the novel multiple-action antihypertensive agent carvedilol. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995 Apr;25(4):652-7.
- (67) Huang H, Shan J, Pan XH, Wang HP, Qian LB. Carvedilol protected diabetic rat hearts via reducing oxidative stress. *J Zhejiang Univ Sci B* 2006 Sep;7(9):725-31.
- (68) Huang H, Shan J, Pan XH, Wang HP, Qian LB, Xia Q. Carvedilol improved diabetic rat cardiac function depending on antioxidant ability. *Diabetes Res Clin Pract* 2007 Jan;75(1):7-13.