

Cristiano Teixeira Mostarda

**PAPEL DOS PRESSORRECEPTORES NAS ALTERAÇÕES
CARDIORRESPIRATÓRIAS INDUZIDAS PELO INFARTO DO
MIOCÁRDIO.**

**Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina
para obtenção do título de Mestre em
Ciências.**

São Paulo

2006

Mostarda, Cristiano

Papel dos pressorreceptores nas alterações cardiorrespiratórias induzidas pelo infarto do miocárdio:./Cristiano Mostarda. --São Paulo, 2006.

Tese (Mestrado) Universidade Federal de São Paulo.
Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em
Ciências Nefrológicas.

Título em inglês: Low Frequency Power of Heart Rate Variability
Associated With Baroreflex Impairment in Myocardial Infarction in Rats

Cristiano Teixeira Mostarda

**PAPEL DOS PRESSORRECEPTORES NAS ALTERAÇÕES
CARDIORRESPIRATÓRIAS INDUZIDAS PELO INFARTO DO
MIOCÁRDIO.**

**Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo –
Escola Paulista de Medicina para obtenção do título de
Mestre em Ciências.**

Orientadora: Dra. Maria Claudia Irigoyen

Co-Orientadora: Dra Dulce Casarini

Coordenação de Pós-graduação: Dr Agostinho Tavares

São Paulo

2006

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por esta oportunidade.

Ao meu pai e minha mãe pela educação, carinho e incentivo.

À minha esposa Alessandra e meu filho Nicolas pelo companheirismo, compreensão, e apoio durante todo tempo.

À Professora Maria Cláudia Irigoyen pela orientação, harmonia e sabedoria transmitida.

À Professora Kátia De Angelis, pela orientação e atenção dada a todo o momento.

Ao Edson Dias Moreira pela participação fundamental em todos experimentos e todos ensinamentos.

À Vera Longo pela paciência e colaboração.

Ao Fumio Ida (*in memoriam*) pelos ensinamentos das diferentes técnicas de análise.

Ao Leandro Eziquiel pela colaboração em todos experimentos.

Ao Gustavo Justo pela paciência.

Ao Kaleizu T. Rosa, Bruno Rodrigues, Matheus Vane, Silvia Beatriz, André Rogow pela colaboração no andamento deste trabalho.

Aos colegas de laboratório: Geórgia, Mariana, Karin Raquel, Paula Arruda, Dona Antônia, Christiane e a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos da Divisão de Experimentação do Instituto do coração.

A todos do Biotério do Instituto do Coração.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.

SUMÁRIO.

ABSTRACT.

1 INTRODUÇÃO.	01
1.1 Um breve histórico sobre o infarto agudo do miocárdio	02
1.2 A fisiopatologia e a evolução temporal do infarto do miocárdio.	04
1.3 Alterações hemodinâmicas pós-infarto do miocárdio.	06
1.4 Regulação neurogênica da circulação.	08
1.5 Controle reflexo da circulação no infarto do miocárdio.	11
1.6 Desnervação sino-aórtica.	14
1.7 Estudo da variabilidade de sinais biológicos.	16
2 OBJETIVOS.	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.	20
3.1 Animais e Grupos.	20
3.2 Desnervação sino-aórtica.	21
3.3 Infarto do Miocárdio.	22
3.4 Ecodopplercardiograma.	23

3.5 Canulação.	26
3.6 Medidas de pressão arterial, Intervalo de Pulso	
Labilidade da PA e variabilidade do intervalo de pulso	28
3.7 Variabilidade do domínio da Freqüência.	30
3.8 Avaliação do reflexo pressorreceptor.	31
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.	33
5 RESULTADOS.	34
5.1 Avaliações Ecocardiográficas.	34
5.1.1 Morfometria.	34
5.1.2 Função Sistólica.	35
5.1.3 Função Diastólica.	36
5.1.4 Avaliação ecocardiografica da função global.	37
5.1.5 Avaliação ecocardiográfica da área infartada.	38
5.2 Avaliações Hemodinâmicas.	39
5.2.1 Pressão Arterial.	39
5.2.2 Intervalo de Pulso (IP).	40
5.2.3 Avaliação do Barorreflexo.	41
5.2.4 Variabilidade no Domínio do Tempo.	43

5.2.5 Variabilidade da FC (VFC).	44
5.3 Variabilidade no Domínio da Freqüência.	45
5.3.1 banda de baixa freqüência no sistograma.	45
5.3.2 banda de alta freqüência (HF) no sistograma.	46
5.3.3 Banda de baixa freqüência (LF) no tacograma.	47
5.3.4 Banda de alta freqüência (HF) no tacograma.	48
5.3.5 Banda de LF tacograma (ms ²). Valores normalizados.	49
5.3.6 Valores normalizados (NU) da banda de HF.	50
5.3.7 Balanço autonômico (LF/HF tacograma).	51
5.4 Curva de Mortalidade.	53
6-SUMARIO DOS RESULTADOS.	54
6.1 A DSA.	54
6.2 O IM.	54
6.3 A associação de DSA+IM.	55
7 DISCUSSÃO	56
7.1 Avaliações ecocardiográficas.	56
7.1.1 Morfometria e função cardíaca: Avaliações ecocardiográfica e de pressão intraventricular.	56

7.1.2 A desnervação sino-aórtica.	57
7.1.3 O infarto do miocárdio.	58
7.2 Avaliações Hemodinâmicas.	62
7.2.1 Pressão arterial e frequência cardíaca	62
7.2.2 Sensibilidade do barorreflexo (SBR) e a variabilidade da PA e da FC.	63
8 CONCLUSÃO	68
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
10 ANEXO 1	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Parâmetros ecocardiográficos de morfometria nos animais do grupo controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e DSA+IM (DSA+IM).	35
Tabela 2	Parâmetros ecocardiográficos de função sistólica nos animais do grupo controle , infartado(IM), desnervado (DSA) e associação da desnervação com infarto(DSA+IM).	36
Tabela 3	Parâmetros ecocardiográficos de função diastólica nos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e desnervados/infartados (DSA+IM).	36
Tabela 4	Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial média(PAM) e pressão arterial diastólica (PAD)	39

LISTAS DE FIGURAS

		pg.
Figura 1	Sítio de dissecação para a cateterização da artéria femoral	27
Figura 2	Isolamento da artéria femoral e inserção do cateter	27
Figura 3	Esquema do sistema de registro de Pressão Arterial	29
Figura 4	Índice de performance miocárdica (IPM) nos animais do grupo controle , Infartados (IM), desnervados (DSA) e desnervado/infartado (DSA+IM). * $p < 0,05$ vs. Controle; † $p < 0.05$ vs. DSA	37
Figura 5	Área infartada do ventrículo esquerdo nos animais do grupo Infartados (IM) e desnervado/infartado (DSA+IM).	38
Figura 6	Frequência cardíaca (FC) expressa pelo intervalo de pulso	40

(IP).

Figura 7	Sensibilidade barorreflexa avaliada pela resposta taquicárdica nos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação e infarto (DSA+IM), expressa em bpm/mmHg	41
Figura 8	Sensibilidade barorrelexa avaliada pela resposta bradicárdica nos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação com o infarto (DSA+IM), expressa em bpm/mmHg	42
Figura 9	Variabilidade da pressão arterial sistólica dos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação com o infarto (DSA+IM), expressa pela média do desvio padrão.	43
Figura 10	Variabilidade do intervalo de pulso no domínio do tempo, dos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação e infarto (DSA+IM).	44
Figura 11	Banda de LF do sistograma nos grupos controle, infarto do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação do grupo desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio DSA+IM.	46
Figura 12	Representativa da banda de alta frequência (HF) do sistograma nos grupos controle, infarto agudo do miocárdio	47

(IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM).

- Figura 13 Valores absolutos da potência de LF no tacograma nos grupos controle, infarto do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação da desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM) 48
- Figura 14 Valores absolutos da banda de alta frequência (HF) nos grupos controle, infarto agudo do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação da desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM). 49.
- Figura 15 Valores das potências normalizados da banda de baixa frequência (LF) do IP nos grupos controle, infarto do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação da desnervação sino-aórtica e infarto do miocárdio (DSA+IM). 50
- Figura 16 Valores de potência normalizados da banda de baixa frequência (HF) nos grupos controle, infarto agudo do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação da desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM). 51
- Figura 17 Balanço autonômico (LF/HF tacograma) nos grupos 52

Controle, infarto agudo do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM).

Figura 18 Mortalidade estimada pelo método de Kaplan Meier. Figura 53
(A) grupos controle, IM, DSA e DSA+IM;(B) IM and DSA+IM.

LISTA DE ABREVIATURAS

IM	Infarto do miocárdio
SBR	Sensibilidade do barorreflexo
ECG	Eletrocardiograma
VE	Ventrículo Esquerdo
DC	Débito cardíaco
VS	Volume Sistólico
PA	Pressão Arterial
HRV	Variabilidade da Frequência Cardíaca
DSA	Desnervação sino-aórtica
SD	Desvio padrão
VPA	Variabilidade da pressão arterial
SHR	Rato espontaneamente hipertenso
C	Controle
IM	Infarto do Miocárdio
DSA+IM	Desnervação sino-aórtica/infarto do miocárdio
VEDIA	Cavidade do VE ao finsl da diástole
MVE	Massa ventricular esquerda
FE%	Fração de ejeção
VEC-circ/seg	Velocidade de encurtamento circunferencial
MS	Milissegundos
IDM	Índice de desempenho miocárdico
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
IP	Intervalo de Pulso
PAM	Pressão arterial média
HF	Potência de alta frequência
LF	Potência de Baixa frequência

VLF	Potência de muito baixa frequência
TRIV	Tempo de relaxamento isovolumétrico
DESAC E	Tempo de desaceleração da onda E
Relação E/A	Relação entre a velocidade máxima entre a onda E e a velocidade máxima da onda A
DESAC E corr	Tempo de desaceleração da onda E corrigido pela frequência cardíaca
TRIV corr	Tempo de relaxamento isovolumétrico corrigido pela Frequência cardíaca
FC	Frequência cardíaca
VEC	Velocidade de encurtamento circunferencial.
ITR	Índice de taquicardia reflexa
IBR	Índice de bradicardia reflexa
NU	Unidade normalizada
PO ₂	Pressão parcial de oxigênio
PCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono
KCN	Cianeto de potássio
CP	Receptores cardiopulmonares
5-HT	Serotonina

RESUMO

Mudanças na sensibilidade do barorreflexo tem sido associadas com redução da variabilidade da frequência cardíaca e aumento do risco de morte pós infarto do miocárdio. O objetivo deste estudo foi investigar se a diminuição do controle barorreflexo, induzida pelo infarto do miocárdio (IM) e por desnervação sino aórtica (DSA) está associada com mudanças no componente de baixa frequência (LF) do tacograma e conseqüentemente com aumento na mortalidade pós IM em ratos.

Os ratos foram divididos em 4 grupos: controle(C), infarto do miocárdio (IM), desnervados (DSA), e desnervados infartados (DSA+IM). Aos 90 dias de acompanhamento o IM reduziu a fração de ejeção (42%), porém a massa do ventrículo esquerdo aumentou somente no grupo DSA+IM. A sensibilidade do barorreflexo foi reduzida após IM e sofreu uma redução adicional com a desnervação nos animais infartados. A VFC foi menor nos animais DSA+IM quando comparados aos grupos IM e DSA . A potência de LF do tacograma reduziu em todos os grupos porém, a associação DSA+MI , causou uma diminuição adicional em relação aos demais grupos.

Foi encontrada correlação direta entre sensibilidade do barorreflexo e potência de LF do sistograma. A massa do ventrículo esquerdo foi positivamente correlacionada com a banda de LF do sistograma . Os resultados mostraram que

a diminuição do barorreflexo está associada com a redução da potência de LF do tacograma indicando que quanto menor a sensibilidade do barorreflexo, menor é a banda de LF do tacograma e conseqüentemente, maior a mortalidade.

ABSTRACT

Changes in baroreflex sensitivity have been implicated in reduction of heart rate variability and increase of death risk after myocardial infarction. The objectives of this study was to investigate if the impairment of baroreflex control of circulation induced by MI in sinoaortic denervated (SAD) rats is associated with changes in LF component of HRV and if the abolishment of the baroreflex would be associated with increased mortality after myocardial infarction in rats.

The rats were distributed in 4 groups: control(C), myocardial infarction(MI), SAD and denervated infarcted (SAD+MI) groups. MI (90 days) reduced ejection fraction (42%) but induces left ventricle mass increase only in SAD+MI rats. Baroreflex sensitivity was reduced after MI but additionally impaired in MI denervated rats. HRV was lower in SAD+MI than in MI and SAD groups. LF power of HRV was reduced in all experimental groups but was additionally reduced in SAD+MI rats.

There was a direct correlation between baroreflex sensitivity and LF power of HRV.

LV mass was positively correlated with blood pressure variability. The results of the present study showed that the decrease in baroreflex sensitivity is associated

with LF power of HRV reduction and that the degree of impairment of baroreflexes as well as the reduction of LF power of HRV, determines the mortality post MI during a 90 days period.

1-INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são responsáveis por 16,7 milhões de mortes por ano em todo o mundo. Dentro destas, 7,2 milhões correspondem a doenças cardíacas coronarianas cujos principais fatores de risco são: fumo, obesidade, hipertensão arterial, disposição hereditária, processos inflamatórios, inatividade física e diabetes (WHO, 2005). Segundo estimativas, este problema deve crescer nos próximos anos devido ao envelhecimento da população e ao aumento das taxas de sobrevivência pós-infarto. As doenças arteriais coronarianas são as maiores responsáveis pela mortalidade de indivíduos em meia idade e idosos (Uemura, 1988; Sans, Kesteloot *et al.*, 1997).

Considerando a existência de alterações autonômicas logo após o infarto do miocárdio (IM), os autores (Webb, Adgey *et al.*, 1972) observaram que 92% dos pacientes infartados apresentavam desequilíbrio autonômico.

A abordagem experimental de problemas fisiológicos vem contribuindo para o entendimento dos mecanismos envolvidos nestes processos, em particular o comprometimento do sistema nervoso autônomo nas doenças cardiovasculares (Schwartz, Leiboff *et al.*, 1984). Para tanto, diversas ferramentas de análise dos diversos parâmetros cardiovasculares tem sido desenvolvidas e alguns marcadores de atividade autonômica como a sensibilidade do barorreflexo (SBR) e a análise tempo frequência dos sinais cardiovasculares tem sido empregados para estratificação de risco coronariano (La Rovere, Pinna *et al.*, 2001).

1.1. UM BREVE HISTÓRICO SOBRE O INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

O infarto agudo do miocárdio (IM) pode ser considerado uma das doenças mais preocupantes da humanidade, tanto pela morbidade, quanto pela mortalidade associada a esse tipo de evento cardiovascular.

Durante as primeiras décadas do século XX, a oclusão aguda das coronárias geralmente levava o indivíduo à morte. Nas segunda e terceira décadas o IM cresceu em proporção alarmante principalmente nos países da Europa que se tornaram industrializados transformando-se, na metade do século passado, na causa mais comum de morte nos hospitais. As terapias nessa época consistiam em analgésica, repouso no leito e sedação, o que pouco tinham a oferecer ao paciente.

No início da década de 60, foram criados dispositivos essenciais para redução da mortalidade nos pacientes internados por IM tais como: as novas técnicas de monitorização eletrocardiográfica, as potentes drogas antiarrítmicas e o desfibrilador externo.

Com a diminuição da mortalidade, a falência ventricular esquerda ocasionada pela necrose do miocárdio passou a ser a maior complicação no pós-IM, tornando-se a maior causa de morte nos leitos. Dessa forma, vários esforços foram realizados com a finalidade de diminuir a extensão do dano ventricular causada pelo IM.

O maior avanço ocorreu somente na década de 80 com o desenvolvimento das terapias trombolíticas coronarianas, na qual drogas são injetadas diretamente

na coronária obstruída através de um cateter arterial, e posteriormente através de uma veia periférica. No final dos anos 80, foi dada grande atenção às terapias secundárias, introduzindo na clínica as drogas anticoagulantes e antiplaquetárias que aumentaram sensivelmente a eficácia dos agentes trombolíticos e diminuíram a reincidência de IM, e posteriormente os inibidores da enzima conversora de angiotensina que atenuavam a remodelação ventricular, causa maior da falência cardíaca e morte.

Na década de 90, houve um grande aumento de informações relacionadas à fisiopatologia do IM agudo e crônico. Essa explosão de informações foi impulsionada principalmente pelos resultados obtidos através de pesquisas em humanos e em animais de experimentação, possibilitando o diagnóstico de IM por meio de avaliação clínica, análise de eletrocardiograma (ECG) e dosagem de enzimas específicas. Além disso, os avanços da clínica médica possibilitaram um melhor atendimento ao paciente com IM, reduzindo o índice de mortalidade observado anteriormente (Julian, 1994).

Somente no ano de 2002 ocorreram 61.480 mortes por IM no Brasil sendo 36.258 homens e 25.209 mulheres. Somente no Estado de São Paulo ocorreram 17.714 óbitos, sendo 10.435 homens e 7.279 mulheres -CID –BR-10 DATASUS2002 (IBGE, 2000).

1.2- A FISIOPATOLOGIA E A EVOLUÇÃO TEMPORAL DO INFARTO DO MIOCÁRDIO.

O fluxo sanguíneo do sistema coronariano é regulado quase que totalmente pela resposta vascular às necessidades locais de nutrição da musculatura cardíaca. Este mecanismo funciona igualmente quando os nervos do coração estão intactos ou são removidos. Abaixo de um determinado nível crítico de fluxo sanguíneo, as células miocárdicas desenvolvem lesão isquêmica que, quando prolongada, conduz a um processo irreversível, culminando no IM. Isso se verifica imediatamente após a oclusão coronariana aguda, quando o fluxo nos vasos sanguíneos cessa, alterando a função do músculo cardíaco. Após a ligação da artéria coronária, a contração muscular da área suprida pelo vaso cessa quase imediatamente e a área infartada torna-se cianótica, dilatada e deformada (Tennant e Wiggers, 1935).

O IM, na sua grande maioria, resulta de aterosclerose das artérias coronárias. A aterosclerose tem uma evolução a princípio lenta, durante a qual se forma uma placa sólida, ocorrendo agregação plaquetária e depósito de fibrina. Posteriormente, ocorre uma evolução rápida, quando irá se constituir o trombo que obstruirá as coronárias, resultando no IM. Logo, o IM é um processo dinâmico que não ocorre de forma instantânea, evoluindo de forma lenta, isto é, durante horas.

O coração dos mamíferos é constituído principalmente por cardiomiócitos que contém várias proteínas contráteis, que se contraem de forma ordenada e

rítmica (Cleutjens, Blankesteyjn *et al.*, 1999) . Após a oclusão prolongada de uma artéria coronária, observa-se a morte dos cardiomiócitos, o que pode ocorrer por duas vias independentes: a necrose, pelo edema das células e pela ruptura de suas membranas, e a apoptose, que é a morte celular programada, que ocorre pela autodestruição da célula, comandada pelo núcleo. A maioria das células apoptóticas, após o IM, não pode ser fagocitada pelas células vizinhas, ocorrendo secundariamente necrose de 12 horas até quatro dias após o infarto (Haunstetter e Izumo, 1998).

Após seis a oito horas do início do IM sem reperfusão, granulócitos neutrófilos migram para a área infartada, ajudando a remover os cardiomiócitos mortos. Com o depósito de novas proteínas extracelulares, ocorre formação de granulação tecidual que aumenta a força elástica do infarto e previne a ruptura cardíaca.

Decorridas duas a três semanas de granulação tecidual, o miocárdio infartado é caracterizado como um tecido rico em células, contendo colágeno intersticial, macrófagos e mioblastos. Nesta fase, as células, exceto os miofibroblastos, começam a desaparecer da área infartada, ocorrendo a formação da cicatriz tecidual. O tecido cicatricial formado tem natureza permanente devido a falta de regeneração de cardiomiócitos (Cleutjens, Blankesteyjn *et al.*, 1999).

A bradicinina, a angiotensina II e as prostaglandinas são mediadores químicos de ação bem estabelecida na fase inflamatória de cicatrização (Kimura, Hashimoto *et al.*, 1973).

Esta fase compreende a evolução da área infartada, desde o infarto agudo até atingir a fase crônica. Resumidamente, são elas: 1-morte dos cardiomiócitos; 2- inflamação aguda; 3-granulação tecidual; 4- formação da cicatriz.

Existem dois tipos de infarto: o infarto transmural, no qual a necrose miocárdica envolve toda a espessura da parede ventricular, e o infarto subendocárdico (não-transmural), em que a necrose envolve o subendocárdio sem afetar toda espessura da parede ventricular. A maior parte dos infartos transmurais ocorre distalmente a uma artéria coronária totalmente ocluída.

Em ratos de experimentação, o método de ligadura da artéria coronária produz, na maioria das vezes, infartos transmurais devido à oclusão total das artérias coronárias ligadas.

1.3. ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS PÓS-INFARTO DO MIOCÁRDIO.

A localização específica da área infartada do ventrículo esquerdo (VE) é de grande importância nas respostas hemodinâmicas observadas. Embora haja grande variação anatômica na distribuição das artérias coronárias no homem, a oclusão da artéria coronária descendente anterior resulta em IM antero-lateral e a oclusão da artéria coronária circunflexa produz, principalmente, IM da parede inferior (Corr e Gillis, 1978). A oclusão da artéria coronária direita causa IM ífero-posterior do VE e, muitas vezes, IM do ventrículo direito. Em geral, o IM da parede ífero posterior do VE resulta em bradicardia e hipotensão, enquanto o infarto observado na parede anterior do VE leva à taquicardia e hipotensão (Webb, Adgey *et al.*, 1972).

A depressão da função cardíaca está diretamente relacionada à extensão da lesão no VE. Se uma quantidade suficiente do miocárdio é submetida à lesão isquêmica, a função de bomba do VE torna-se deprimida e, o débito cardíaco (DC), o volume sistólico (VS), a pressão arterial (PA) e o pico da derivada de contração estão reduzidos, enquanto o volume residual final é aumentado (Pfeffer, Pfeffer *et al.*, 1979). Assim, o grau de aumento do volume residual final é talvez o melhor preditor da mortalidade após o IM (White, Norris *et al.*, 1987).

A expansão sistólica paradoxal de uma área do miocárdio ventricular diminui o débito sistólico do VE. Com o passar do tempo, o edema e a infiltração celular e, finalmente a fibrose, aumentam a rigidez da zona miocárdica infartada e a função esquerda ventricular melhora, visto que isso evita a motilidade sistólica paradoxal da parede (Pasternak, Braunwald *et al.*, 1996).

As terminações sensoriais mecanossensitivas e quimiossensitivas aumentam suas freqüências de descarga em resposta às alterações mecânicas e químicas que ocorrem no miocárdio infartado ou com isquemia. Duas populações de terminações sensoriais podem ser ativadas durante o IM: uma é conduzida pelos aferentes vagais e outras pelos aferentes simpáticos. Devido a uma rápida depressão na função ventricular, reflexos aferentes podem também ser provenientes dos átrios, região pulmonar e pressorreceptores arteriais (Donald e Shepherd, 1978). Essa ativação pode ser mais ou menos pronunciada, dependendo da localização da lesão (inferior ou anterior) na parede ventricular.

Embora a ativação do sistema nervoso autônomo durante a isquemia possa ocorrer como resultado de ativação dos aferentes cardiopulmonares, outros mecanismos podem também estar operando. Por exemplo, a hipotensão pode

levar à estimulação dos pressorreceptores com conseqüente aumento do simpático e redução do parassimpático.

1.4 REGULAÇÃO NEUROGÊNICA DA CIRCULAÇÃO.

Os mecanismos de regulação da PA estão intimamente integrados à principal finalidade da circulação, que é a de manter um fluxo sanguíneo adequado às necessidades do organismo (Krieger, 1976).

A manutenção da força motriz da circulação, a pressão sanguínea, garante uma pressão de perfusão tecidual em níveis adequados, tanto em situações de repouso, como em diferentes atividades comportamentais. O controle da PA e da volemia é realizado por mecanismos a curto, médio e longo prazo, envolvendo basicamente a regulação neural e hormonal (Michelini e Morris, 1999).

O mecanismo de curto prazo consiste na regulação feita pelo sistema nervoso, agindo em diferentes níveis do sistema cardiovascular por atuações das eferências nervosas simpática e parassimpática. Nesse caso, os principais receptores atuantes no controle do reflexo da circulação são: os pressorreceptores arteriais, os quimiorreceptores arteriais e os receptores cardiopulmonares (Abboud e Thames, 1983).

Os pressorreceptores arteriais são mecanorreceptores de alta pressão, constituídos por terminações livres que se localizam na crossa da aorta e no seio carotídeo. As terminações desses receptores são unidas entre si aos elementos vasculares, fornecendo as informações essenciais para a regulação momento-a-momento da PA (Michelini, 1999).

O barorreflexo em mamíferos, é um sistema de retroalimentação negativa que mantém a PA dentro de limites estreitos de variação. Os pressorreceptores arteriais são sensíveis às deformações vasculares, sendo deformados e estimulados a cada sístole arterial quando, por estiramento, seus sensores despolarizam, gerando potenciais de ação que trafegam para sinapses na porção dorsomedial do bulbo, especificamente o núcleo do trato solitário.

Os pressorreceptores arteriais têm a capacidade de se adaptar a diferentes valores de PA, desde que após a variação, estes valores se mantenham constantes, deslocando sua faixa de funcionamento tanto para hipertensão, quanto para hipotensão, garantindo o controle dos níveis de PA (Mccubbin, Green *et al.*, 1956; Krieger, 1970).

Após a mudança, os novos valores de PA são reconhecidos como o novo ponto de operação e os pressorreceptores corrigirão elevações ou quedas bruscas de PA a partir desses novos níveis de PA. Logo, a adaptação dos pressorreceptores permite que indivíduos hipertensos e hipotensos mantenham seus níveis basais de PA, e sejam capazes de corrigir variações agudas da pressão arterial (Krieger, 1970).

Outros receptores, os quimiorreceptores arteriais, participam da regulação reflexa da PA, sendo localizados nos corpos carotídeos e aórticos. Suas células quimiossensitivas estão em contato íntimo com os gases sanguíneos, sendo excitadas pela queda de pressão parcial de oxigênio (PO_2), aumento parcial da pressão de dióxido de carbono (PCO_2) ou pH (Franchini e Krieger, 1992). As fibras aferentes dos quimiorreceptores e dos pressorreceptores constituem o nervo carotídeo, que se incorpora ao nervo glossofaríngeo (Vasquez, Meyrelles *et*

al., 1997). Os quimiorreceptores podem ser estimulados em ratos por injeções endovenosas de cianeto de potássio (KCN), resultando em taquicardia, hipotensão, taquipnéia e comportamento de alerta (Franchini e Krieger, 1992).

Outro grupo de receptores, importantes na regulação da circulação, são os receptores cardiopulmonares (CP), mecanorreceptores de baixa pressão, cuja principal função é a manutenção do volume sanguíneo em níveis normais, sendo ativados em sincronia com a diástole ventricular (Mark, 1983). Esses receptores encontram-se localizados nos átrios, ventrículos, nas artérias coronárias, nas porções adjacentes das veias pulmonares e da veia cava (Minisi e Thames, 1989);

Em animais de experimentação, as terminações aferentes vagais no coração e pulmões são estimuladas por diversas substâncias químicas, resultando em resposta depressora profunda. A serotonina (5-HT) e a fenilbiguanina são as drogas mais utilizadas por estimularem seletivamente as fibras vagais não-mielinizadas existentes na região cardiopulmonar sem, no entanto, estimular os receptores atriais e sem sensibilizar os pressorreceptores sino e aórticos (Paintal, 1953).

1.5. CONTROLE REFLEXO DA CIRCULAÇÃO NO INFARTO DO MIOCÁRDIO.

Como já citado anteriormente Webb e colaboradores (1972), observaram desequilíbrio autonômico em pacientes com IM. Esses mesmos autores verificaram que a bradicardia e a hipotensão ocorriam com maior freqüência em pacientes com IM da parede ínfero-posterior do VE, nos quais a ação parassimpática era provavelmente mais atuante. Nos pacientes com infarto da parede anterior do VE, verificaram uma maior ocorrência de hipotensão e taquicardia, sugerindo que a ação do sistema nervoso simpático era predominante.

As diferentes alterações hemodinâmicas observadas em pacientes com IM localizado em diferentes regiões do miocárdio sugerem a participação dos aferentes cardiopulmonares (CP) no curso temporal de tais mudanças. De fato, alterações dos reflexos CP foram observadas na fase aguda do IM em animais (Grassi, Giannattasio *et al.*, 1992).

Além disso, as alterações do sistema cardiovascular na fase aguda ou crônica do IM em humanos parecem também depender do controle reflexo da FC exercido pelos pressorreceptores, que se encontra atenuado na fase aguda, retornando ao normal algumas semanas depois (Osculati, Grassi *et al.*, 1990); (Takeshita, Matsuguchi *et al.*, 1980).

Inúmeros trabalhos têm relatado alterações de controle da FC (Grassi, Giannattasio *et al.*, 1992) e da atividade simpática no IM em humanos e animais, comandados pelos pressorreceptores (Mill, Vassallo *et al.*, 1991), sugerindo

taquicardia na fase aguda. A sensibilidade do reflexo pressorreceptor pode ser interpretada até como um fator de bom prognóstico após o IM, sugerindo que as variações ocorram na dependência de uma série de outras influências como: isquemia prévia, ativação de outros receptores e área de localização de infarto (Mark, 1983). De fato os estudos sobre o tônus e reflexos autonômicos após o IM (ATRAMI) demonstraram que a maior sensibilidade do barorreflexo estava associada com menor mortalidade após eventos cardiovascular. Neste sentido, resultados experimentais mostram que o aumento da sensibilidade do barorreceptor induzido pelo treinamento físico estava associado com uma redução na suscetibilidade a fibrilação ventricular no infarto agudo ou crônico em cães (Peres-Gomes e Ribeiro, 1979).

Os novos estudos ATRAMI demonstraram que o aumento da atividade simpática e/ou a diminuição da parassimpática, e a diminuição da contratilidade cardíaca (medida pela fração de ejeção) são dois fatores que aumentam os riscos de óbito, principalmente por arritmias e fibrilações, em pacientes que sofreram infarto do miocárdio (La Rovere, Bigger *et al.*, 1998).

Dois grandes marcadores da atividade do sistema nervoso autônomo são: a sensibilidade dos barorreflexos (Cohn, Levine *et al.*, 1984; La Rovere, Bigger *et al.*, 1998); e a variabilidade da frequência cardíaca (Barron e Lesh, 1996). A estimulação dos pressorreceptores, causada pelas mudanças na pressão arterial, modulam a atividade do sistema nervoso autônomo - simpático e parassimpático e conseqüentemente, a contratilidade cardíaca e a resistência vascular (Pang, 2001).

Dados experimentais e observações clínicas têm mostrado que as doenças isquêmicas do coração podem diminuir a sensibilidade dos barorreflexos (BRS) e influenciar na variabilidade da frequência cardíaca (HRV) pelo aumento da atividade simpática muitas vezes associado com a diminuição do tônus vagal (Kruger, Kalenka *et al.*, 1997). A perda da proteção representada pela atividade reflexa está associada com o aumento de incidência de mortes por arritmias (La Rovere, Bigger *et al.*, 1998).

Existem evidências de que a redução da variabilidade da frequência cardíaca (HRV) é indicadora de risco de arritmias, mostrando que baixos valores de HRV implicam no aumento da mortalidade em pacientes pós-infarto do miocárdio (Bigger, Fleiss *et al.*, 1993). A sensibilidade dos barorreflexos (BRS) nos mostra a capacidade de aumentar reflexamente a atividade vagal e de diminuir a atividade simpática em resposta ao súbito aumento na pressão arterial.

1.6 DESNERVAÇÃO SINO-AÓRTICA.

A importância dos pressorreceptores sobre a regulação da PA pode ser demonstrada pela desnervação sino-aórtica (DSA).

A desnervação sino-aórtica em ratos foi descrita em nosso laboratório por Krieger (1964) e elimina tanto as fibras pressorreceptoras como quimiorreceptoras. Além disso, várias evidências parecem indicar que, no rato, a função quimiorreceptora se origina principalmente dos aferentes da bifurcação carotídea, enquanto a função barorreceptora depende quase que integralmente dos aferentes aórticos. Esta distribuição da função pressorreceptora e quimiorreceptora própria do rato, permite uma quase completa eliminação das fibras quimiorreceptoras pela desnervação isolada do seio carotídeo, enquanto que a função barorreceptora pode ser efetivamente abolida pela desnervação aórtica isolada (Franchini, 1994).

A desnervação aórtica isolada, mantendo intacto os aferentes carotídeos, produz aumento sustentado da PA em ratos (Krieger, 1970; Franchini e Krieger, 1992); acompanhado de aumento da variabilidade da PA, taquicardia e hiperatividade simpática (Irigoyen, Cestari *et al.*, 1988). Já a desnervação carotídea leva a uma redução dos níveis pressóricos (Franchini e Krieger, 1992) e da atividade simpática renal (Irigoyen, Moreira *et al.*, 1991). Essas observações levam à interpretação de que os quimiorreceptores carotídeos são responsáveis pelos efeitos opostos observados sobre a PA na desnervação aórtica e carotídea isoladamente.

Na fase inicial da DSA, o aumento da atividade simpática e da PA é predominante (Irigoyen e Krieger, 1998). Acompanhando este aumento da PA na fase aguda, foi descrita uma redução do débito cardíaco (Krieger, 1967) que também retorna ao normal depois de alguns dias.

A mais importante alteração cardiovascular produzida pela desnervação sino-aórtica é o grande aumento na labilidade da PA tanto na fase aguda quanto crônica. Essa labilidade é usualmente caracterizada pelo aumento do desvio padrão e da variância da PA obtidas através de registros computadorizados (Alper, Jacob *et al.*, 1987; Franchini e Krieger, 1992).

No início da década de 1980 alguns autores (Lundin, Hallback-Nordlander *et al.*, 1982) demonstraram que a variabilidade da PA (VPA) estava aumentada em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), se comparados a linhagens de ratos normotensos. No ano seguinte (Mancia, Ferrari *et al.*, 1983), estudando grupos de pacientes normotensos, com hipertensão moderada e grave, demonstraram que havia um aumento da VPA associado a gravidade de hipertensão. Estes e outros estudos abriram caminho para o uso de um modelo de alta VPA e sem hipertensão, consistindo na DSA crônica (Su e Miao, 2001). Além disso, diversos estudos demonstraram que a DSA induz alterações estruturais cardiovasculares e hipertensão, incluindo hipertrofia do coração, arteriosclerose, hipertrofia vascular e lesões renais graves (Su e Miao, 2001).

Embora a DSA tenha sido utilizada como um modelo biológico para estudar o papel do baroreflexo em diferentes situações fisiológicas e patológicas (Alexander, Kaneda *et al.*, 1990; Osborn e England, 1990; Shade, Bishop *et al.*, 1990) existem poucos trabalhos mostrando o quanto a perda do barorreflexo e

aumento da labilidade da PA podem comprometer a evolução natural de hipertensão, de infarto do miocárdio e outras patologias e, dessa forma, contribuir para o mau prognóstico e a ocorrência de eventos fatais.

1.7 ESTUDO DA VARIABILIDADE DE SINAIS BIOLÓGICOS.

Diversas técnicas computadorizadas têm sido usadas na análise de sinais obtidos por medidas invasivas e não invasivas, auxiliando na compreensão de interações complexas entre fatores hemodinâmicos, humorais e variáveis eletrofisiológicas e sua integração pelo sistema nervoso central e periférico(Grassi, Fiorani *et al.*, 1997; Zaza e Lombardi, 2001).

Entre esses índices, a variabilidade de sinais obtidos do sistema cardiovascular (PA, FC e/ou IP) pode ser estudada nos domínios do tempo (variância, desvio padrão, erro padrão da média) e da frequência (análise espectral).

Diversos estudos da variabilidade da PA e da FC no domínio da frequência tem mostrado a ação de diferentes mecanismos envolvidos na regulação cardiovascular (Akselrod, Gordon *et al.*, 1981; Pagani, Perduca *et al.*, 1986; Japundzic, Grichois *et al.*, 1990; Daffonchio, Franzelli *et al.*, 1995).

Neste sentido, a validação de métodos não invasivos para obtenção dos sinais de PA e da FC, tem favorecido a busca de ferramentas que forneçam dados de variabilidade. De fato, diversos estudos clínicos utilizando este tipo de análise demonstraram relação entre diminuição da variabilidade da frequência

cardíaca e o aumento do risco de mortalidade após infarto do miocárdio (Kleiger, Miller *et al.*, 1987). O mesmo resultado foi constatado em pacientes diabéticos (Bianchi, Bontempi *et al.*, 1990) e em pacientes chagásicos (Guzzetti, Iosa *et al.*, 1991), dando, assim, suporte ao uso de métodos não invasivos para medida ambulatorial da PA (Parati, Casadei *et al.*, 1989), para a avaliação da variabilidade.

Pelo exposto, vimos que o IM está associado com redução da sensibilidade do baroreflexo. Por outro lado, o prejuízo na função barorreflexa tem sido associado com redução da variabilidade da FC e, conseqüentemente, com aumento da variabilidade da PA e, ambos, com o pior prognóstico e menor sobrevivência após eventos cardiovasculares.

Da mesma forma que estudos sugerem melhora dos mecanismos de sensibilidade dos reflexos comandados pelos pressoreceptores induzidos pelo exercício físico, por exemplo, outras abordagens experimentais que podem esclarecer sobre o papel do baroreflexo na evolução das respostas fisiológicas de ajuste após IM são também necessárias.

Dessa forma, a hipótese do presente estudo foi de que o prejuízo praticamente total do baroreflexo, obtido através da desnervação sino-aórtica, exclui a resposta homeostática de ajuste às disfunções hemodinâmicas, cardíacas e autonômicas pós IM, contribuindo para a maior mortalidade dos animais durante o período de observação.

O estudo da associação de dois modelos experimentais (DSA e IM) e, o uso de ferramentas de análise de sinais para avaliação de mecanismos de regulação neural, poderá contribuir para elucidar os mecanismos pelos quais o

prejuízo da função dos pressorreceptores leva a um pior prognóstico em pacientes pós infarto do miocárdio. Além disso, o conhecimento desta complexa interação possibilitará a busca mais precisa de intervenções terapêuticas para o manejo de pacientes pós-IM.

2-OBJETIVOS.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, em ratos submetidos a DSA e/ou IM:

1- As alterações de pressão arterial, frequência cardíaca e sensibilidade do baroreflexo;

2- A variabilidade destes sinais hemodinâmicos no domínio do tempo e da frequência;

3- A mortalidade dos animais, correlacionando-a com diferentes intervenções experimentais;

4- Avaliar aspectos morfofuncionais pela ecocardiografia.

3- MATERIAIS E MÉTODOS.

3.1- ANIMAIS E GRUPOS.

Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 230 e 260g provenientes do biotério da Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos agrupados, em ambiente com temperatura controlada (22^o - 24^oC) e com luz controlada em ciclo de 12 horas (claro:escuro). Água e comida foram oferecidas de modo irrestrito, sendo que a dieta foi normoprotéica (12% de proteínas). Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais a seguir relacionados:

GRUPO I - Grupo Controle (C)- Foram acompanhados durante 90 dias (n=08).

GRUPO II - Grupo Desnervação Sino-aórtica (DSA) - A desnervação foi realizada no início do protocolo (dia 1) e os animais foram acompanhados até 105 dias (n=08).

GRUPO III - Grupo Infartado (IM)- Foi realizada a oclusão da coronária esquerda no 1^o dia de protocolo, sendo os animais acompanhados por 90 dias de protocolo (n=08).

GRUPO IV - Grupo Desnervação Sino-aórtica/ Infartado (DSA+MI) – A DSA foi realizada no dia 1 e a oclusão coronariana 15^o dia, seguindo-se o acompanhamento dos animais por 90 dias pós IM. (n=08).

3.2- DESNERVAÇÃO SINO-AÓRTICA.

Foi utilizado o método de desnervação sino-aórtica (DSA) descrito para o rato por (Krieger, 1964), que consiste em uma incisão mediana na região cervical anterior , separação dos músculos pré-traqueais e localização bilateral do feixe vaso nervoso , constituído pela artéria carótida, nervo vago e tronco simpático. As fibras pressorreceptoras aórticas, que trafegam junto ao tronco simpático ou como nervo isolado, foram seccionadas. O outro contingente de fibras aórticas que situava-se junto ao laringeo inferior foi interrompido quando seccionou-se o laringeo superior ou como fibras isoladas junto ao laringeo inferior (Krieger e Marseillan, 1963). Em um plano superior, a bifurcação da carótida comum foi localizada, exposta e dissecada completamente nos dois lados (seccionando-se as fibras carotídeas e destruindo-se o corpúsculo carotídeo). Logo após, o nervo laringeo superior foi seccionado bilateralmente.

3.3. INFARTO DO MIOCÁRDIO.

Os animais foram pesados e anestesiados com uma mistura de Ketamina (80 mg/kg) e Xilazina (12mg/kg) por via intraperitoneal e foram colocados em decúbito dorsal e entubados (Gelko-14G). Um pequeno corte foi realizado na pele e os músculos peitorais afastados. O animal foi submetido a respiração artificial e foi realizada uma toracotomia esquerda no quarto espaço intercostal, sendo colocado um afastador entre as costelas para permitir a melhor visualização. O pericárdio foi seccionado e o átrio esquerdo afastado para visualização da artéria coronária esquerda. Esta foi ligada (fio mononylon 6.0) provocando a isquemia miocárdica.

Após a ligadura da coronária a incisão torácica foi fechada (fio mononylon 5.0) e o pneumotorax retirado mediante a sucção do ar com uma agulha (5x7) conectado a uma seringa de 10ml. Logo após, o animal foi retirado da ventilação artificial e estimulada a respiração. Os músculos afastados foram reposicionados pela pele suturada (fio mononylon 4.0). Os animais receberam 30000 UI de benzilpenicilina benzatina (Penretard, Cibran, Tanquá, RJ, Brasil, i.m.) e colocados em ambiente aquecido para recuperação.

3.4. ECODOPPLERCARDIOGRAMA.

O ecodopplercardiograma foi realizado nos grupos estudados após 90 dias de protocolo.

Após anestesia com uma solução intra-peritoneal Ketamina (80 mg/kg) e Xilazina (12mg/kg), os animais tiveram a região torácica devidamente tricotomizada e foram mantidos em decúbito lateral para a realização do exame no aparelho SEQUOIA 512 (ACUSON, Corporation, Mountain View, CA- EUA), com transdutor linear multifreqüencial (10-14mHz), que permite imagens bidimensional e monodimensional simultâneas, além da análise de fluxo por efeito Doppler espectral eletrocardiográfico, mediante a colocação de três eletrodos para a derivação DII. A profundidade de imagem trabalhada foi de 2cm.

Foram utilizadas as janelas longitudinais paraesternal direita para a obtenção dos cortes longitudinal e transversal e a longitudinal paraesternal esquerda para a obtenção dos cortes apical (duas, quatro e cinco câmaras). As medidas lineares foram realizadas nas imagens obtidas pelo modo-M, conforme SCHILLER e cols. (1979), com as seguintes medidas: cavidade do VE ao final da diástole (VEDIA), a massa ventricular esquerda (MVE) foi então, obtida a partir da fórmula: $1,047 \times [(SIVDIA+VEDIA+PPDIA)^3 - VEDIA^3]$ onde: 1,047 representa a densidade do miocárdio, validada em ratos (FARD *et al.*, 2000). Destas medidas, obtivemos valores absolutos e corrigidos pelo peso corporal (valor absoluto/peso corporal do animal) somente para a MVE. Também foram feitas medidas de área e eixo longitudinal do VE. Tais medidas morfométricas, foram fornecidas pelo Modo-M, sempre guiado pelo modo bidimensional.

A função sistólica foi avaliada pela fração de ejeção (FE%) pelo método Simpson modificado, por se mostrar mais fidedigno em corações infartados e pela velocidade de encurtamento circunferencial (VEC-circ/seg), cujas fórmulas estão a seguir:

Simpson modificado :

$$V = \left(\frac{\pi}{4}\right) \sum_{i=1}^{20} a_i b_i \times \left(\frac{L}{20}\right)$$

onde L = comprimento do ventrículo esquerdo dividido em 20 discos (i= 1 a i= 20) da base ao ápice, com o diâmetro de cada disco determinado em duas visões apicais (a e b). Com este procedimento feito tanto na diástole como na sístole, obtivemos os respectivos volumes (diastólico e sistólico), o quê permitiu o cálculo da fração de ejeção : FE = (volume diastólico final – volume sistólico final / volume diastólico final) x 100% . Desta maneira também obtivemos as medidas do comprimento do ventrículo, assim como a área do mesmo.

VEC = (VEDIA-VESIS)/(VEDIA x TE), onde TE = tempo de ejeção

A função diastólica foi avaliada utilizando-se os índices derivados da curva de velocidade de fluxo diastólico mitral e do fluxo sistólico da via de saída do ventrículo esquerdo obtidos pela técnica de Doppler pulsátil. A curva de velocidade do fluxo diastólico foi obtida a partir da imagem apical quatro câmaras, posicionando-se o volume-amostra próximo à face ventricular da valva mitral. Foram determinadas: relação E/A - razão entre a velocidade máxima da onda E e a velocidade máxima da onda A; d) tempo de desaceleração da onda E (DESAC.E) – tempo, em milissegundos (ms) entre o pico da onda E e o ponto em

que a rampa de desaceleração intercepta a linha de base da curva de velocidade do fluxo diastólico mitral. A curva de velocidade dos fluxos para análise do tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) foi obtida posicionando-se o volume-amostra numa posição intermediária entre a valva mitral e a via de saída do ventrículo esquerdo. Foi determinado o TRIV em ms, entre o final do fluxo sistólico na via de saída do ventrículo esquerdo e o início do fluxo diastólico mitral. O DESAC.E e o TRIV, posteriormente, foram corrigidos pela frequência cardíaca ($DESAC.E_{CORR}$ e $TRIV_{CORR}$), dividindo-se seus valores pela raiz quadrada dos respectivos intervalos R-R.

Entretanto, além das avaliações das funções sistólica e diastólica em separado, foi utilizado um outro método de avaliação funcional combinado, o índice de desempenho miocárdico (IPM), derivado de intervalos obtidos pelo Doppler pulsátil. Validado em camundongos por Broberg *et. al.*(2003). Todas as medidas seguiram as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia.

3.5- CANULAÇÃO.

No dia seguinte a avaliação ecocardiográfica os animais foram anestesiados com ketamina (80 mg.kg^{-1}) e xilazina (12 mg.kg^{-1}) para colocação de cânulas de polietileno (PE-10, com diâmetro interno de 0,01 mm conectadas a uma peça de PE-50, com diâmetro interno de 0,05 mm). As cânulas foram preenchidas com soro fisiológico e posicionadas no interior da artéria e veia femurais esquerdas para registro da PA, frequência cardíaca e administração de drogas, respectivamente. A extremidade a ser conectada ao transdutor de pressão foi fechada com pinos de aço inoxidável. As extremidades das cânulas de menor calibre (PE-10) foram introduzidas na luz das artéria e veia femurais (Figura.1 e 2). As cânulas foram fixadas com fio de algodão, na artéria e na veia e suas extremidades mais calibrosas foram passadas subcutâneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical, fixadas com fio de algodão na pele. Após o término da cirurgia os animais foram tratados com uma única injeção de penicilina (Benzetacil ®, Fontoura-Wyeth, 60.000 U).

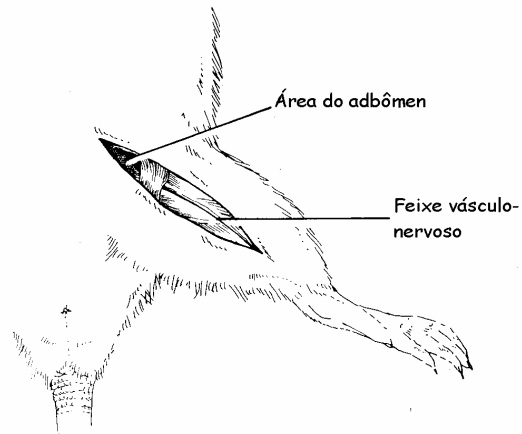


Figura 1 – Sítio de dissecção para a cateterização da artéria femoral.

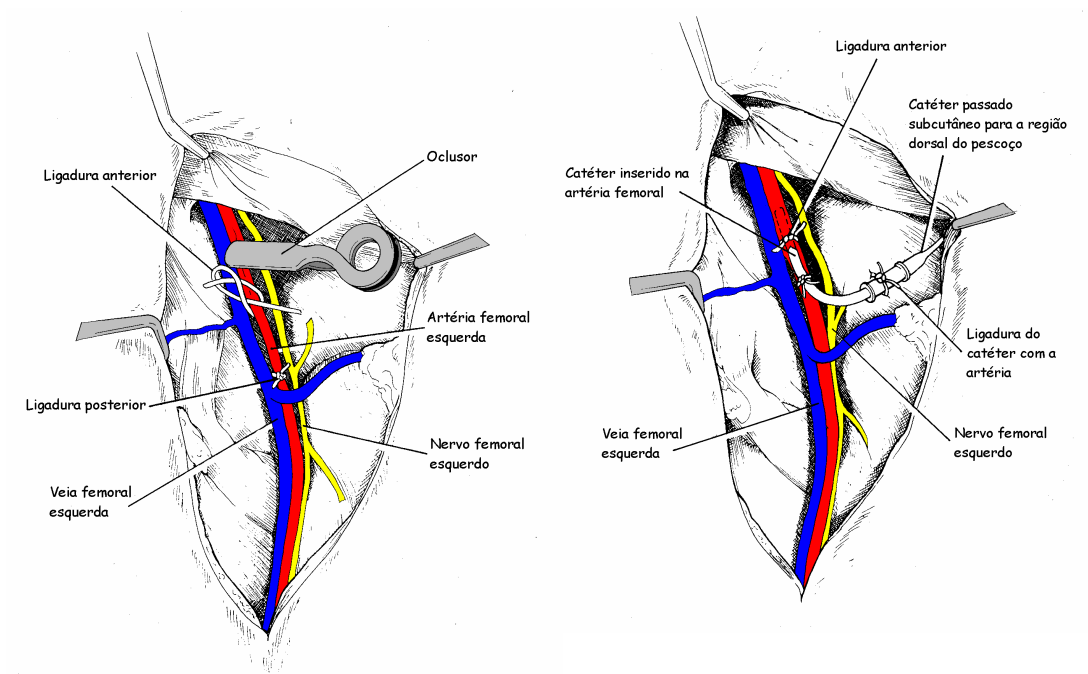


Figura 2 – Isolamento da artéria femoral e inserção do cateter.

3.6- MEDIDAS DE PRESSÃO ARTERIAL, INTERVALO DE PULSO, LABILIDADE DA PA E VARIABILIDADE DO INTERVALO DE PULSO.

Vinte e quatro horas após a cirurgia de canulação, os registros de pressão pulsátil, com duração de 30 minutos, forneceram valores diretos da pressão arterial em todos os grupos experimentais. A cânula arterial foi conectada a um tubo de polietileno (PE 50) e este a um transdutor eletromagnético (P23 Db; Gould-Statham) que, por sua vez, foi conectado a um amplificador (General Purpose Amplifier-Stemtech, Inc.). O sinal analógico da pressão arterial foi convertido para digital (Stemtech, Inc.), registrado em tempo real em microcomputador com sistema CODAS, com frequência de amostragem de 2000Hz por canal (figura 3).

A análise dos sinais de pressão foi realizada utilizando-se um programa comercial associado ao sistema de aquisição. Este programa permitiu a detecção de máximos e mínimos da curva de pressão batimento a batimento, fornecendo os valores de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) pela integral da área sob a curva no tempo. A frequência cardíaca pelo intervalo de pulso (IP) foi determinada a partir do intervalo entre dois picos sistólicos. Os resultados foram apresentados em valores médios e desvios padrões dos períodos em que os dados foram analisados para PA e FC. As planilhas de dados obtidas foram analisadas em programa comercial para análise (Excel 5.0), onde se calcularam a média e desvio padrão da PAM, PAS, PAD e para cada animal. A labilidade da PA foi calculada, utilizando-se a média dos desvios padrões de cada animal estudado.

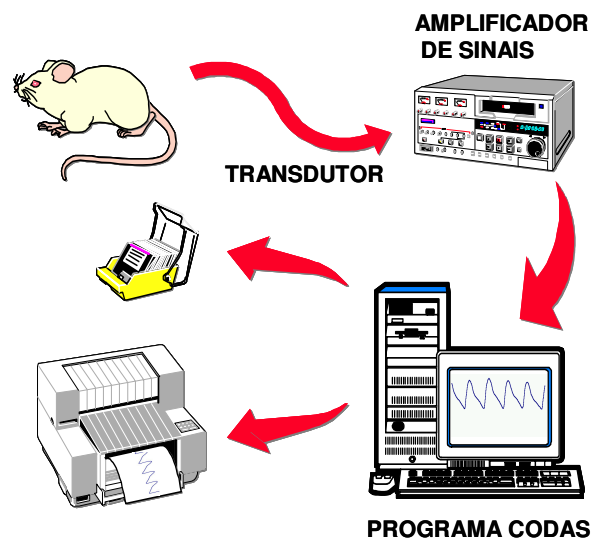


Figura 3 - Esquema do sistema de registro de Pressão Arterial.

3.7 VARIABILIDADE NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA (ANÁLISE ESPECTRAL MODELAMENTO AUTO-REGRESSIVO).

Cada batimento cardíaco foi identificado através da utilização de algoritmo implementado no Windaq/DATAQ, que automaticamente realizou a detecção dos intervalos de pulso, do evento sistólico da onda do sinal de pressão arterial. Após esta leitura automática foi realizada uma verificação por inspeção visual, para identificar e/ou corrigir alguma marcação não correta. Em seguida foi gerada a série temporal de cada sinal a ser estudado, isto é, o intervalo de pulso cardíaco (tacograma) e da pressão arterial sistólica (sistograma). Quando necessário, utilizávamos a interpolação linear da série tacograma e sistograma, para retirarmos as distorções indesejáveis. Os dados foram armazenados em arquivos em formato texto e utilizados, posteriormente, em um programa de análise espectral autorregressiva linear 24 horas, o qual detectou a frequência central, número e potência de cada componente (Pagani M, 1986; Pagani M, 1997). A faixa de frequência de interesse para análise espectral no rato encontra-se no intervalo que vai de 0 até 3Hz.

A potência espectral foi integrada em três faixas de frequência de interesse: altas frequências (HF), entre 0,75 e 3,0 Hz; baixas frequências (LF), entre 0,20 e 0,75 Hz e muito baixas frequências (VLF), menores que 0,20 Hz. Devido ao nosso tempo de coleta dos sinais de interesse para a análise espectral, esse estudo não aborda as faixas de muito baixas frequências (VLF).

3.8 AVALIAÇÃO DO REFLEXO PRESSORRECEPTOR.

Feito o registro da PA, os animais permaneciam em condições de repouso por 15 minutos. Logo após, a sensibilidade dos pressorreceptores era testada através da infusão de fenilefrina e logo após, nitroprussiato de sódio.

A fenilefrina (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente estimulador α_1 , cuja ação predominante é a vasoconstrição das arteríolas periféricas, foi injetada em doses crescentes na cânula da veia femural. Tal fármaco foi utilizado, portanto, para causar aumento da pressão arterial, efeito que provoca bradicardia reflexa subsequente, comandada pelos pressorreceptores.

Efeito contrário, qual seja, redução da pressão arterial com resposta taquicárdica, também comandada pelos pressorreceptores, foi provocado pela injeção doses crescentes de nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente vasodilatador tanto de arteríolas como de veias, cuja ação se dá por meio da ativação da guanilato ciclase e aumento da síntese de 3', 5'-guanosina monofosfato (GMP cíclico) na musculatura lisa dos vasos e outros tecidos.

Para avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores, o pico máximo ou mínimo da PAM foi reduzido dos valores de PAM do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da frequência cardíaca foi reduzida dos valores de frequência cardíaca do período controle, imediatamente antes da infusão das drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade baroreflexa foi

avaliada pelo índice calculado através divisão da variação da FC pela variação da PAM (ITR = índice de taquicardia reflexa e IBR= índice de bradicardia reflexa).

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Após a formação de cada grupo estudado, vinte animais em cada grupo foram acompanhados durante 90 dias e após cada evento de morte relatado, foi aplicado o método de Kaplan Maier. Valores de $p < 0.05$ foram considerados significativos.

Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão. O teste t de Student e o teste de análise de variância (ANOVA) two way seguido do teste complementar de Student Newumann Keuls foram devidamente aplicados para análise dos dados. Valores de $p < 0.05$ foram considerados significativos. O teste de regressão linear foi utilizado para testar correlações entre dois indivíduos.

5 RESULTADOS:

5.1 AVALIAÇÕES ECOCARDIOGRÁFICAS.

5.1.1 MORFOMETRIA.

A Tabela 1 apresenta os parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo (VE) dos animais do controle, IM, DSA e DSA+IM. Quando avaliada a cavidade do VE em diástole (LVDIA), não verificamos diferença entre os quatro grupos. A massa do ventrículo esquerdo foi maior nos animais DSA+IM quando comparado ao grupo controle e IM. Porém, no grupo DSA houve um pequeno aumento, porém não foi diferente dos grupos controle, IM e DSA+IM. A massa do ventrículo esquerdo quando corrigida pelo peso corporal foi maior nos grupos DSA e DSA+IM em relação aos grupos controle e IM. Não houve diferença entre os grupos DSA e DSA+IM.

Quando analisamos a área do ventrículo esquerdo em diástole observamos um aumento da área nos grupos IM e DSA+IM em relação ao grupo controle e DSA. Não foi encontrada diferença entre os grupos IM e DSA+IM.

Outra análise morfométrica feita foi a do eixo maior do ventrículo esquerdo na diástole no qual foi observado um aumento nos grupos IM, DSA e DSA+IM em comparação ao grupo controle.

Tabela 1 – Parâmetros ecocardiográficos de morfometria nos animais do grupo controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e DSA+IM.

	Controle	IM	DSA	DSA+IM
LVDIA (cm)	0,72±0,02	0,85±0,03	0,71±0,01	0,80±0,01
MVE (g)	0,61±0,04	0,66±0,03	0,77±0,04	0,85±0,04*#
MVE Corr (g/Kg)	1,11±0,04	1,18±0,04	1,65±0,08*#	1,84±0,1*#
Área VE diast(cm)	0,84±0,03	1,13±0,03*	0,88±0,02#	1,09±0,02*†
Eixo Maior VE(cm²)	1,28±0,02	1,44±0,02*	1,44±0,06*	1,52±0,01*

Valores expressos como média ± erro padrão da média. * p<0,05 vs. C; # p<0,05 vs. IM; † p<0,05 vs. DSA. Massa do ventrículo esquerdo (MVE) absoluta e corrigida pelo peso corporal (MVE corr.); Cavidade do ventrículo esquerdo em diástole (LVDIA); Área do ventrículo esquerdo na diástole (Área VE diast); Eixo maior do ventrículo esquerdo (Eixo Maior VE).

5.1.2) FUNÇÃO SISTÓLICA.

Na Tabela 2 estão apresentados os índices de função sistólica: fração de ejeção (FE (%)) e velocidade de encurtamento circunferencial (VEC (circ/seg)), nos animais controle, IM, DSA e DSA+IM.

Foi verificada uma redução na FE nos grupos IM e DSA+IM quando comparados aos grupos Controles e DSA. A VEC diminuiu nos grupos IM e DSA+IM em relação aos grupos controles e DSA.

Tabela 2 – Parâmetros ecocardiográficos de função sistólica nos animais do grupo controle , infartado(IM), desnervado (DSA) e associação da desnervação com infarto(DSA+IM).

	Controle	IM	DSA	DSA+IM
FE(%)	72±1	42±3*†	75±1	43±3*†
VCF(circ/s)	0,0050±0,0003	0,0035±0,0002*†	0,0052±0,0001	0,0039±0,0003*†

Valores expressos como média ± erro padrão da média. * p<0,05 vs. GC; # p<0,05 vs. IM; † p<0,05 vs. DSA; • p<0,05. Fração de ejeção (FE); Velocidade de encurtamento circunferencial (VEC).

5.1.3) FUNÇÃO DIASTÓLICA

Como observados na Tabela 3 os valores de tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV corr.), e desaceleração do pico E (desac. E corr.) corrigidos pela FC, e a relação E/A (rel. E/A) não apresentaram diferenças entre os grupos estudados.

Tabela 3 – Parâmetros ecocardiográficos de função diastólica nos grupos controle , infartados (IM), desnervados (DSA) e desnervados/infartados (DSA+IM).

	Controle	IM	DSA	DSA+IM
TRIV corr(ms)	2,03±0,1	1,887±0,06	2,05±0,05	2,15±0,05
DESAC E CORR (ms)	1,81±0,09	2,11±0,12	2,02±0,11	2,15±0,16
Relação E/A	1,61±0,14	2,54±0,39	1,4±0,06	1,46±0,01

Valores expressos como média \pm erro padrão da média. Tempo de relaxamento isovolumétrico corrigido (TRIV corr.); Desaceleração do pico E corrigido (desac. E corr.) e relação E/A (rel.E/A).

5.1.4)– AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRAFICA DA FUNÇÃO GLOBAL

A avaliação da função global do coração nos grupos experimentais foi feita através do índice de performance miocárdica (IPM).

Os valores do IPM foram maiores nos grupos IM e DSA+IM em relação ao grupo controle. O IPM do animal IM também foi maior que no grupo DSA. (figura.4)

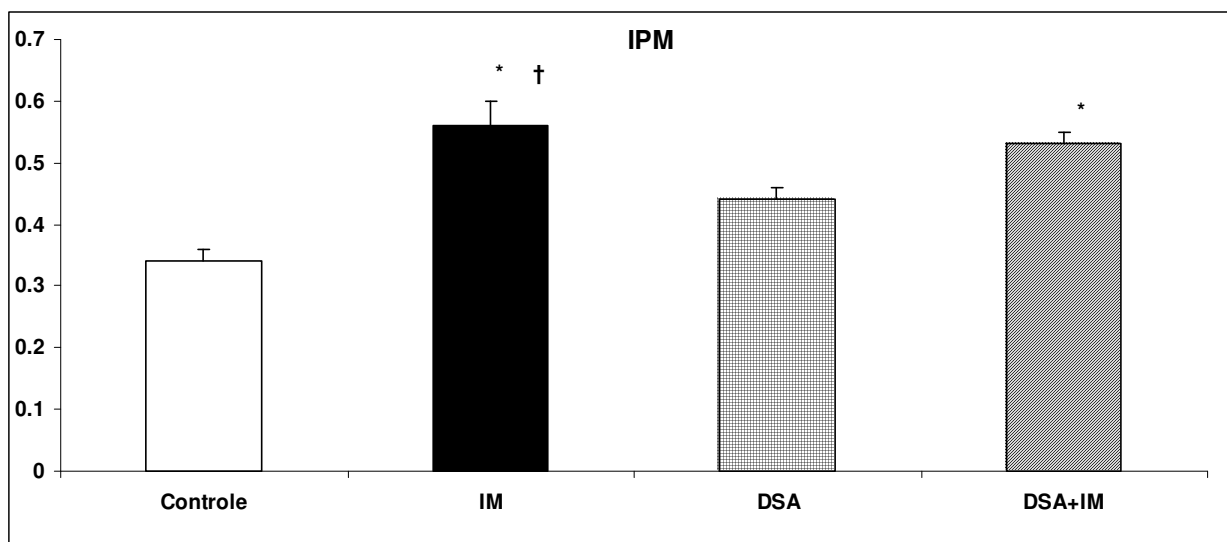


Figura 4 – Índice de performance miocárdica (IPM) nos animais do grupo controle , Infartados (IM), desnervados (DSA) e desnervado/infartado (DSA+IM). * $p < 0,05$ vs. Controle; † $p < 0,05$ vs. DSA

5.1.5)- AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA DA ÁREA INFARTADA

O percentual da área de infarto no ventrículo esquerdo não foi diferente entre os animais Infartados (IM) e desnervados/infartados (DSA+IM).

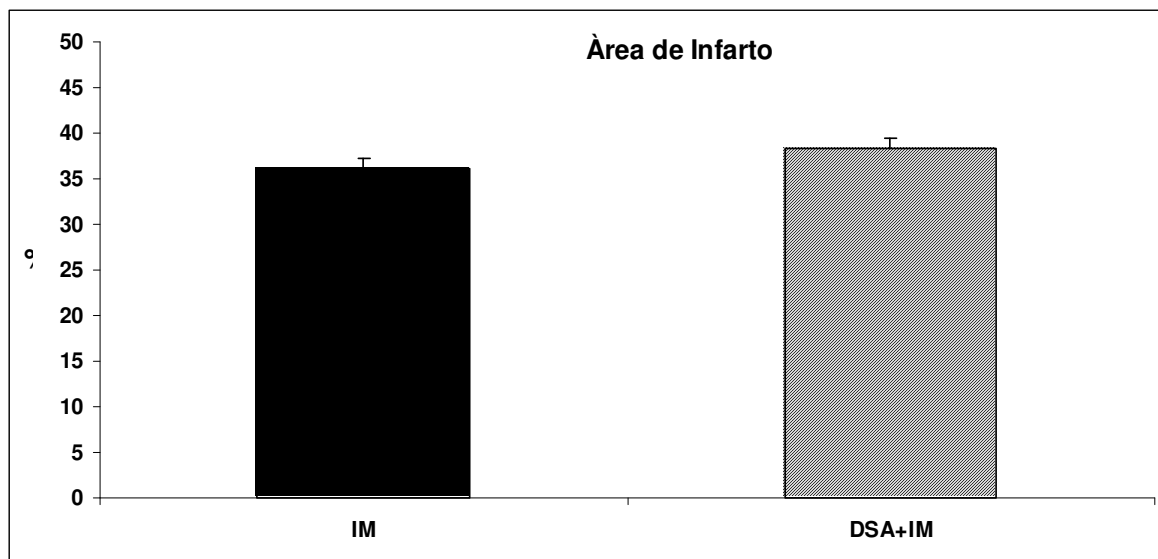


Figura 5 – Área infartada do ventrículo esquerdo nos animais do grupo Infartados (IM) e desnervado/infartado (DSA+IM).

5.2- AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS.

5.2.1) PRESSÃO ARTERIAL.

A tabela 4 mostra que o IM, após 90 dias de acompanhamento, reduziu a PAS. O mesmo não foi observado nos grupos DSA e a associação da DSA com o IM.

Tabela 4. Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial média (PAM) e pressão arterial diastólica PAD nos grupos C, IM, DSA e DSA+IM.

	CONTROLE	IM	DSA	DSA+IM
PAS (mmHg)	129±2,60	117±4,20*#†	130±4,10	131±2,21
PAM (mmHg)	111±4,47	104±5,32	111±4,55	111±2,69
PAD (mmHg)	92±4,43	90±4,74	97±5,8	96±2,84

Valores expressos com média e erros±padrões da média (SEM) dos ratos controles, IM, DSA e DSA + IM. ANOVA two way, pos hoc Student Newman Keuls.*p>0.05 vs. controle #; p>0.05 vs. DSA; †p>0.05 vs. DSA+IM

5.2.2) INTERVALO DE PULSO (IP).

A análise da frequência cardíaca pelo intervalo de pulso, expresso em milisegundos (ms), não foi significativamente diferente entre os grupos controle ($162,78 \pm 5,14$), IM ($167,13 \pm 7,13$), DSA ($179,64 \pm 3,6$) e DSA com IM ($174,09 \pm 3,6$). (figura 6)

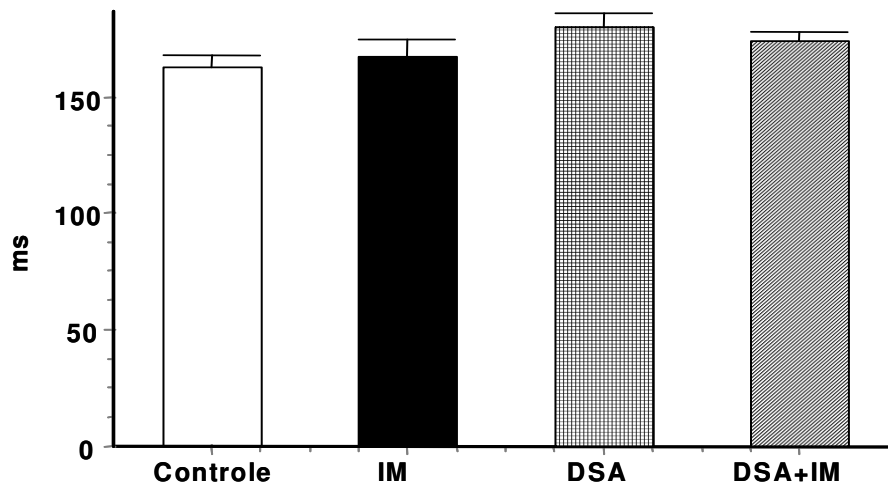


Figura 6. Frequência cardíaca (FC) expressa pelo intervalo de pulso (IP).nos grupos controle, infartado (IM), desnervados (DSA) e associação da

desnervação sino-aórtica com infarto (DSA+IM), expressos pelos valores médios e erro padrão. Anova Two way, pos hoc Student Newman Keuls.

5.2.3) AVALIAÇÃO DO BARORREFLEXO.

a) Resposta taquicárdica

A resposta taquicárdica, induzida pela injeção de doses crescentes em bolus de nitroprussiato de sódio, foi significativamente menor nos grupos IM, DSA e associação da DSA+IM quando comparados com o grupo controle.

O grupo DSA e associação da DSA+IM mostraram respostas taquicárdicas significativamente menores quando comparado ao grupo infartado, porém não houve diferença significativa entre os grupos DSA e DSA+IM (figura 7).

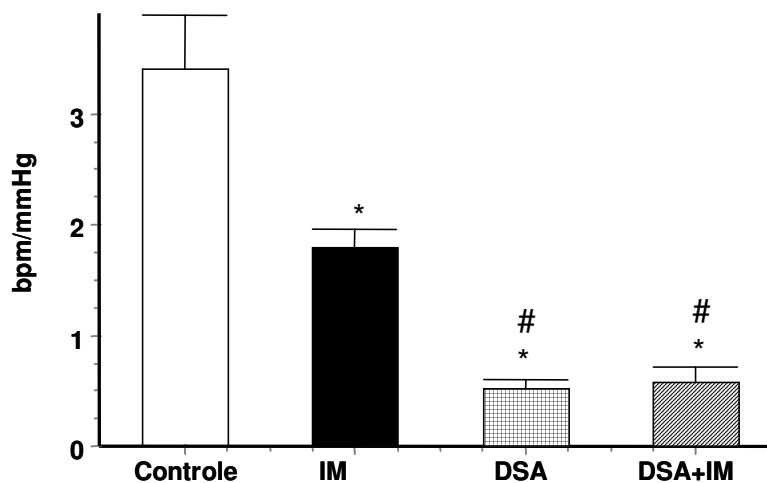


Figura 7. Sensibilidade barorreflexa avaliada pela resposta taquicárdica nos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação e infarto (DSA+IM), expressa em bpm/mmHg. Anova Two-Way, pos hoc Student Newman Keuls.*p<0.05 com relação ao controle; #p<0.05 com relação ao IM.

b) Resposta bradicárdica:

A bradicardia reflexa induzida pela injeção de doses crescentes de fenilefrina apresentou-se diminuída nos grupos IM, DSA e DSA+IM quando comparados ao controle.

Os grupos DSA e DSA+IM apresentaram uma resposta bradicárdica significativamente menor do que o grupo infartado, porém não houve diferença na comparação dos grupo DSA e DSA+IM (figura 8).

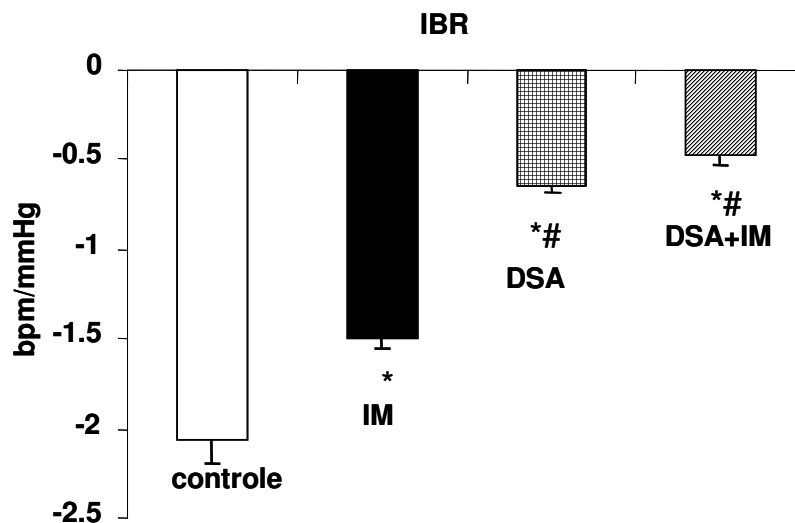


Figura 8. Sensibilidade barorrelexa avaliada pela resposta bradicárdica nos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação com o infarto (DSA+IM), expressa em bpm/mmHg. Anova Two Way pos hoc Student Newman Keuls.* $p < 0.05$ com relação ao controle; # $p < 0.05$ com relação ao IM.

5.2.4- VARIABILIDADE NO DOMÍNIO DO TEMPO.

A variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS) e da frequência cardíaca pelo intervalo de pulso (VIP) no domínio do tempo foi expressa através da média dos desvios padrões, em tempos iguais (10 minutos).

2.1) Variabilidade da pressão arterial sistólica:

A VPAS apresentou-se aumentada nos grupos DSA ($13,08 \pm 0,91$ mmHg) e DSA+IM ($13,08 \pm 1,5$ mmHg) quando comparados ao grupo controle ($6,14 \pm 0,84$ mmHg), porém não modifica-se significativamente no grupo infartado ($9,17 \pm 1,4$ mmHg). Não houve diferença estatística da VPAS entre os grupo IM, DSA e DSA+IM. (figura 9).

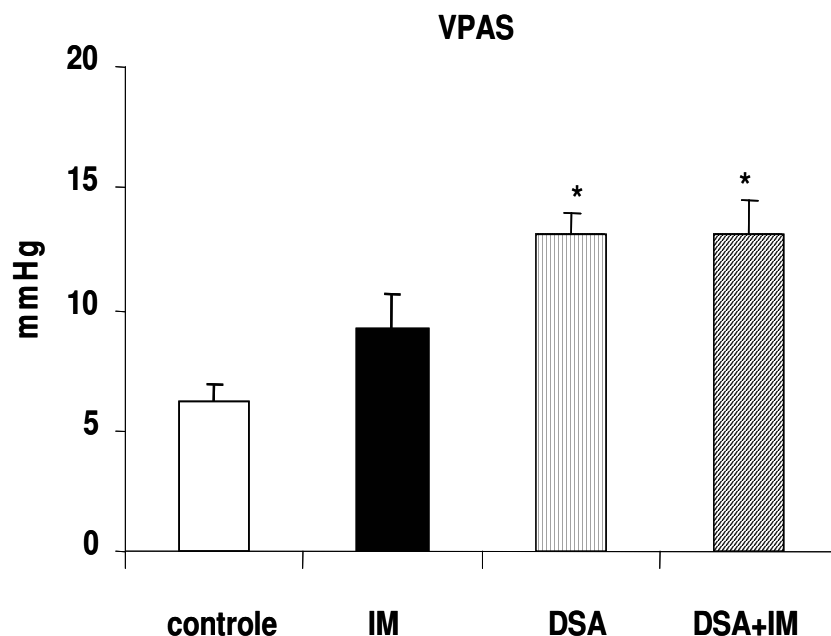


Figura 9. Variabilidade da pressão arterial sistólica dos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação com o infarto (DSA+IM) , expressa pela média do desvio padrão. Anova Two –Way, pos hoc Student Newman Keuls.*p>0.05 vs. controle.

5.2.5) VARIABILIDADE DA FC (VFC).

A VFC expressa pelo intervalo de pulso, apresentou-se diminuída nos grupos IM ($11,72 \pm 1,6$ ms), DSA ($19,71 \pm 3,4$ ms) e DSA+IM ($12,87 \pm 1,38$ ms) quando comparado ao grupo controle ($23,65 \pm 0,87$ ms). A associação da desnervação sino-aórtica e infarto (DSA+IM) induziu efeito adicional na redução da variabilidade da frequência cardíaca quando comparado a DSA e ao IM isoladamente.(Figura 10)

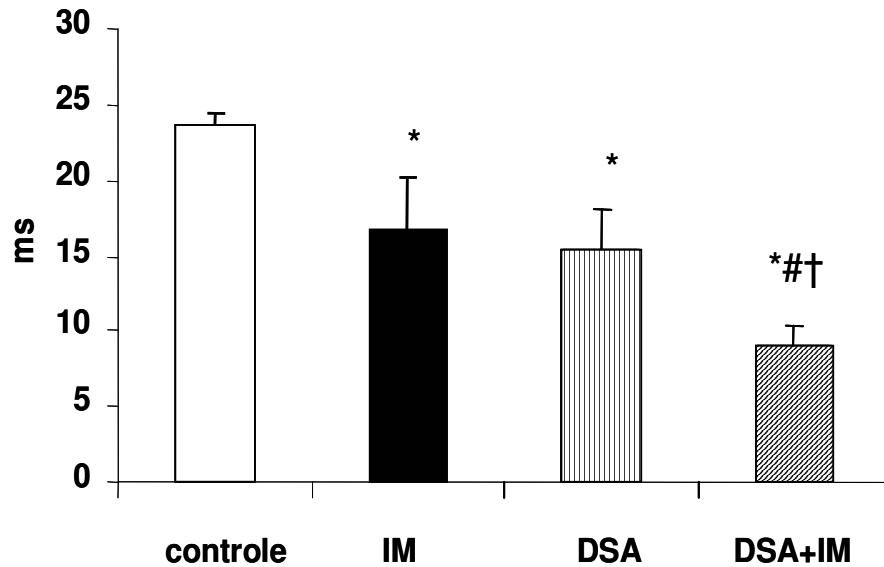


Figura 10. Variabilidade do intervalo de pulso no domínio do tempo, dos grupos controle, infartados (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação e infarto (DSA+IM). Anova Two-Way pos hoc Student Newman Keuls. * $p < 0.05$ vs. controle. ;# $p < 0.05$ vs. IM ;† $p < 0.05$ vs. DSA

5.3- VARIABILIDADE NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA.

A variabilidade no domínio da frequência (análise espectral) da PAS e da frequência cardíaca representada pelo intervalo de pulso (IP) foi expressa pela densidade espectral em mmHg^2 , para sistograma (PAS) e ms^2 para tacograma (IP).

Tanto para o sistograma quanto para o tacograma foram comparados potências de baixa frequência (LF), quanto de alta frequência (HF).

5.3.1) BANDA DE BAIXA FREQUÊNCIA NO SISTOGRAMA.

Foi observado um aumento significativo na banda de LF no sistograma (mmHg) nos grupos IM ($6,41 \pm 0,4$), DSA ($9,14 \pm 2,1$) e DSA+IM ($7,68 \pm 1,2$) quando comparado ao controle ($3,01 \pm 0,5$), porém não houve diferença estatística entre os grupos IM, DSA e DSA+IM. (Figura 11)

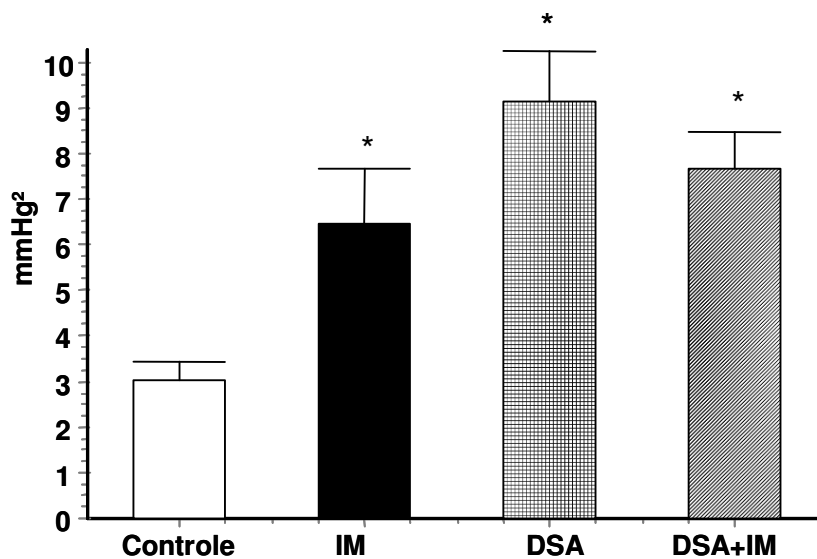


Figura 11. Banda de LF do sistograma nos grupos controle, infarto do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação do grupo desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio DSA+IM. Anova Two-Way, pos hoc Student Newman Keuls. * $p < 0.05$ vs. controle.

5.3.2) BANDA DE ALTA FREQUÊNCIA (HF) NO SISTOGRAMA.

Não foi constatada diferença estatística na banda de HF (mmHg^2) entre os grupos controle ($1,68 \pm 0,29$), IM ($2,27 \pm 0,58$), DSA ($2,32 \pm 0,59$) e DSA+IM ($2,19 \pm 0,33$) (Figura 12).

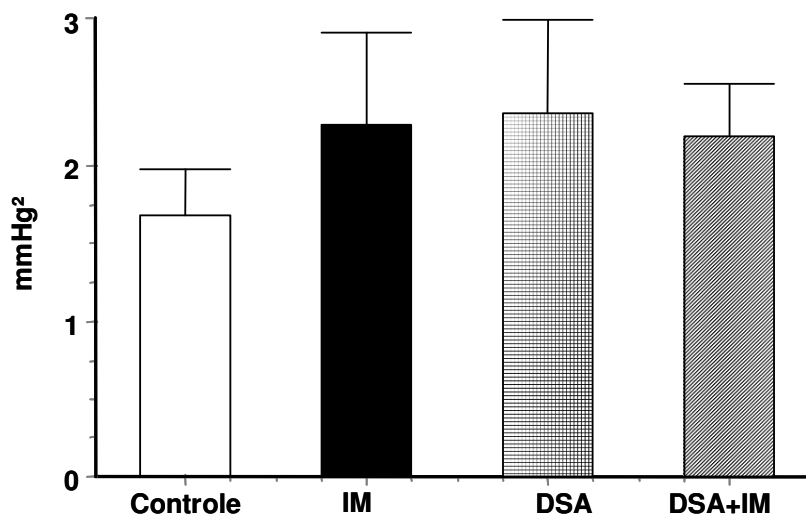


Figura 12. Banda de alta frequência (HF) do sistograma nos grupos controle, infarto agudo do miocárdio (IM), desnervados (DSA) e associação da desnervação e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM). Anova Two-Way, pos hoc Student Newman Keuls.

5.3.3- BANDA DE BAIXA FREQUÊNCIA (LF) NO TACOGRAMA.

Em todos os grupos experimentais (IM $2,02 \pm 0,28$, DSA $1,73 \pm 0,43$ e DSA+IM $0,75 \pm 0,26$) foi observado uma diminuição significativa da banda de LF (ms^2/Hz) em relação ao grupo controle ($3,9 \pm 0,69$).

Quando comparamos DSA, IM e DSA+IM não foram encontradas diferenças.(figura 13)

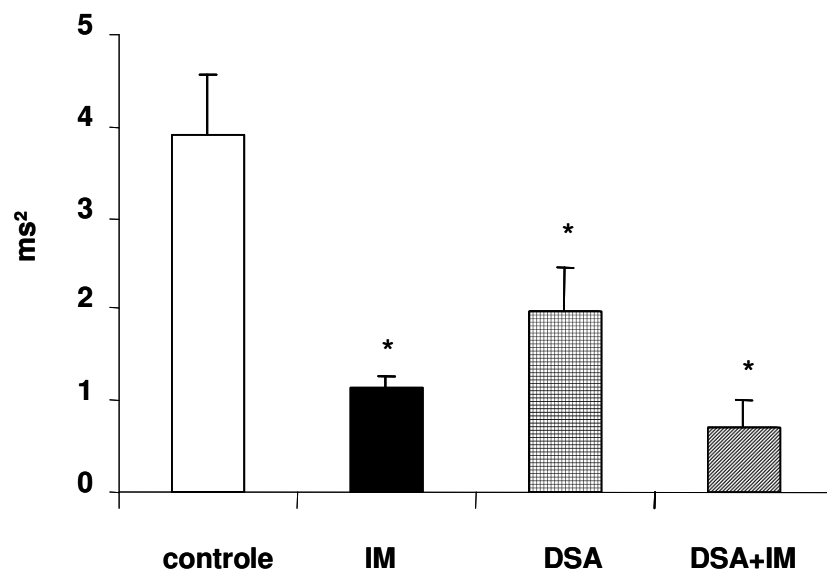


Figura 13. Valores absolutos da potência de LF no tacograma nos grupos controle, infarto do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação da desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM) Anova Two-Way, pos hoc Student Newman Keuls.* $p < 0,05$ vs. controle

5.3.4- BANDA DE ALTA FREQUÊNCIA (HF) NO TACOGRAMA.

Os valores absolutos da banda de HF no (ms^2) tacograma não foram estatisticamente diferente nos grupos controle ($13,64 \pm 0,64$), IM ($6,69 \pm 0,99$), DSA ($9,2 \pm 1,6$) e DSA+IM ($7,6 \pm 0,8$) embora tenha sido observada uma pequena diminuição da banda de HF nos grupos IM e DSA+IM.(Figura 14)

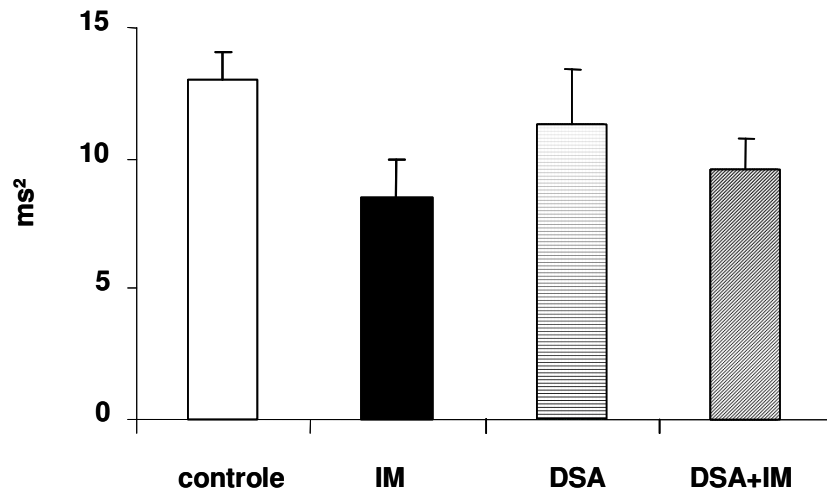


Figura 14 Valores absolutos da banda de alta frequência (HF) nos grupos controle, infarto agudo do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação da desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM). Anova Two Way, pos hoc Student Newman Keus.

5.3.5- VALORES NORMALIZADOS DA BANDA DE LF TACOGRAMA (MS^2).

Os valores de potência da banda de LF, expressas por Unidades Normalizadas (NU), mostraram-se reduzidos nos grupos IM ($15,5 \pm 1,4$), DSA

(15,37±1,6) e DSA+IM (7,66±2,13) quando comparados ao grupo controle (23,33±1,6).

A associação do IM com a DSA+IM induziu redução maior quando comparado aos grupos IM e DSA.

Não houve diferença estatística na comparação das potências normalizadas entre os grupos IM e DSA.(figura 15)

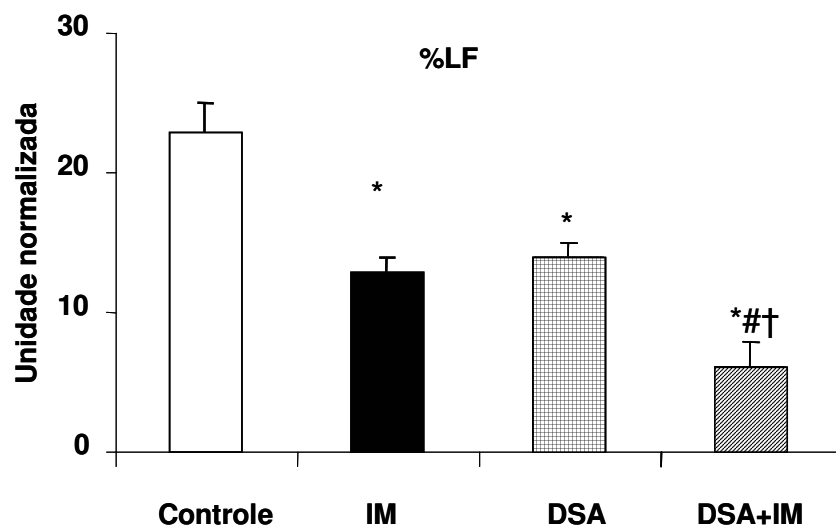


Figura15. Valores das potências normalizados da banda de baixa frequência (LF) do IP nos grupos controle, infarto do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação da desnervação sino-aórtica e infarto do miocárdio (DSA+IM). Anova Two Way pos hoc Student Newman Keuls.* p<0.05 vs. controle; .#p<0.05 s. IM; †p<0.05 vs. DSA

5.3.6-VALORES NORMALIZADOS (NU) DA BANDA DE HF.

Os valores absolutos da potência de HF, expressos por unidade normalizada (NU), aumentaram significativamente nos grupos IM (84,5±1,43), DSA(84,63±2,1) e DSA+IM (92,34±1,54) quando comparados ao grupo controle (76,67±2,13).

Os valores das potências normalizados do grupo DSA+IM apresentaram-se maiores estatisticamente quando comparados aos grupos IM e DSA.

IM e DSA não foram diferentes entre si. (figura 16)

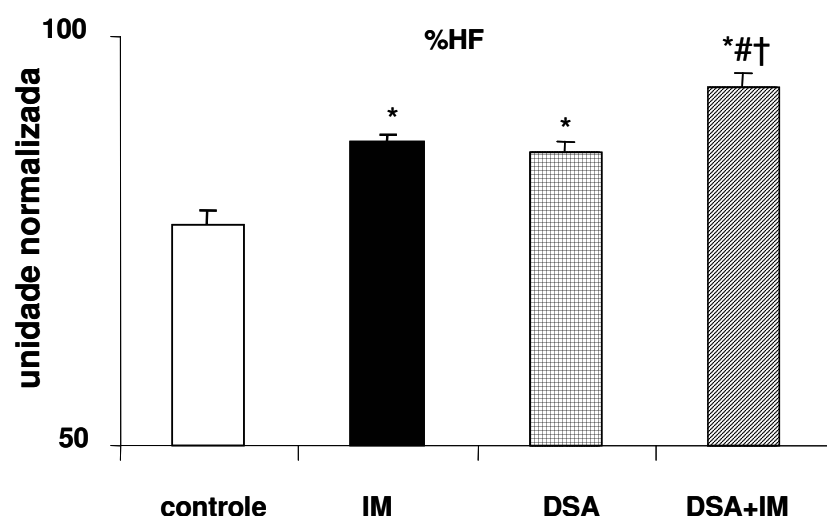


Figura 16. Valores de potência normalizados da banda de baixa frequência (HF) nos grupos controle, infarto agudo do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e associação da desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM). Anova Two Way pos hoc Student Newman Keuls. *p<0.05 vs. Controle; #p<0.05 vs. IM; †p<0.05 vs. DSA

5.3.7- BALANÇO AUTONÔMICO (LF/HF TACOGRAMA).

Os valores do balanço autonômico apresentaram-se reduzidos nos grupos IM ($0,19\pm 0,019$), DSA ($0,17\pm 0,14$) e DSA+IM ($0,08\pm 0,01$), quando comparados ao grupo controle ($0,3\pm 0,02$)

Houve queda significativa nos valores do balanço no grupo DSA+IM quando comparado aos grupo IM e DSA.

Não foi apresentada diferença estatística na comparação entre os grupos IM e DSA. (figura 17)

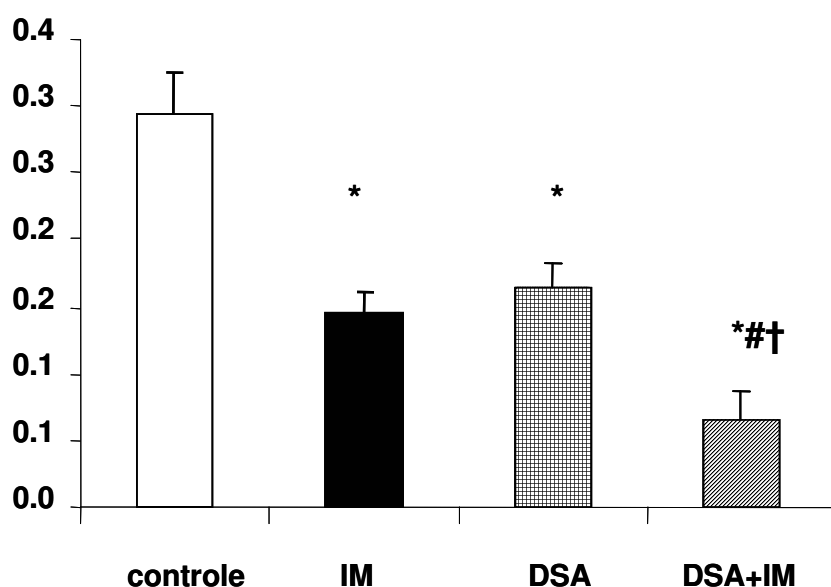


Figura 17 Balanço autonômico (LF/HF tacograma) nos grupos controle, infarto agudo do miocárdio (IM), desnervação sino-aórtica (DSA) e desnervação sino-aórtica e infarto agudo do miocárdio (DSA+IM). Anova Two Way pos hoc Student Newman Keuls. * $p<0.05$ vs. Controle; # $p<0.05$ vs. IM; † <0.05 vs. DSA

5.4- CURVA DE MORTALIDADE.

Conforme demonstra Figura 18 A, após 90 dias de acompanhamento, a mortalidade dos animais foi maior nos grupos DSA e DSA+IM ($p < 0.001$). A figura 18 B mostra a comparação dos grupos IM com DSA+IM e indica maior mortalidade no grupo associação ($p < 0.05$). Não morreram animais do grupo Controle e DSA (Figura 18 A)

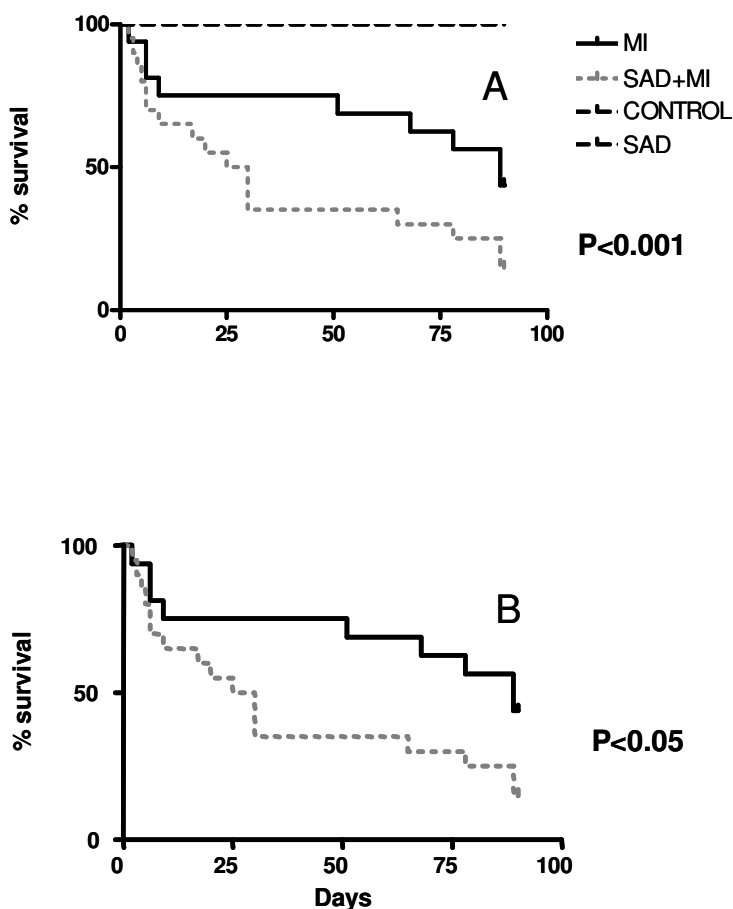


Figure 18. Mortalidade estimada pelo método de Kaplan Meier. Figura (A) grupos controle, IM, DSA e DSA+IM $P < 0.001$; (B) IM and DSA+IM. ; (B) comparação entre IM e DSA+IM $P < 0.05$.

6-SUMÁRIO DOS RESULTADOS

6.1-A DSA:

- Aumenta a massa ventricular esquerda quando corrigida pelo peso. (vs. controle e grupo IM)
- Aumenta eixo maior do VE vs. controle.
- Não muda os valores de PA e FC.
- Aumenta variabilidade da PA basais e reduz a de FC.
- Diminuiu os índices de bradicardia e taquicardia reflexa
- Aumentou os valores absolutos da banda de LF no sistograma
- Reduz os valores de potências da banda de LF no tacograma (absolutos e normalizados)

6.2- O IM

- Aumenta a Área VE diast e Eixo Maior VE (vs. controle).
- Reduz a função sistólica (FE e VCF vs. controle e DSA)
- Aumenta o IPM (vs. controle e DSA).
- Diminui os valores de PAS sem alterar a PAM, a PAD e a FC
- Não mudou a variabilidade da PA mas diminuiu a da FC.
- Diminui os índices de bradicardia e taquicardia reflexa.
- Aumenta os valores absolutos da banda de LF no sistograma
- Reduz os valores de potência da banda de LF no Tacograma (absolutos e normalizados).
- Apresenta maior mortalidade (vs. controle e DSA)

6.3-A ASSOCIAÇÃO DE DSA+IM:

- Aumenta a MVE (absoluto e corrigido vs. controle e IM).
- Aumenta área VE em diástole (vs. controles e DSA) e Eixo maior em VE aumentado em relação aos controles.
- Reduz a função sistólica (FE e VCF vs. controle e DSA)
- Aumenta o IPM (vs. controle)
- Não muda os valores de PA e FC(vs. grupo controle).
- Aumenta a variabilidade da PA e reduz da FC,(vs. grupo controle).
- Diminui os índices de bradicardia e taquicardia reflexa
- Aumenta os valores absolutos da banda de LF no sistograma
- Reduz adicionalmente os valores de potências da banda de LF no Tacograma (vs. DSA e IM)
- Apresentou maior mortalidade (vs. todos os demais grupos)

7 DISCUSSÃO.

7.1 AVALIAÇÕES ECOCARDIOGRÁFICAS.

7.1.1 MORFOMETRIA E FUNÇÃO CARDÍACA: AVALIAÇÕES ECOCARDIOGRÁFICA E DA PRESSÃO INTRAVENTRICULAR.

As imagens ultra-sonográficas das estruturas cardíacas e velocidade do fluxo sanguíneo pelo Ecodopplercardiograma, são largamente reconhecidas por proporcionar uma das mais acuradas medidas não invasivas para caracterização da massa ventricular e análise das funções sistólica e diastólica em humanos (Devereux, 1987). Em animais de experimentação, o uso do ecocardiograma como metodologia não invasiva da análise da função e estrutura cardíacas, também vem se tornando rotina graças ao avanço tecnológico e desenvolvimento de transdutores ultra-sonográficos com frequências maiores, que proporcionam uma resolução adequada a pequenas estruturas (Pawlush, Moore *et al.*, 1993). Essa prática vem sendo amplamente utilizada em estudos que requeiram análise anátomo-funcional do sistema cardiovascular no curso temporal de determinada patologia, exatamente por permitir a sobrevivência do animal até o final do experimento. Moléstias como Infarto do Miocárdio, Hipertensão Arterial Sistêmica, Diabetes Mellitus, entre outras, com tratamento associado ou não, podem ser avaliados ao longo de períodos pré-estabelecidos através desta técnica. No presente estudo buscamos a avaliação da morfometria cardíaca pelo ecocardiograma, bem como a avaliação das alterações funcionais do VE por este reconhecido método não invasivo, uma vez que existe já uma boa correlação entre essas medidas e medidas diretas da tanto da função como da estrutura do coração.(Moises, Ferreira *et al.*, 2000; Cury, Bonilha *et al.*, 2005) .

7.1.2 A DESNERVAÇÃO SINO-AÓRTICA (DSA).

Como já bem estudado por nosso grupo e outros pesquisadores, a DSA no rato tem sido utilizada desde sua descrição (Krieger, 1964) como um modelo biológico para estudar o papel do baroreflexo em diferentes situações fisiológicas e patológicas (Alexander, Kaneda *et al.*, 1990; Osborn e England, 1990; Shade, Bishop *et al.*, 1990).

Descrita originalmente como um modelo de hipertensão neurogênica (Krieger, 1964), é atualmente utilizada como um modelo de variabilidade de PA. De fato, com o aperfeiçoamento tecnológico dos sistemas de registro foi possível após longos períodos de observação, detectar que a hipertensão observada agudamente (24h) retorna a níveis de normalidade (Norman, Coleman *et al.*, 1981; Franchini e Krieger, 1992; Irigoyen, Moreira *et al.*, 1995), e que, no entanto, a variabilidade da PA se mantém (Irigoyen, Moreira *et al.*, 1995). A hipertensão é acompanhada de taquicardia (Vasques e Krieger, 1980) e aumento da atividade simpática, que retornam a valores médios semelhantes aos observados em animais intactos, na fase crônica da DSA. Não se sabe, entretanto, se a responsividade simpática frente a diferentes estímulos permanece ou não aumentada.

Nos resultados morfométricos não foram encontradas diferenças nas avaliações da cavidade e da massa (VEDIA, MVE). Porém a MVE corr, e o Eixo maior longitudinal do VE foram maiores quando comparados ao grupo controle indicando hipertrofia ventricular.

Esses resultados confirmam os obtidos por outros autores que demonstraram hipertrofia moderada de VE e hipertrofia aórtica em ratos com DSA (Miao e Su, 2002).

Acompanhando este aumento da PA na fase aguda, foi descrita uma redução do débito cardíaco (Krieger, 1967) que também retorna ao normal depois de alguns dias. No presente trabalho, aos 105 dias de DSA, os animais não mostraram redução da fração de ejeção e da fração de encurtamento. Estes quando diminuídos poderiam indicar além da redução da função sistólica, redução do débito cardíaco.

Apesar do aumento da MVE corr, e o Eixo maior longitudinal do VE, os índices de função diastólica e o índice de performance miocárdica (IPM) não apresentaram diferenças entre o grupo controle.

O IPM é um índice de função global que combina função sistólica e diastólica e é independente da FC, portanto, não exige normalização.

Considerando ainda a variabilidade da PA, alta na DSA, sabe-se que está ligada a lesões de diferentes órgãos quando presente na hipertensão e à predição de mortalidade após evento cardiovascular (La Rovere, Bigger *et al.*, 1998)

7.1.3 INFARTO DO MIOCÁRDIO (IM).

O IM experimental por ligadura coronariana foi utilizado no presente estudo pois está bem estabelecido na literatura que este procedimento provoca isquemia miocárdica e inicia um processo de disfunção e remodelamento do VE, além de induzir a formação de colaterais no coração (Pfeffer, Pfeffer *et al.*, 1991). Devido a sua relevância clínica e uma relativa facilidade metodológica, a insuficiência

cardíaca induzida pelo IM é um dos modelos mais utilizados nos trabalhos com animais de pequeno porte (Esler, Kaye *et al.*, 1995). Entretanto, as desvantagens de utilizar esse procedimento experimental incluem a necessidade de toracotomia, uma mortalidade relativamente alta durante o procedimento cirúrgico e nas primeiras horas pós IM (~ 30% neste estudo), e a indução em muitos casos de uma IC moderada.

Na literatura, o IM é caracterizado de acordo com seu tamanho: inferiores a 20% do VE – pequenos; de 20-39% - moderados; maiores que 40% - grandes (Pfeffer, Pfeffer *et al.*, 1991). No presente estudo a área do infarto, avaliada pelo ecocardiograma, foi em torno de 36% da parede VE na avaliação inicial nos grupos infartados.

Nos resultados morfométricos não foram encontradas diferenças nas avaliações VEDIA, MVE e MVE corr, porém, a Área do VE em diástole e o Eixo maior longitudinal do VE, foram maiores no grupo IM quando comparados ao grupo controle.

As avaliações da área do VE e do eixo maior do VE na diástole pelo método de Simpson nos grupos infartados forneceram importantes informações no presente estudo. A vantagem destas duas últimas avaliações consiste no fato de que a visualização do VE permite o delineamento total da cavidade ventricular na diástole, a partir do qual o equipamento calcula a área do VE e o maior eixo longitudinal, enquanto que a medida da VEDIA é realizada a partir da observação de uma região da cavidade do VE região medial, podendo portanto, ser influenciada pela localização do IM. Dessa forma, em corações infartados as avaliações da área e do eixo longitudinal do VE parecem ser mais precisas.

Apesar da hipertrofia cardíaca compensar o déficit provocado pela morte dos miócitos decorrente do IM na fase inicial deste processo (aproximadamente até duas semanas pós-infarto), cronicamente a hipertrofia ventricular não resulta em melhora da função sistólica do VE avaliada em corações isolados por (Mill, Stefanon *et al.*, 1990) e pelo método de angiografia direta para avaliar a função do VE em ratos anestesiados (Liu, Yang *et al.*, 1997). Todavia, a função do ventrículo infartado não depende só do tamanho e da localização do IM (Corr, Pearle *et al.*, 1976), mas depende das alterações envolvidas na complacência ventricular, influências neurohumorais, resistência vascular sistêmica e complacência venosa, e da progressão e extensão da hipertrofia no miocárdio não infartado (Pfeffer, Pfeffer *et al.*, 1979).

Os dados de função sistólica (FE e VCF) também estão diminuídos no grupo IM em relação ao controle indicando um risco moderado (Campos Filho, Gi *et al.*, 2005). Todos os pacientes portadores de FE inferior a 50% são considerados portadores de disfunção sistólica e apresentam grande predisposição para um quadro de insuficiência cardíaca (Simões, Marques *et al.*, 2005), (IC) sendo esta uma síndrome clínica de alta incidência, caracterizada por intolerância ao esforço físico, fadigas associadas ou não a edema e dispnéia (Roveda, Rolim *et al.*, 2005).

Os parâmetros de função diastólica não se mostraram alterados nas avaliações ecocardiográficas, com exceção do TRIV que foi maior no grupo DSA+IM indicando nesse grupo também uma disfunção diastólica. Entretanto os valores da relação E/A maiores que dois podem ser interpretados como déficit de

complacência. Com essa idéia em mente, ambos os grupos infartados poderiam estar já com déficit de complacência. .

O índice de performance miocárdio ou índice de esforço miocárdio (IPM) foi validado em ratos com infarto por Morgan et al (2004). Também demonstraram aumento progressivo do IPM no curso temporal da hipertrofia cardíaca em ratos submetidos à cirurgia de coartação da aorta ascendente (Salemi, Pires *et al.*, 2004). De forma semelhante, no presente estudo, este índice foi maior nos grupos infartados (IM e DSA+IM).

No grupo DSA+IM foi observado um aumento significativo da massa do ventrículo esquerdo e da MVE corrigido pelo peso, quando comparado ao grupo controle e IM. Embora maior, a MVE do grupo DSA+IM não foi diferente do grupo DSA. Esses resultados demonstram que a hipertrofia cardíaca presente no grupo DSA+IM pode ser explicada, em grande parte, pelas alterações produzidas pela DSA, como: diminuição do barorreflexo, maior labilidade da pressão arterial e diminuição da variabilidade da FC.

Também no grupo DSA+IM a área do VE na diástole e a análise do eixo maior do VE, também estão aumentadas em relação ao controle. A área do VE na diástole do grupo DSA+IM também foi maior que o grupo DSA.

A função sistólica também está comprometida, não só no grupo IM como no DSA+IM indicando predisposição a insuficiência cardíaca. A FE e VCF do grupo DSA+IM foi menor quando comparado com o grupo controle e DSA. Porém foi semelhante ao grupo IM.

7.2-AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS.

7.2.1 PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA.

Já é conhecido que o IM está associado à hipotensão, tanto em humanos (Grassi, Giannattasio *et al.*, 1992) quanto em animais de experimentação. (Mill, Vassallo *et al.*, 1991) observaram hipotensão em ratos avaliados com 15 dias de IM. No presente trabalho, as avaliações hemodinâmicas realizadas após 90 dias de IM mostraram redução da PAS e valores normais da FC no IM quando comparado ao controle. Outros autores observaram previamente, taquicardia e hipotensão nos animais com 1 e 10 dias após IM (Mill, Vassallo *et al.*, 1991; Meyrelles, Cabral *et al.*, 1994; Lacerda, 2000), e, também em nosso laboratório (De Angelis, Leirner *et al.*, 2001), demonstraram reduzida PA e FC em animais com 8 semanas de IM. A frequência cardíaca também não sofreu alteração nos animais infartados em relação aos demais grupos, revertendo possivelmente, o quadro de taquicardia observado em ratos com apenas um dia de IM (Lacerda, 2000) . O mesmo trabalho mostrou que a taquicardia já é substituída pela bradicardia em 7 dias após o IM.

Neste trabalho, a pressão arterial no grupo DSA não foi diferente em relação ao controle.

De fato a DSA é caracterizada por um aumento dos valores médios da PA na fase aguda e redução, com volta a normalidade na fase crônica, porém com manutenção do aumento da labilidade da PA. Estes efeitos na fase aguda (6 horas pós DSA) dependem em grande parte do aumento da atividade simpática

quantificada diretamente pela medida da atividade do nervo simpático renal (Barres, Lewis *et al.*, 1992; Irigoyen, Moreira *et al.*, 1995). Na fase crônica, parece haver um balanço entre os efeitos opostos da desnervação dos baro e dos quimiorreceptores, conforme citado anteriormente, uma vez que a secção do nervo carotídeo leva à redução da atividade simpática determinada pelos quimiorreceptores (Irigoyen, 1991). Dessa forma, isso poderia estar associado à queda da Atividade Simpática Renal e da PA na fase crônica da DSA, embora a influência de outros aferentes como as oriundas dos receptores cardiopulmonares não possam ser excluídas na reversão da hipertensão (Franchini e Krieger, 1993).

Quando associamos a DSA ao IM os valores de PA e FC não foram diferentes em relação ao controle, sendo a PAS maior quando comparada ao grupo somente IM.

7.2.2 SENSIBILIDADE DO BAROREFLEXO (SBR) E A VARIABILIDADE DA PRESSÃO ARTERIAL E DE FREQUENCIA CARDÍACA.

Este estudo constatou, principalmente, que a diminuição na sensibilidade do baroflexo estava associada com redução da banda LF da VFC em ratos 90 dias após IM, indicando que, o grau de atenuação do baroreflexo (disfunção em ratos IM e abolição em DSA+IM) tem uma relação proporcional com a diminuição da potência de LF da VFC. Embora estudos anteriores tenham relatado redução da função reflexa (Jung, Dibner-Dunlap *et al.*, 1995), bem como da VFC (Kruger, Kalenka *et al.*, 1997), em tempos distintos pós IM, este estudo foi o primeiro a usar a desnervação sino-aórtica em ratos infartados como modelo de abolição de

baroreflexo, fornecendo evidência experimental para achados clínicos e epidemiológicos focados em risco cardiovascular.

De fato, existem dados mostrando que ambos, o controle baroreflexo da frequência cardíaca (Billman, Schwartz *et al.*, 1982; Kleiger, Miller *et al.*, 1987; Schwartz, Zaza *et al.*, 1988) e a variabilidade do intervalo R-R (Kleiger, Miller *et al.*, 1987) podem estar prejudicados após o IM e, dessa forma, servem para identificar subgrupos de pacientes altamente susceptíveis a arritmias ventriculares malignas (La Rovere, Specchia *et al.*, 1988)

Realmente, a evidência mais convincente de que a SBR é um fator de risco independente para eventos cardiovasculares é proveniente de um estudo realizado por (La Rovere, Bigger *et al.*, 1998), demonstrou que ambos, a diminuição da VFC e a SBR, são preditores independentes de mortalidade.

Um IM prévio é uma das causas mais comuns de disfunção ventricular esquerda. Aproximadamente 50% de todas as mortes pós IM tem sido classificadas como morte súbita, sendo a maioria destas decorrentes de taquiarritmias ventriculares (Kleiger, Miller *et al.*, 1987).

Além do mais, existe uma clara associação entre aumento da atividade simpática e/ou redução da atividade vagal e maiores possibilidades de fibrilação ventricular durante isquemia miocárdica (Schwartz, Vanoli *et al.*, 1988). No estudo presente esperava-se que, o infarto do miocárdio, induzido em ratos DSA ou em controles, tivesse uma associação com aumento da atividade simpática, como previamente demonstrado (Zucker, Wang *et al.*, 1995; Dabelea, Hanson *et al.*, 2000) e conseqüentemente, associado com uma predominância relativa de oscilações na banda de LF na análise no domínio da frequência da VFC.

Entretanto, em todos os grupos experimentais, exceto nos ratos controles os animais, apresentaram redução na potência de LF, expressada em ms^2 e em unidades normalizadas.

A análise pulso-a-pulso da VFC, conforme demonstrada previamente, pode fornecer uma estimativa do controle autonômico da FC em humanos (Kleiger, Miller *et al.*, 1987; Lombardi, Sandrone *et al.*, 1987; Schweizer, Brachmann *et al.*, 1993), bem como em cães (Adamson, Huang *et al.*, 1994) e em ratos (Akselrod, Gordon *et al.*, 1985; Kuwahara, Yayou *et al.*, 1994). Sob condições de stress fisiológico, por exemplo, a potência de LF não fornece informações úteis sobre a atividade simpática cardíaca, visto que a potência nessa frequência de banda cai. Entretanto, a FC sobe e não há relação entre a potência de LF a o nível plasmático de noradrenalina (Staessen, Bulpitt *et al.*, 1989; Sloan, Shapiro *et al.*, 1996). De acordo com este achado, Van de Borne e colaboradores (Van De Borne, Montano *et al.*, 1997) mostraram que o componente LF das oscilações do intervalo RR e da variabilidade atividade nervosa muscular simpática estavam ausentes em pacientes com insuficiência cardíaca grave. A ausência do componente LF identifica pacientes insuficientes com o maior nível de ativação simpática e contradiz a ideia do balanço LF/HF como índice de balanço simpátovagal. Resultados similares foram observados no presente estudo, o qual mostrou redução no balanço LF/HF em todos os grupos experimentais quando comparados com os controles e uma redução adicional em ratos com deservação e com infarto do miocárdio associado. De acordo com esse achado existe já a descrição de que o componente LF da VFC estava reduzido após deservação em gatos (7 - 10 dias) (Mancia, Parati *et al.*, 1999) e em ratos (24

horas) (Barres, Cheng *et al.*, 2004), quando uma hiperatividade simpática cardíaca e vascular tem sido repetidamente demonstrada. (Alexander, 1980; Irigoyen, Moreira *et al.*, 1995; Barres, Cheng *et al.*, 2004)

A relação positiva estatisticamente significativa observada entre a redução da banda de LF da VFC e o prejuízo da resposta bradicárdica e taquicárdica mediadas pelo barorreflexo às variações da pressão sangüíneas, podem indicar que a redução da potência de LF depende, pelo menos em parte, do prejuízo do barorreflexo. O barorreflexo arterial tem sido considerado o principal regulador periférico de atividade eferente (Zucker, Schultz *et al.*, 2004) em insuficiência cardíaca sugerindo que uma sensibilidade barorreflexa diminuída e a redução acentuada de potência de LF (Notarius, Butler *et al.*, 1999) pode providenciar o elo com o aumento do risco de morte. De fato, no presente trabalho, diferentes graus de prejuízo do barorreflexo estavam relacionados à sobrevivência em ratos com infarto do miocárdio (Figura 2), resultando em mortalidade significativamente aumentada no grupo infartado e desnervado. ($P < 0.05$ versus o grupo infartado), como calculado pela análise de Kaplan-Meier. Em contraste, não se observou diferença entre o grupo controle e o grupo somente DSA, no qual não foi observada mortalidade durante o período experimental.

Em síntese, nossos resultados sugerem que os parâmetros morfofuncionais induzidos pelo infarto do miocárdio, bem como o nível de redução da sensibilidade do baroreflexo (induzido pelo infarto isoladamente ou pela DSA associada ao mesmo), interferem diretamente no aumento da variabilidade da PA e diminuição da variabilidade da FC. Este parece ser o elemento mais fortemente associado com os ajuste fisiológicos subseqüentes, influenciando de maneira especial à

resposta de hipertrofia cardíaca e as alterações das funções sistólica e diastólica. Todas essas disfunções contribuem de maneira significativa para maior mortalidade pós-eventos cardíacos, conforme documentado nesse estudo. Intervenções terapêuticas visando melhora do barorreflexo parecem ser essenciais no manejo de pacientes pós-IM.

8 CONCLUSÃO.

Nossos dados nos permitem afirmar que: 1) tanto o IM quanto a DSA isoladamente provocam alterações hemodinâmicas que se associam a prejuízo do baroreflexo, redução da variabilidade da FC, particularmente na banda das oscilações de baixa freqüência; 2) somente o infarto produz, isoladamente ou em associação com a DSA, redução da função sistólica; 3) somente a DSA, associada ou não com o IM produz aumento da variabilidade da PA; 4) o IM associado com prejuízo do baroreflexo induzido pela DSA, além de reduzir a função sistólica, promove aumento da massa do VE e apresenta a maior redução da banda de LF da variabilidade da FC.

Considerando que, demonstramos a existência de uma relação direta estatisticamente significativa entre prejuízo do baroreflexo e redução da banda de LF da variabilidade da FC, bem como demonstramos uma relação também direta entre a oscilação de baixa freqüência da PA e a massa do VE, concluímos ser estes mecanismos de grande importância na associação com o aumento da atividade simpática periférica e conseqüentemente, com a maior mortalidade observada no grupo infartado com desnervação simo-aórtica.

Dessa forma, confirmamos a hipótese de que quanto maior o grau de prejuízo do baroreflexo, pior a resposta homeostática de ajuste às disfunções hemodinâmicas, cardíacas e autonômicas pós IM, o que contribui para a maior mortalidade dos animais com DSA associada ao IM durante o período de observação de 90 dias.

9-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Abboud, F. e M. Thames. Interaction of cardiovascular reflexes in circulatory control. In: J. T. Shepherd, Abboud, F.M. (Ed.). The Cardiovascular System. Bethesda: American Physiological Society, v.III, 1983. Interaction of cardiovascular reflexes in circulatory control., p.675-753. (Handbook of Physiology, Section 2)

Adamson, P. B., M. H. Huang, *et al.* Unexpected interaction between beta-adrenergic blockade and heart rate variability before and after myocardial infarction. A longitudinal study in dogs at high and low risk for sudden death. Circulation, v.90, n.2, Aug, p.976-82. 1994.

Akselrod, S., D. Gordon, *et al.* Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. Am J Physiol, v.249, n.4 Pt 2, Oct, p.H867-75. 1985.

_____. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. Science, v.213, n.4504, Jul 10, p.220-2. 1981.

Alexander, N., N. Kaneda, *et al.* Right-left asymmetry of tyrosine hydroxylase in rat median eminence: influence of arterial baroreflex nerves. Brain Res, v.523, n.2, Jul 23, p.195-8. 1990.

Alexander, N., Velasques, Mr, De Cuir, M & Maronde, Rf. Indices of sympathetic activity in the sinoaortic denervated rat. American Journal of Physiology (Heart and Circulatory Physiology 7), v.238, p.H521-H526. 1980.

Alper, R. H., H. J. Jacob, *et al.* Regulation of arterial pressure lability in rats with chronic sinoaortic deafferentation. Am J Physiol, v.253, n.2 Pt 2, Aug, p.H466-74. 1987.

Barres, C., Y. Cheng, *et al.* Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air-jet stress in sinoaortic denervated rats. Hypertension, v.43, n.3, Mar, p.629-35. 2004.

Barres, C., S. J. Lewis, *et al.* Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. Am J Physiol, v.263, n.3 Pt 2, Sep, p.R639-46. 1992.

Barron, H. V. e M. D. Lesh. Autonomic nervous system and sudden cardiac death. J Am Coll Cardiol, v.27, n.5, Apr, p.1053-60. 1996.

Bianchi, A., B. Bontempi, *et al.* Spectral analysis of heart rate variability signal and respiration in diabetic subjects. Med Biol Eng Comput, v.28, n.3, May, p.205-11. 1990.

Bigger, J. T., Jr., J. L. Fleiss, *et al.* Frequency domain measures of heart period variability to assess risk late after myocardial infarction. J Am Coll Cardiol, v.21, n.3, Mar 1, p.729-36. 1993.

Billman, G. E., P. J. Schwartz, *et al.* Baroreceptor reflex control of heart rate: a predictor of sudden cardiac death. Circulation, v.66, n.4, Oct, p.874-80. 1982.

Campos Filho, O., M. A. Gi, *et al.* Ecocardiografia doppler. In: F. Nobre e J. Serrano, C.V. (Ed.). Tratado de cardiologia da Socesp. Barueri: Manole, 2005. Ecocardiografia doppler., p.179-215

Cleutjens, J. P., W. M. Blankesteyn, *et al.* The infarcted myocardium: simply dead tissue, or a lively target for therapeutic interventions. Cardiovasc Res, v.44, n.2, Nov, p.232-41. 1999.

Cohn, J. N., T. B. Levine, *et al.* Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. N Engl J Med, v.311, n.13, Sep 27, p.819-23. 1984.

Corr, P. B. e R. A. Gillis. Autonomic neural influences on the dysrhythmias resulting from myocardial infarction. Circ Res, v.43, n.1, Jul, p.1-9. 1978.

Corr, P. B., D. L. Pearle, *et al.* Site of myocardial infarction. A determinant of the cardiovascular changes induced in the cat by coronary occlusion. Circ Res, v.39, n.6, Dec, p.840-7. 1976.

Cury, A. F., A. Bonilha, *et al.* Myocardial performance index in female rats with myocardial infarction: relationship with ventricular function parameters by Doppler echocardiography. J Am Soc Echocardiogr, v.18, n.5, May, p.454-60. 2005.

Dabelea, D., R. L. Hanson, *et al.* Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. Diabetes, v.49, n.12, Dec, p.2208-11. 2000.

Daffonchio, A., C. Franzelli, *et al.* Sympathetic, parasympathetic and non-autonomic contributions to cardiovascular spectral powers in unanesthetized spontaneously hypertensive rats. J Hypertens, v.13, n.12 Pt 2, Dec, p.1636-42. 1995.

De Angelis, K., A. A. Leirner, *et al.* Nonstimulated cardiomyoplasty improves hemodynamics in myocardial-infarcted rats. Artif Organs, v.25, n.11, Nov, p.939-43. 2001.

Devereux, R. B. Detection of left ventricular hypertrophy by M-mode echocardiography. Anatomic validation, standardization, and comparison to other methods. Hypertension, v.9, n.2 Pt 2, Feb, p.II19-26. 1987.

Donald, D. E. e J. T. Shepherd. Reflexes from the heart and lungs: physiological curiosities or important regulatory mechanisms. Cardiovasc Res, v.12, n.8, Aug, p.446-69. 1978.

Esler, M., D. Kaye, *et al.* Effects of aging on epinephrine secretion and regional release of epinephrine from the human heart. J Clin Endocrinol Metab, v.80, n.2, Feb, p.435-42. 1995.

Franchini, K. G. e E. M. Krieger. Carotid chemoreceptors influence arterial pressure in intact and aortic-denervated rats. Am J Physiol, v.262, n.4 Pt 2, Apr, p.R677-83. 1992.

_____. Neurogenic Hypertension in the Rat. In: D. Ganten (Ed.). HandBook of Hypertension. Experimental and Genetic Models. Amsterdam: Elsevier Publ. Co., 1993. Neurogenic Hypertension in the Rat., p.119-146

Franchini, K. K., Em. Neurogenic hypertension in the rat. In: D. D. J. Ganten, W (Ed.). Handbook of Hypertension, Experimental and Genetic Models of Hypertension. Amsterdam: Elsevier Science, 1994. Neurogenic hypertension in the rat., p.482-500

Grassi, A., F. Fiorani, *et al.* [Proposed medical record to be used in rape cases. New diagnostic and medicolegal aspects]. Minerva Ginecol, v.49, n.11, Nov, p.521-30. 1997.

Grassi, G., C. Giannattasio, *et al.* Cardiopulmonary receptor and arterial baroreceptor reflexes after acute myocardial infarction. Am J Cardiol, v.69, n.9, Apr 1, p.873-8. 1992.

Guzzetti, S., D. Iosa, *et al.* Impaired heart rate variability in patients with chronic Chagas' disease. Am Heart J, v.121, n.6 Pt 1, Jun, p.1727-34. 1991.

Haunstetter, A. e S. Izumo. Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease. Circ Res, v.82, n.11, Jun 15, p.1111-29. 1998.

IBGE. Sistema de informação de mortalidade(SIM) e IBGE. Brasília: Ministério da Saúde. 2006 2000.

Irigoyen, M., Moreira, Ed, Cestari, Ia & Krieger, Em. Renal sympathetic activity and arterial pressure relationship after selective denervation of baroreceptor and chemoreceptor. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v.24, p.219-222. 1991.

Irigoyen, M. C., I. A. Cestari, *et al.* Measurements of renal sympathetic nerve activity in conscious sinoaortic denervated rats. Braz J Med Biol Res, v.21, n.4, p.869-72. 1988.

Irigoyen, M. C. e E. M. Krieger. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. Braz J Med Biol Res, v.31, n.9, Sep, p.1213-20. 1998.

Irigoyen, M. C., E. D. Moreira, *et al.* The relationship between renal sympathetic nerve activity and arterial pressure after selective denervation of baroreceptors and chemoreceptors. Braz J Med Biol Res, v.24, n.2, p.219-22. 1991.

_____. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. Hypertension, v.26, n.6 Pt 2, Dec, p.1111-6. 1995.

Japundzic, N., M. L. Grichois, *et al.* Spectral analysis of blood pressure and heart rate in conscious rats: effects of autonomic blockers. J Auton Nerv Syst, v.30, n.2, Jun, p.91-100. 1990.

Julian, D. B., E. Preface. In: J. B. Desmond, E. (Ed.). Manegement of Acute Myocardial Infarction. London: Paston, 1994. Preface, p.1

Jung, R., M. E. Dibner-Dunlap, *et al.* Cardiorespiratory reflex control in rats with left ventricular dysfunction. Am J Physiol, v.268, n.1 Pt 2, Jan, p.H218-25. 1995.

Kimura, E., K. Hashimoto, *et al.* Changes in bradykinin level in coronary sinus blood after the experimental occlusion of a coronary artery. Am Heart J, v.85, n.5, May, p.635-47. 1973.

Kleiger, R. E., J. P. Miller, *et al.* Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. Am J Cardiol, v.59, n.4, Feb 1, p.256-62. 1987.

Krieger, E. M. Neurogenic Hypertension in the Rat. Circ Res, v.15, Dec, p.511-21. 1964.

_____. Effect of sinoaortic denervation on cardiac output. Am J Physiol, v.213, n.1, Jul, p.139-42. 1967.

_____. Time course of baroreceptor resetting in acute hypertension. Am J Physiol, v.218, n.2, Feb, p.486-90. 1970.

_____. Interação Cardiovascular. In: E. M. Krieger (Ed.). Fisiologia Cardiovascular. São Paulo: Fundo Editorial BYK Procenx., 1976. Interação Cardiovascular.

Krieger, E. M. e R. F. Marseillan. Aortic Depressor Fibers in the Rat: An Electrophysiological Study. Am J Physiol, v.205, Oct, p.771-4. 1963.

Kruger, C., A. Kalenka, *et al.* Baroreflex sensitivity and heart rate variability in conscious rats with myocardial infarction. Am J Physiol, v.273, n.5 Pt 2, Nov, p.H2240-7. 1997.

Kuwahara, M., K. Yayou, *et al.* Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. J Electrocardiol, v.27, n.4, Oct, p.333-7. 1994.

La Rovere, M. T., J. T. Bigger Jr., *et al.* Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. Lancet, v.351, n.9101, Feb 14, p.478-84. 1998.

La Rovere, M. T., G. D. Pinna, *et al.* Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. Circulation, v.103, n.16, Apr 24, p.2072-7. 2001.

La Rovere, M. T., G. Specchia, *et al.* Baroreflex sensitivity, clinical correlates, and cardiovascular mortality among patients with a first myocardial infarction. A prospective study. Circulation, v.78, n.4, Oct, p.816-24. 1988.

Lacerda, J. E. C. Estudo da Atividade Simpática em ratos submetidos ao infarto do miocárdio. Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, 2000.

Liu, Y. H., X. P. Yang, *et al.* Chronic heart failure induced by coronary artery ligation in Lewis inbred rats. Am J Physiol, v.272, n.2 Pt 2, Feb, p.H722-7. 1997.

Lombardi, F., G. Sandrone, *et al.* Heart rate variability as an index of sympathovagal interaction after acute myocardial infarction. Am J Cardiol, v.60, n.16, Dec 1, p.1239-45. 1987.

Lundin, S., M. Hallback-Nordlander, *et al.* Hemodynamic consequences of early cardiovascular structural adaptation in primary hypertension as studied in rats. Contrib Nephrol, v.30, p.124-31. 1982.

Mancia, G., A. Ferrari, *et al.* Blood pressure and heart rate variabilities in normotensive and hypertensive human beings. Circ Res, v.53, n.1, Jul, p.96-104. 1983.

Mancia, G., G. Parati, *et al.* Effect of sinoaortic denervation on frequency-domain estimates of baroreflex sensitivity in conscious cats. Am J Physiol, v.276, n.6 Pt 2, Jun, p.H1987-93. 1999.

Mark, A. L., Mancia, G. Cardiopulmonary baroreflex in Humans. In: (Ed.). The Cardiovascular System - Peripheral Circulation and Organ Blood Flow. Bethesda: American Physiology so, v.sect. 2, vol III, pt. 2, chapt 21, 1983. Cardiopulmonary baroreflex in Humans, p.795-813

Mccubbin, J. W., J. H. Green, *et al.* Baroreceptor function in chronic renal hypertension. Circ Res, v.4, n.2, Mar, p.205-10. 1956.

Meyrelles, S. S., A. M. Cabral, *et al.* Impairment of the Bezold-Jarisch reflex in conscious rats with myocardial hypertrophy. Braz J Med Biol Res, v.27, n.4, Apr, p.1065-9. 1994.

Miao, C. Y. e D. F. Su. The importance of blood pressure variability in rat aortic and left ventricular hypertrophy produced by sinoaortic denervation. J Hypertens, v.20, n.9, Sep, p.1865-72. 2002.

Michelini, L. Fisiologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1999 (Regulação neuro-humoral da pressão arterial.)

Michelini, L. C. e M. Morris. Endogenous vasopressin modulates the cardiovascular responses to exercise. Ann N Y Acad Sci, v.897, p.198-211. 1999.

Mill, J. G., I. Stefanon, *et al.* Changes in performance of the surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. Cardiovasc Res, v.24, n.9, Sep, p.748-53. 1990.

Mill, J. G., D. V. Vassallo, *et al.* Time course of changes in heart rate and sympathetic tone after coronary artery ligation in rats. Braz J Med Biol Res, v.24, n.8, p.855-8. 1991.

Minisi, A. J. e M. D. Thames. Effect of chronic myocardial infarction on vagal cardiopulmonary baroreflex. Circ Res, v.65, n.2, Aug, p.396-405. 1989.

Moises, V. A., R. L. Ferreira, *et al.* Structural and functional characteristics of rat hearts with and without myocardial infarct. Initial experience with Doppler echocardiography. Arq Bras Cardiol, v.75, n.2, Aug, p.125-36. 2000.

Norman, R. A., Jr., T. G. Coleman, *et al.* Continuous monitoring of arterial pressure indicates sinoaortic denervated rats are not hypertensive. Hypertension, v.3, n.1, Jan-Feb, p.119-25. 1981.

Notarius, C. F., G. C. Butler, *et al.* Dissociation between microneurographic and heart rate variability estimates of sympathetic tone in normal subjects and patients with heart failure. Clin Sci (Lond), v.96, n.6, Jun, p.557-65. 1999.

Osborn, J. W. e S. K. England. Normalization of arterial pressure after barodenervation: role of pressure natriuresis. Am J Physiol, v.259, n.6 Pt 2, Dec, p.R1172-80. 1990.

Osculati, G., G. Grassi, *et al.* Early alterations of the baroreceptor control of heart rate in patients with acute myocardial infarction. Circulation, v.81, n.3, Mar, p.939-48. 1990.

Pagani, L., M. Perduca, *et al.* Fluorescence polarization immunoassay to determine aminoglycoside modifying enzymes activity. Microbiologica, v.9, n.4, Oct, p.423-30. 1986.

Pagani M, Lombardi F, Guzzeti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandrone G, Malfatto G, Dell'Orto S, Piccaluga E, Turiel M, Baselli G, Cerutti S, Malliani A. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of

sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ Res*. 1986; 59:178-193.

Pagani M, Montano N, Porta A, et al. The relationship between spectral components of cardiovascular variabilities and direct measures of muscle sympathetic nerve activity in humans. *Circulation*. 1997; 95:1441-1448.

Paintal, A. S. A study of right and left atrial receptors. *J Physiol*, v.120, n.4, Jun 29, p.596-610. 1953.

Pang, C. C. Autonomic control of the venous system in health and disease: effects of drugs. *Pharmacol Ther*, v.90, n.2-3, May-Jun, p.179-230. 2001.

Parati, G., R. Casadei, et al. Comparison of finger and intra-arterial blood pressure monitoring at rest and during laboratory testing. *Hypertension*, v.13, n.6 Pt 1, Jun, p.647-55. 1989.

Pasternak, R., E. Braunwald, et al. Infarto agudo do miocárdio. In: E. Braunwald (Ed.). *Tratado de Medicina Cardiovascular*. São Paulo, 1996. Infarto agudo do miocárdio

Pawlush, D. G., R. L. Moore, et al. Echocardiographic evaluation of size, function, and mass of normal and hypertrophied rat ventricles. *J Appl Physiol*, v.74, n.5, May, p.2598-605. 1993.

Peres-Gomes, F. e J. A. Ribeiro. Modification of the cardiotoxic effects of ouabain by acepromazine, tetrodotoxin and magnesium sulphate. *Pharmacology*, v.18, n.2, p.80-90. 1979.

Pfeffer, J. M., M. A. Pfeffer, et al. Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *Am J Physiol*, v.260, n.5 Pt 2, May, p.H1406-14. 1991.

Pfeffer, M. A., J. M. Pfeffer, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res*, v.44, n.4, Apr, p.503-12. 1979.

Roveda, F., N. Rolim, et al. Exercício físico e insuficiência cardíaca. In: C. E. Negrao (Ed.). *Cardiologia do Exercício*. Barueri: Manole, 2005. Exercício físico e insuficiência cardíaca., p.179-189

Salemi, V. M., M. D. Pires, et al. Echocardiographic assessment of global ventricular function using the myocardial performance index in rats with hypertrophy. *Artif Organs*, v.28, n.4, Apr, p.332-7. 2004.

Sans, S., H. Kesteloot, et al. The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe. *Eur Heart J*, v.18, n.12, Dec, p.1231-48. 1997.

Schwartz, H., R. H. Leiboff, *et al.* Temporal evolution of the human coronary collateral circulation after myocardial infarction. J Am Coll Cardiol, v.4, n.6, Dec, p.1088-93. 1984.

Schwartz, P. J., E. Vanoli, *et al.* Autonomic mechanisms and sudden death. New insights from analysis of baroreceptor reflexes in conscious dogs with and without a myocardial infarction. Circulation, v.78, n.4, Oct, p.969-79. 1988.

Schwartz, P. J., A. Zaza, *et al.* Baroreflex sensitivity and its evolution during the first year after myocardial infarction. J Am Coll Cardiol, v.12, n.3, Sep, p.629-36. 1988.

Schweizer, M. W., J. Brachmann, *et al.* Heart rate variability in time and frequency domains: effects of gallopamil, nifedipine, and metoprolol compared with placebo. Br Heart J, v.70, n.3, Sep, p.252-8. 1993.

Shade, R. E., V. S. Bishop, *et al.* Cardiovascular and neuroendocrine responses to baroreceptor denervation in baboons. Am J Physiol, v.258, n.4 Pt 2, Apr, p.R930-8. 1990.

Simões, M. V., F. Marques, *et al.* Diagnóstico, classificação e avaliação prognóstica da insuficiência cardíaca. In: F. Nobre e C. V. Serrano Jr. (Ed.). Tratado de cardiologia da Socesp. Barueri: Manole, 2005. Diagnóstico, classificação e avaliação prognóstica da insuficiência cardíaca., p.750-761

Sloan, R. P., P. A. Shapiro, *et al.* Relationships between circulating catecholamines and low frequency heart period variability as indices of cardiac sympathetic activity during mental stress. Psychosom Med, v.58, n.1, Jan-Feb, p.25-31. 1996.

Staessen, J., C. J. Bulpitt, *et al.* The influence of menopause on blood pressure. J Hum Hypertens, v.3, n.6, Dec, p.427-33. 1989.

Su, D. F. e C. Y. Miao. Blood pressure variability and organ damage. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.28, n.9, Sep, p.709-15. 2001.

Takeshita, A., H. Matsuguchi, *et al.* Effect of coronary occlusion on arterial baroreflex control of heart rate. Cardiovasc Res, v.14, n.5, May, p.303-6. 1980.

Tennant, R. e C. J. Wiggers. The effect of coronary occlusion on myocardial contraction. American Journal of Physiology, v.112, p.351. 1935.

Uemura, K. International trends in cardiovascular diseases in the elderly. Eur Heart J, v.9 Suppl D, Mar, p.1-8. 1988.

Van De Borne, P., N. Montano, *et al.* Absence of low-frequency variability of sympathetic nerve activity in severe heart failure. Circulation, v.95, n.6, Mar 18, p.1449-54. 1997.

Vasques, E. e E. Krieger. Sequence of tachycardia following baroreceptor denervation in the rat. In: P. Sleight (Ed.). Arterial Baroreceptors and Hypertension. Oxford: Oxford University Press, 1980. Sequence of tachycardia following baroreceptor denervation in the rat., p.413-417

Vasquez, E. C., S. S. Meyrelles, *et al.* Neural reflex regulation of arterial pressure in pathophysiological conditions: interplay among the baroreflex, the cardiopulmonary reflexes and the chemoreflex. Braz J Med Biol Res, v.30, n.4, Apr, p.521-32. 1997.

Webb, S. W., A. A. Adgey, *et al.* Autonomic disturbance at onset of acute myocardial infarction. Br Med J, v.3, n.818, Jul 8, p.89-92. 1972.

White, H. D., R. M. Norris, *et al.* Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. Circulation, v.76, n.1, Jul, p.44-51. 1987.

WHO, W. H. O. Prevalence of Diabetes Among Older Adults in America. 2005.

Zaza, A. e F. Lombardi. Autonomic indexes based on the analysis of heart rate variability: a view from the sinus node. Cardiovasc Res, v.50, n.3, Jun, p.434-42. 2001.

Zucker, I. H., H. D. Schultz, *et al.* The origin of sympathetic outflow in heart failure: the roles of angiotensin II and nitric oxide. Prog Biophys Mol Biol, v.84, n.2-3, Feb-Apr, p.217-32. 2004.

Zucker, I. H., W. Wang, *et al.* Neural regulation of sympathetic nerve activity in heart failure. Prog Cardiovasc Dis, v.37, n.6, May-Jun, p.397-414. 1995.

ANEXO 1

Artigo submetido a revista Autônômica Neuroscience: Basic and Clinical

Title: Low Frequency Power of Heart Rate Variability Associated With Baroreflex Impairment in Myocardial Infarction in Rats

Keywords: Spectral Analysis, Baroreflex, Myocardial Infarction, Mortality, Echocardiography

Corresponding Author: Mr Cristiano Mostarda,

Corresponding Author's Institution: Sao Paulo Medical School - Federal University of Sao Paulo - UNIFESP/ Heart Institute (InCor), University of Sao Paulo - Medical School – FMUSP.

First Author: Cristiano Mostarda

Order of Authors: Cristiano Mostarda; Bruno Rodrigues; Matheus Vane; Edson Dias Moreira; Kaleizu T. Rosa; Silvia BC; Souza; Vera LL Oliveira; Eduardo Moacir Krieger; Rubens Fazan Jr.; Dulce Casarini; MC Irigoyen.

Low Frequency Power of Heart Rate Variability Associated With Baroreflex Impairment in Myocardial Infarction in Rats

INTRODUCTION

The arterial baroreceptor reflex system is one of the most powerful and rapidly acting mechanisms for controlling the blood pressure and the autonomic activity. When decreased, can indirectly be associated with target organs lesion, since the removal of the carotid sinus and aortic arch baroreceptors result in the inability to buffer moment-to-moment changes in pressure, resulting in increased arterial blood pressure variability (BPV) and in decreased heart rate variability (HRV) (Floras et al., 1988).

The depression of baroreflex control of the heart rate and sympathetic activity have been demonstrated following myocardial infarction in human and in experimental animals (Kleiger et al., 1987; Kruger et al., 1997) and is associated with poor outcomes in both.

Cardiovascular variability depends on a very complex interaction between hemodynamic, humoral, and electrophysiological variables, integrated by a sophisticated system of controllers within the autonomic and central nervous systems, in which modulation of baroreceptor activity has a central role (Grassi et al., 1994; Wagner et al., 1996; Zaza and Lombardi, 2001). In fact, changes in

sympathetic activity and baroreceptor sensitivity have been implicated in reduced heart rate variability and death increase after myocardial infarction (Wolf et al., 1978);(La Rovere et al., 1998). Indeed, HRV is a strong, independent marker of mortality after myocardial infarction (MI). (Kleiger et al., 1987);(Galiniere et al., 2000; Nolan et al., 1998).The association between increased sympathetic and/or reduction vagal activity during myocardial ischemia may indicate a relative predominance of low frequency (LF) oscillation in frequency domain analysis of HRV (Malliani et al., 1991). However, both increase (Szabo et al., 1997) and reduced (Ponikowski et al., 1997) LF power were found to be associated with an increased risk of cardiac death. The mechanisms of LF power reduction during sympathoexcitation are not completely understood but changes in central processing of autonomic information and baroreflex impairment may be involved. Sinoaortic baroreceptor denervation in rats is a tool to study the role of feedback pathways in generating autonomic nervous system rhythms. Therefore, the aim of the present study was to analyze if changes in the degree of impairment of baroreflex control of circulation induced by MI in sinoaortic denervated rats is associated with changes in LF component of HRV. Additionally, a secondary objective was to test the hypothesis that the abolishment of the baroreflex would be associated with increased mortality after myocardial infarction.

METHODS

Groups of adult male Wistar rats (200–300 g) were housed singly in plastic cages with controlled temperature (20-24° C) and with 12-h light/dark cycle and rat chow

ad libitum. All procedures were performed in accordance with the “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (U.S. National Institute of Health, NIH Pu). The rats were randomly distributed in four groups: control (C), n=7, myocardial infarction (MI), n=20, sinoaortic denervation (SAD) n=7 and association of both (SAD +MI),n=20.

Mortality was quantified in all animals; other evaluation were performed in all non-infarcted rats and in 7 rats of each infarcted groups.

SAD

SAD was performed under pentobarbital anesthesia (50mg/kg, i.p.) a 3-cm midline incision was made, and sternocleidomastoid muscles were reflected laterally, exposing the neurovascular sheath. The common carotid arteries and the vagal trunk were isolated, and the aortic depressor fibers either traveling with the sympathetic nerve or as an isolated aortic nerve were cut. The communicating branch of the aortic fibers was also resected. The third contingent of aortic baroreceptor fibers traveling with the inferior laryngeal nerve was interrupted by resection of the superior laryngeal nerve after the carotid bifurcation was exposed extensively for carotid stripping. To complete SAD, the sinus nerve as well as all carotid branches and the carotid body were resected (Krieger, 1964).

Myocardial Infarction

Rats underwent surgical occlusion of the main descending branch of the left coronary artery, which resulted in myocardial infarction. The rats were anesthetized with a single injection of Ketamine (Parke-Davis, 50 mg/kg) and Xylazine (Bayer,

10mg/kg) and put on positive-pressure ventilation. A left intercostals thoracotomy was performed to expose the heart. The left coronary artery was ligated(6.0 mononylon), and the suture was gently tied). This procedure produces a clearly demarcated area of acute ischemia corresponding to the distribution of the left coronary artery distal to the occlusion. The heart was repositioned in the chest, and before the skin was sutured, air in the chest was removed with syringe. All rats were given an injection of the antibiotic (Penicilin, 20,000 U)

SAD and Myocardial Infarction

On the first day, the animal was submitted to the SAD surgery. After a period of 15 days for recovery of the previous surgical procedure, the animals underwent myocardial infarction. The methods used for infarction and sinoaortic denervation surgeries were the same for all groups.

Echocardiographic evaluation

Echocardiographic indices (rates) were obtained under the recommendations of American Society of Echocardiography. Transthoracic echocardiogram was performed by only one observer with the use of a SEQUOIA 512 (ACUSON Corporation, Mountain View, CA), which offers a 10-13MHz multifrequencial linear transducer. Images were obtained with the transducer on the animal shaved chest (lateral recumbence). To optimize image, a transmission gel was used between the transducer and the animal chest (General Imaging Gel, ATL. Reedsville, USA). Animals were scanned from below, at 2-cm depth with focus optimized at 1 cm. All measurements were based on the average of three consecutive cardiac cycles.

Rats were anesthetized with combination of ketamine (50mg/kg) and xylazine (10mg/kg). Wall thickness and LV dimensions were obtained from a short-axis view at the level of the papillary muscles. LV mass was calculated by the use of the following formula, assuming a spherical LV geometry and validated in rats: LV mass = 1,047 x [(LVd+PWd+IVSd)³ - LVd³], where 1,047 is the specific gravity of muscle, LVd is LV end-diastolic diameter, PWd is end-diastolic posterior wall thickness and IVSd is end-diastolic interventricular septum thickness. Left ventricle mass was then, normalized by body weight (nLVM). Two-dimensionally guided pulsed-wave Doppler recordings of LV inflow were obtained from the apical four-chamber view. Maximal early diastolic peak velocity (E) and late peak velocity (A) were derived from mitral inflow. Peak E desacceleration time, normalized by heart rate (nDESAC E) was also measured as an index of diastolic function. The LV outflow tract velocity was measured just below the aortic valve, from an apical five-chamber view. isovolumetric relaxation time was recorded with the sample volume between the aortic flow tract and mitral inflow tract. IVRT was also normalized by heart rate (nIVRT), just as DESAC E, once these indices are heart rate dependent. These normalizations were obtained dividing the absolute values of the variables by the square rate of R-R intervals.

Velocity of circumferential fiber shortening (VCF) was measured following the formula: (LVd-LVs)/(LVd x ET), where ET is the ejection time.

Ejection fraction (EF %) was obtained by modified Simpson's method, which is more trustworthy in infarcted hearts. Its formula is described below:

$$V = \left(\frac{\pi}{4}\right) \sum_{i=1}^{20} a_i b_i \times \left(\frac{L}{20}\right)$$

, where L = left ventricle length divided into 20 discs (i=1 to i=20) from basis to apex, with the diameter of each disc being determined in 2 apical views (A and B) After these measurements in diastole and systole, the respective volumes were obtained, which allowed the EF evaluation (final diastolic volume – final systolic volume/final diastolic volume) x 100%.

Infarction area was delimited taking into account the movement of LV walls, by the observation of longitudinal, apical and transversal views of LV. Regions with systolic thickness under normal or absent, as well as portions with paradoxal movement were considered as infarcted. This way, infarcted area (%) was measured by the ratio of these regions by the total area of LV walls (Moises et al., 2000).

CV Assessments

After 90 days of the myocardial infarction, 2 catheters filled with 0.06 mL saline were implanted in anesthetized rats (80 mg/kg ketamine and 12 mg/kg xylazine) into the femoral artery and vein (PE-10) for direct measurements of AP and drug administration, respectively.

Rats receiving food and water *ad libitum* were studied 1 day after catheter placement; the rats were conscious and allowed to move freely in the cage during the experiments. The arterial cannula was connected to a strain-gauge transducer (P23Db, Gould-Statham), and blood pressure signals were recorded over a 20-minute period by a microcomputer equipped with an analog-to-digital converter board (using a Dataq Instruments DI-720, 16-bit measurement resolution, 250kHz

sampling rate. The software used for the acquisition was WINDAQ/PRO waveform recording software). The recorded data were analyzed on a beat-to-beat basis to quantify changes in MAP and heart rate (HR). Increasing doses of phenylephrine (0.25 to 32 U_g/kg) and sodium nitroprusside (0.05 to 1.6 U_g/kg) were given as sequential bolus injections (0.1 mL) to produce blood pressure responses ranging from 5 to 40 mm Hg. A 3 to 5-minute interval between doses was necessary for blood pressure to return to its baseline. Peak increases or decreases in MAP after phenylephrine or sodium nitroprusside injection and the corresponding peak reflex changes in HR were recorded for each dose of the drug. Baroreflex sensitivity (BRS) was evaluated by a mean index through a relationship between changes in HR and in MAP, allowing separate analysis of bradycardia and tachycardia reflexes. The mean index was expressed as beats per minute per millimeter of mercury.

Power Spectral Analysis

Spectral analysis of systolic blood pressure (SBP) and pulse interval (PI) were analyzed by autoregressive parametric spectral method that automatically provide the number, center frequency and power of each oscillatory component. In brief, a derivative-threshold algorithm provides the continuous series PI (tachogram). From BP signal, the systogram was created through the beat-to-beat systolic pressure. The Low Frequencies (0.20 – 0.75 Hz) and High Frequencies (0.75 – 3,00hz) spectral components of PI and SAP were expressed in absolute (ms², mmHg²) and in normalized units (NU). The normalized units were obtained by calculating the power of Low Frequency (LF) and High Frequency (HF) correlating each to the

total power, after subtracting the power of the very low frequency component (frequencies of < 0.2 Hz).

Statistical analysis

Data are reported as means \pm SEM, and ANOVA was used to compare groups, followed by the Student-Newman-Keuls test. Pearson correlation was used to study association between variables. Survival curve was estimated by the Kaplan-Meier method and compared by the long-rank test. The significance level was established as $P < 0.05$.

RESULTS

Echocardiography measurements

Morphometric echocardiography measurements at 90 days after MI were LV mass and nLVM. The data demonstrated that LV mass (g) was higher in SAD+MI group (0.85 ± 0.04) when compared with control (0.61 ± 0.04), MI (0.66 ± 0.03) and SAD groups, (0.77 ± 0.04). The nLVM was also higher in SAD+MI group (1.84 ± 0.1) when compared to MI group, (1.18 ± 0.04 MI).. The LV systolic function, expressed by ejection fraction (%) (42 ± 3 ; 43 ± 3 ; vs. 75 ± 1 ; 72 ± 1), respectively and VCF (circ/sec) (0.0035 ± 0.0002 ; 0.0039 ± 0.0003 vs. 0.0052 ± 0.0001 ; 0.0050 ± 0.0003 , respectively), was reduced in MI and SAD+MI groups compared to the control and SAD groups. The measurements of LV diastolic function were: nIVRT(ms), nDESAC E (ms) and E/A ratio. The nIVRT was higher in

SAD+MI,(2.15 ± 0.03) group when compared to MI group (vs. 1.887 ± 0.05), although no differences were observed between MI and control groups (2.03 ± 0.13). The measurements of nDESAC E (C= 1.81 ± 0.09 , MI= 2.11 ± 0.12 , SAD= 2.02 ± 0.11 and SAD+MI= 2.15 ± 0.16) and E/A ratio (C= 1.61 ± 0.14 , MI= 2.54 ± 0.39 , SAD= 1.4 ± 0.06 and SAD+MI= 1.46 ± 0.01) were not statistically different between studied groups. The infarction area was similar between MI (36 ± 3 %) and SAD + MI groups (38 ± 3 %).

Hemodynamic evaluation

The values obtained for MAP, SAP, diastolic arterial pressure, HR, SAP variability; HR variability and baroreflex-mediated HR response to AP changes are presented in Table1.

Baseline values in AP and HR had no significant differences between the studied groups.

The baroreflex sensitivity was reduced in MI, SAD and SAD+MI when compared to control rats. The baroreflex sensitivity was found reduced in the SAD and SAD+MI groups when compared to MI group. SAP variability, expressed by standard deviation, was higher in SAD and SAD+MI animals when compared to control and MI animals. HRV expressed by PI standard deviation was decreased in the SAD and SAD+MI when compared to control group.

Spectral analysis

The results of spectral analysis are presented in Table 2. The absolute power of LF component of HRV was significantly decreased in MI, SAD and SAD+MI groups

when compared with control group. There was no statistically significant differences between MI, SAD and SAD+MI groups.

The absolute power of HF component of HRV, in the MI and SAD+MI groups was found to be decreased in relation to the control group, and there was not a significant difference between other groups.

The value of normalized LF component in MI, SAD and SAD+MI groups was significantly decreased in comparison with the control group. SAD+MI rats showed the smallest values, which was significantly different from the SAD and MI animals (figure 1 A).

Normalized HF component was higher in the SAD+MI than in the SAD and in the MI groups.

The autonomic balance was reduced in all groups in comparison with control rats, while SAD+MI group presented the smallest values

Correlation analysis involving all studied animals showed relationship between LF power of PI and tachycardic ($r=0.6$, $p<0.001$) and bradycardic ($r=-0.6$, $p<0.0001$) responses to AP changes (figure 1 B and C), indicating that animals with lower LF presented lower BRS. Additionally, positive correlation was obtained between LF power of SAP and nLVM ($r=0.5$, $p<0.02$) demonstrating that high LF power was associated with enhanced left ventricular mass.

Mortality

In myocardial infarcted groups the mortality was statistically higher than in the non infarcted groups. Within infarcted animals, the association of SAD and IM showed increased mortality.

DISCUSSION

BRS AND HEART RATE AND BLOOD PRESSURE VARIABILITY

The main finding of the present study was that a decrease in the baroreflex sensitivity was associated with the reduction of LF band of HRV in rats, 90 days after MI, indicating that the degree of attenuation of baroreflex (impairment in MI and abolishment in SAD+MI rats) is proportionally related to the decrease of LF power of HRV. Although there were previous reports of reduced reflex function (Jung et al., 1995) as well as changes in HRV (Kruger et al., 1997) at different time after MI, this study was the first to use sinoaortic denervation in infarcted rats as a model of abolishment of baroreflexes, providing experimental evidence for clinical and epidemiologic findings focused in cardiovascular risk.

In fact, there are data showing that both the baroreflex control of heart rate (Billman et al., 1982; Kleiger et al., 1987; Schwartz et al., 1988b) and the variability of the r-r interval (Kleiger et al., 1987) may be impaired after MI and may identify subgroups of patients with a high susceptibility to malignant ventricular arrhythmias (La Rovere et al., 1988).

Indeed, the most convincing evidence that baroreflex sensitivity is an independent risk factor for cardiovascular disease events comes from a study by La Rovere et al (La Rovere et al., 1998) who demonstrated that both decreased HRV and BRS are independent predictors of mortality. Additionally they showed that short-term analysis of HRV, particularly the power of the LF band remained a significant predictor, since preserved LF power identify patients at relatively low risk (La Rovere et al., 2003).

A Previous MI is one of the most common causes of left ventricular dysfunction in humans. Approximately 50% of all deaths after MI have been classified as sudden deaths, the majority of which are caused by ventricular tachyarrhythmias (Kleiger et al., 1987).

Moreover, there is a clear association between increased sympathetic activity and/or reduced vagal activity and a greater possibility for ventricular fibrillation during myocardial ischemia (Schwartz et al., 1988a).

In the present study, myocardial infarction induced in SAD or control rats was expected to be associated with increased sympathetic activity as previously demonstrated (Dabelea et al., 2000; Zucker et al., 1995) and consequently, associated with a relative predominance of LF oscillations in frequency-domain analysis of HRV. However, all experimental groups, except the control rats, presented a reduction of LF power as expressed in ms^2 and normalized units. The analysis of beat-to-beat HRV has been previously shown to provide an estimation of autonomic control of HR in humans (Kleiger et al., 1987; Lombardi et al., 1987; Schweizer et al., 1993) as well as in dogs (Adamson et al., 1994) and rats (Akselrod et al., 1985; Kuwahara et al., 1994). In the frequency domain, an impaired vagal tone has been attributed to a reduced power of the HF band, whereas the LF band is thought to be modulated by both sympathetic and vagal tone (Akselrod et al., 1985; Kuwahara et al., 1994). Under conditions of psychological stress, for example, LF power provides no useful information about cardiac sympathetic activity, both because power in this frequency band falls whereas HR rises and because there is no relationship between LF power and plasma norepinephrine (Sloan et al., 1996; Staessen et al., 1989). In agreement

with this finding, van de Borne (van de Borne et al., 1997) showed that the LF component of oscillations in the RR interval and Muscle Sympathetic Nerve Activity variability is absent in patients with severe heart failure. The absence of the LF component identifies heart failure patients with the highest level of sympathetic activation and contradicts the idea of the LF/HF ratio as an index of sympathovagal balance. Similar results were observed in the present experiment which showed reduced LF/HF ratio in all experimental groups as compared with controls and an additional reduction in denervated myocardial infarction rats. Moreover, LF component of HRV was reduced after sinoaortic denervation in cats (7-10 days) (Mancia et al., 1999b) and in rats (24 hours) (Barres et al., 2004), when an overactivity of sympathetic activity to the heart and vessels was repeatedly demonstrated. (Alexander, 1980; Irigoyen et al., 1995).

The good correlation observed between the reduction of LF band of HRV and the impairment of bradycardic and tachycardic baroreflex-mediated responses to blood pressure changes may indicate that the reduced LF power depends on, at least in part, the impairment baroreflex.

Arterial baroreflex has been considered the prime peripheral regulator of sympathetic outflow (Zucker et al., 2004) in heart failure suggesting that the decreased baroreflex sensitivity and the markedly reduced LF (Notarius et al., 1999) power may provide the link with the increased mortality risk. Indeed, different degree of impairment of baroreflex was related to survival in experimental rats with myocardial infarction (Figure. 2), resulting in significantly increased mortality in the denervated myocardial infarcted group ($P < .05$ versus non-denervated myocardial infarcted group), as calculated by Kaplan-Meier analysis. In contrast, no differences

were observed between control and SAD only rats, in which we did not observed mortality during the experimental period.

Severity of left ventricular dysfunction

Experimentally induced chronic ligation of a coronary artery in rats has been shown to provide a MI model that has the advantage of highly reproducible infarct size and localization (Pfeffer et al., 1979) and thus allows the study of a homogeneous group of experimental animals with chronic left ventricular dysfunction

In the present study, several parameters obtained by echocardiography were determined to assess the severity of left ventricular dysfunction after MI. Actually, LV systolic function, evaluated by ejection fraction and VCF_z, was lower in infarcted groups as compared with control and SAD rats, characterizing the consequences of MI on left ventricular muscle function. In this experiment the evaluation of infarcted area was similar in both infarcted denervated (38±3%) and not denervated (36±3%) groups by using ecocardiography, a highly sensitive and specific method to evaluate myocardial infarction when compared with anatomopathological evaluation.(Cury et al., 2005; Moises et al., 2000)

Moreover, morphometric indexes showed that extensive infarction lead to a higher increase in LV mass in SAD+MI groups when compared with all other groups. The normalized index nLVM was also higher in SAD+MI groups when compared to MI group, probably due to an adaptive response induced by SAD since the group of denervated rats showed similarities with the SAD+MI animals. These data give support to the idea that the abolishment of baroreflexes by SAD in infarcted rats increases not only the sympathetic outflow to the heart but also blood pressure

variability leading to aortic and left ventricular hypertrophy as demonstrated by Miao & Su (Miao and Su, 2002). The modulation of sympathetic outflow to the vessels by analyzing LF band of the systogram was increased in all experimental groups when compared with control rats and the association of SAD and MI did not induce additional increments. However, a role for increased LF band of systogram in the adaptive response of the heart may be demonstrated by the direct correlation observed between LF power and LV mass.

Pathogenesis of left ventricular hypertrophy is in fact multifactorial, but evidence that the sympathetic system is involved in progression of cardiovascular structural alterations is substantial (Mancia et al., 1999a), especially in hypertension. In this study increased LV mass was observed only in SAD+MI rats in which SAP was around control values, and EF was similar to the MI rats, indicating clearly that other mechanisms as sympathetic activity are associated with the LV mass increase and with the maintenance of systolic function.

Perspectives

Although numerous risk factors have been proposed, the activity of the autonomic nervous system seems to be the most important in deciding the outcome in post infarction patients. In fact reduced baroreflex sensitivity and HRV as autonomic markers in myocardial infarction patients who had a depressed left ventricular ejection fraction may indicate an increased risk of death. The results of the present study showed in an experimental model of MI that the degree of impairment of baroreflex as well as the reduction of LF power of HRV, determines the mortality

pos MI during a 90 days period. This information may help to analyze other mechanisms involved in cardiovascular adjustments associated whit MI and also may contribute to understanding the intervention approaches designed to change the bad prognosis after cardiovascular events.

References

- Adamson PB, Huang MH, Vanoli E, Foreman RD, Schwartz PJ, Hull SS, Jr. 1994. Unexpected interaction between beta-adrenergic blockade and heart rate variability before and after myocardial infarction. A longitudinal study in dogs at high and low risk for sudden death. *Circulation* 90 (2), 976-982.
- Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NC, Shannon DC, Cohen RJ. 1985. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *Am. J. Physiol.* 249 (4 Pt. 2), H867-875.
- Alexander N, Velasques, MR, de Cuir, M & Maronde, RF. 1980. Indices of sympathetic activity in the sinoaortic denervated rat. *American Journal of Physiology (Heart and Circulatory Physiology 7)* 238, H521-H526.
- Barres C, Cheng Y, Julien C. 2004. Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air-jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 43 (3), 629-635.
- Billman GE, Schwartz PJ, Stone HL. 1982. Baroreceptor reflex control of heart rate: a predictor of sudden cardiac death. *Circulation* 66 (4), 874-880.
- Cury AF, Bonilha A, Saraiva R, Campos O, Carvalho AC, De Paola AA, Fischer C, Tucci PF, Moises VA. 2005. Myocardial performance index in female rats with myocardial infarction: relationship with ventricular function parameters by Doppler echocardiography. *J Am. Soc. Echocardiogr.* 18 (5), 454-460.
- Dabelea D, Hanson RL, Lindsay RS, Pettitt DJ, Imperatore G, Gabir MM, Roumain J, Bennett PH, Knowler WC. 2000. Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes* 49 (12), 2208-2211.
- Floras JS, Hassan MO, Jones JV, Osikowska BA, Sever PS, Sleight P. 1988. Consequences of impaired arterial baroreflexes in essential hypertension: effects on pressor responses, plasma noradrenaline and blood pressure variability. *J. Hypertens.* 6 (7), 525-535.
- Galinier M, Pathak A, Fourcade J, Androdias C, Curnier D, Varnous S, Boveda S, Massabuau P, Fauvel M, Senard JM, Bounhoure JP. 2000. Depressed low frequency power of heart rate variability as an independent predictor of sudden death in chronic heart failure. *Eur. Heart. J.* 21 (6), 475-482.
- Grassi G, Seravalle G, Calhoun DA, Mancia G. 1994. Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. *Hypertension* 23 (3), 294-301.
- Irigoyen MC, Moreira ED, Ida F, Pires M, Cestari IA, Krieger EM. 1995. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 26 (6 Pt. 2), 1111-1116.
- Jung R, Dibner-Dunlap ME, Gilles MA, Thames MD. 1995. Cardiorespiratory reflex control in rats with left ventricular dysfunction. *Am. J. Physiol.* 268 (1 Pt. 2), H218-225.
- Kleiger RE, Miller JP, Bigger JT, Jr., Moss AJ. 1987. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 59 (4), 256-262.
- Krieger EM. 1964. Neurogenic Hypertension in the Rat. *Circ. Res.* 15, 511-521.

- Kruger C, Kalenka A, Haunstetter A, Schweizer M, Maier C, Ruhle U, Ehmke H, Kubler W, Haass M. 1997. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in conscious rats with myocardial infarction. *Am. J. Physiol.* 273 (5 Pt. 2), H2240-2247.
- Kuwahara M, Yayou K, Ishii K, Hashimoto S, Tsubone H, Sugano S. 1994. Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. *J. Electrocardiol.* 27 (4), 333-337.
- La Rovere MT, Bigger JT, Jr., Marcus FI, Mortara A, Schwartz PJ. 1998. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Lancet.* 351 (9101), 478-484.
- La Rovere MT, Pinna GD, Maestri R, Mortara A, Capomolla S, Febo O, Ferrari R, Franchini M, Gnemmi M, Opasich C, Riccardi PG, Traversi E, Cobelli F. 2003. Short-term heart rate variability strongly predicts sudden cardiac death in chronic heart failure patients. *Circulation* 107 (4), 565-570.
- La Rovere MT, Specchia G, Mortara A, Schwartz PJ. 1988. Baroreflex sensitivity, clinical correlates, and cardiovascular mortality among patients with a first myocardial infarction. A prospective study. *Circulation* 78 (4), 816-824.
- Lombardi F, Sandrone G, Pernpruner S, Sala R, Garimoldi M, Cerutti S, Baselli G, Pagani M, Malliani A. 1987. Heart rate variability as an index of sympathovagal interaction after acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 60 (16), 1239-1245.
- Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S. 1991. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 84 (2), 482-492.
- Mancia G, Grassi G, Giannattasio C, Seravalle G. 1999a. Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension* 34 (4 Pt. 2), 724-728.
- Mancia G, Parati G, Castiglioni P, di Rienzo M. 1999b. Effect of sinoaortic denervation on frequency-domain estimates of baroreflex sensitivity in conscious cats. *Am. J. Physiol.* 276 (6 Pt. 2), H1987-1993.
- Miao CY, Su DF. 2002. The importance of blood pressure variability in rat aortic and left ventricular hypertrophy produced by sinoaortic denervation. *J. Hypertens.* 20 (9), 1865-1872.
- Moises VA, Ferreira RL, Nozawa E, Kanashiro RM, Campos O, Andrade JL, Carvalho AC, Tucci PJ. 2000. Structural and functional characteristics of rat hearts with and without myocardial infarct. Initial experience with Doppler echocardiography. *Arq. Bras. Cardiol.* 75 (2), 125-136.
- Nolan J, Batin PD, Andrews R, Lindsay SJ, Brooksby P, Mullen M, Baig W, Flapan AD, Cowley A, Prescott RJ, Neilson JM, Fox KA. 1998. Prospective study of heart rate variability and mortality in chronic heart failure: results of the United Kingdom heart failure evaluation and assessment of risk trial (UK-heart). *Circulation* 98 (15), 1510-1516.
- Notarius CF, Butler GC, Ando S, Pollard MJ, Senn BL, Floras JS. 1999. Dissociation between microneurographic and heart rate variability estimates of sympathetic tone in normal subjects and patients with heart failure. *Clin. Sci. (Lond.)* 96 (6), 557-565.
- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. 1979. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ. Res.* 44 (4), 503-512.

- Ponikowski P, Chua TP, Piepoli M, Ondusova D, Webb-Peploe K, Harrington D, Anker SD, Volterrani M, Colombo R, Mazzuero G, Giordano A, Coats AJ. 1997. Augmented peripheral chemosensitivity as a potential input to baroreflex impairment and autonomic imbalance in chronic heart failure. *Circulation* 96 (8), 2586-2594.
- Schwartz PJ, Vanoli E, Stramba-Badiale M, De Ferrari GM, Billman GE, Foreman RD. 1988a. Autonomic mechanisms and sudden death. New insights from analysis of baroreceptor reflexes in conscious dogs with and without a myocardial infarction. *Circulation* 78 (4), 969-979.
- Schwartz PJ, Zaza A, Pala M, Locati E, Beria G, Zanchetti A. 1988b. Baroreflex sensitivity and its evolution during the first year after myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 12 (3), 629-636.
- Schweizer MW, Brachmann J, Kirchner U, Walter-Sack I, Dickhaus H, Metze C, Kubler W. 1993. Heart rate variability in time and frequency domains: effects of gallopamil, nifedipine, and metoprolol compared with placebo. *Br. Heart J.* 70 (3), 252-258.
- Sloan RP, Shapiro PA, Bagiella E, Bigger JT, Jr., Lo ES, Gorman JM. 1996. Relationships between circulating catecholamines and low frequency heart period variability as indices of cardiac sympathetic activity during mental stress. *Psychosom. Med.* 58 (1), 25-31.
- Staessen J, Bulpitt CJ, Fagard R, Lijnen P, Amery A. 1989. The influence of menopause on blood pressure. *J. Hum. Hypertens.* 3 (6), 427-433.
- Szabo BM, van Veldhuisen DJ, van der Veer N, Brouwer J, De Graeff PA, Crijns HJ. 1997. Prognostic value of heart rate variability in chronic congestive heart failure secondary to idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 79 (7), 978-980.
- van de Borne P, Montano N, Pagani M, Oren R, Somers VK. 1997. Absence of low-frequency variability of sympathetic nerve activity in severe heart failure. *Circulation* 95 (6), 1449-1454.
- Wagner CD, Nafz B, Persson PB. 1996. Chaos in blood pressure control. *Cardiovasc. Res.* 31 (3), 380-387.
- Wolf GK, Belz GG, Stauch M. 1978. Systolic time intervals--correction for heart rate. *Basic. Res. Cardiol.* 73 (1), 85-96.
- Zaza A, Lombardi F. 2001. Autonomic indexes based on the analysis of heart rate variability: a view from the sinus node. *Cardiovasc. Res.* 50 (3), 434-442.
- Zucker IH, Schultz HD, Li YF, Wang Y, Wang W, Patel KP. 2004. The origin of sympathetic outflow in heart failure: the roles of angiotensin II and nitric oxide. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 84 (2-3), 217-232.
- Zucker IH, Wang W, Brandle M, Schultz HD, Patel KP. 1995. Neural regulation of sympathetic nerve activity in heart failure. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 37 (6), 397-414.

Figure 1

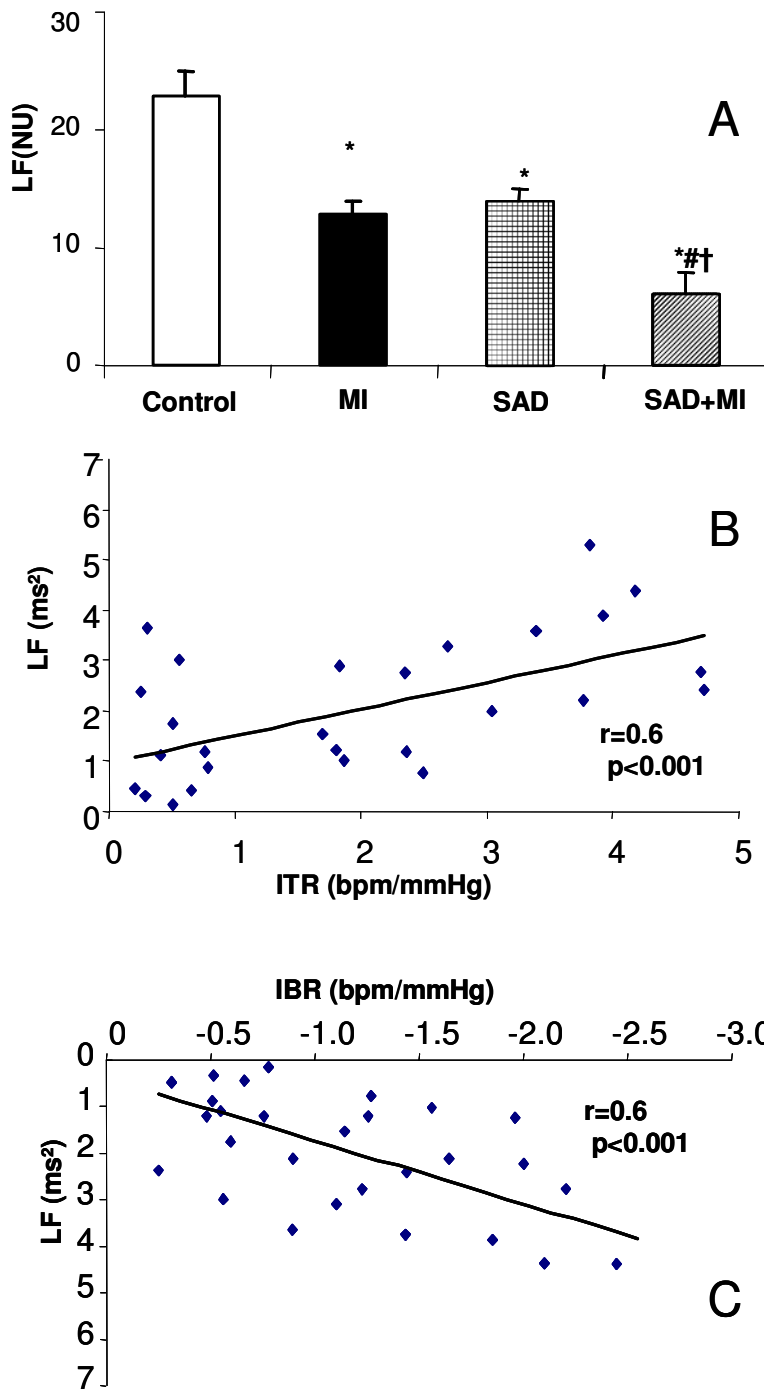
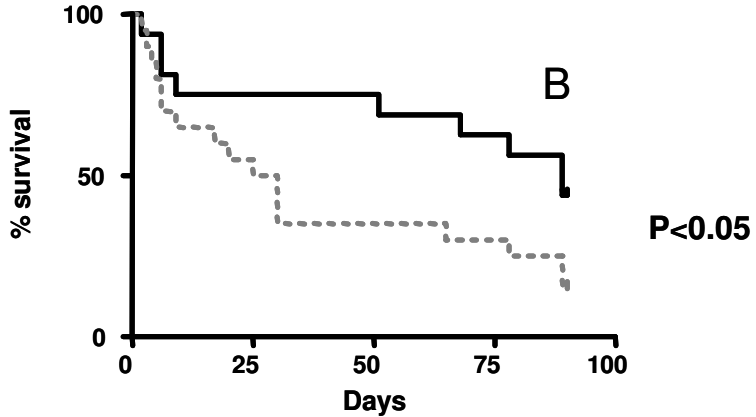
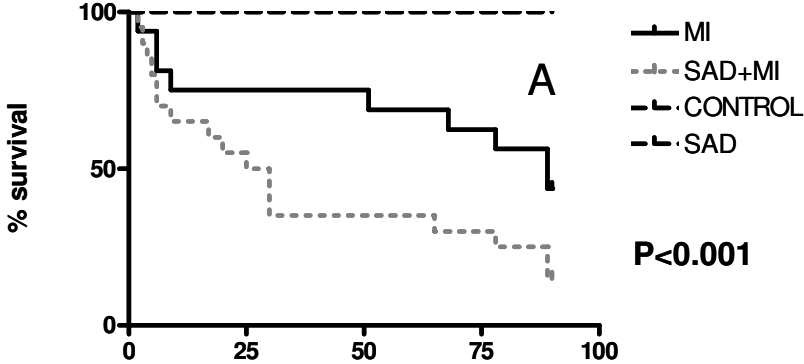


Figure 2



Legend of figures

Figure 1. (A) Low frequency band normalized (LF NU) of pulse interval in control, MI, SAD and SAD+MI. Correlation involving all studied animals between low frequency power (LF) of pulse interval and reflex tachycardia (B) and reflex bradycardia (C) . *p<0.05 vs. control group; # p<0.05 vs. IM group; † p<0.05 vs. SAD.

Figure 2. Mortality estimated by the Kaplan Meier method among (A) control, MI, SAD and SAD+MI groups and among (B) MI and SAD+MI.

Figure

Table 1. Hemodynamic variable in Control, MI, SAD and SAD+MI rats.

Mensurement/group	CONTROL	MI	SAD	SAD+MI
SAP (mmHg)	129±2.60	117±4.20*	130.±4.10	131±2.21
MAP (mmHg)	111±4.47	104±5.32	111±4.55	111±2.69
DAP (mmHg)	92±4.43	90±4.74	97±5.8	96±2.84
IP (ms)	163±5.14	167±7.13	179±4.5	174±3.7
IBR bpm/mmHg)	2.1±0.4	1.5±0.16*	0.72±0.12*#	0.6±0.13*#
ITR bpm/mmHg)	3.8±0.5	1.7±0.2*	0.78±0.1*#	0.8±0.2*#
SAP SD(mmHg)	6.2±0.84	9.2±1.4	14±0.9*	13±1.3*
IP SD(ms)	23.7±0.7	16.8±1.6*	17.1±0.8*	8.5±1.3*#†

Values are mean ± SE; student Newman Keus pos-hoc test. Results of systolic blood pressure (SAP), mean blood pressure (MAP), diastolic blood pressure (DAP), pulse interval (PI), heart rate standard deviation (HR SD), systolic blood pressure standard deviation (SAP SD), tachycardic (ITR) and bradycardic (IBR) responses to AP changes. *p<0.05 vs control; #p<0.05 vs.MI; † P<0.05 vs.SAD

Table2. Frequency domain variable in control, MI, SAD and SAD+MI rats

Measurement/group	Control	MI	SAD	SAD+MI
PI (tachogram)				
LF,(ms ²)	3.9±0.7	2.02±0.3*	1.73±0.4*	0.75±0.2*
LF, (NU)	23.3±1.6	15.5±1.4*	15.3±1.6*	7.66±2.1*#†
HF,(ms ²)	13.6±0.6	6.69±1	9.2±1.6	7.6±0.8
HF,(NU)	76.7±2.1	84.5±1.4*	84.6±2.1*	92.4±1.5*#†
LF/HF	0.3±0.02	0.19±0.019*	0.17±0.14*	0.08±0.01*#†
SBP(systogram)				
LF(mmHg ²)	3.0±0.5	6.41±0.6*	9.1±2.1*	7.7±1.2*
HF(mmHg²)	1.68±0.29	2.27±0.58	2.32±0.59	2.19±0.33

Values are mean ± SE; student Newman Keus pos-hoc test. Results of spectral powers of SBP and PI computed from 0.20 to 3 Hz (total power Plot) and low frequency (LF: 0.20-0.75 Hz), high frequency (HF: 0.75-3.00 HZ) bands, in control, MI, SAD and SAD+MI groups *.p<0.05 versus control; #p<0.05 versus MI and †p<0.05 versus SAD.