

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

DISSERTAÇÃO

AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM N-ACETILCEITEÍNA NO
INFARTO DO MIOCÁRDIO EXPERIMENTAL EM RATAS
WISTAR

CÉSAR RAFAEL MARINS COSTA

2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS**

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM N-ACETILCEITEÍNA NO
INFARTO DO MIOCÁRDIO EXPERIMENTAL EM RATAS
WISTAR**

CÉSAR RAFAEL MARINS COSTA

Sob Orientação do Professor
Emerson Lopes Olivares

Co-orientação do Professor
Anderson Luiz Bezerra da Silveira

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Seropédica, Rio de Janeiro

Janeiro de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C 839 Costa, César Rafael Marins, 1987-
a Avaliação do Tratamento com N-acetilcisteína no
Infarto do Miocárdio Experimental em Ratas Wistar /
César Rafael Marins Costa. - 2018.
74 f.: il.

Orientador: Emerson Lopes Olivares.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Pós Graduação em Ciências
Fisiológicas, 2018.

1. Infarto agudo do miocárdio. 2. Estresse
oxidativo. 3. N-acetilcisteína. I. Olivares, Emerson
Lopes, 1973-, orient. II Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro. Pós Graduação em Ciências
Fisiológicas III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

CÉSAR RAFAEL MARINS COSTA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ____/____/____

Prof. Dr. Emerson Lopes Olivares - UFRRJ

Prof. Dr. Wellington da Silva Côrtes - UFRRJ

Prof.^a Dr.^a Luciane Claudia Barcellos dos Santos Souza - UFRJ

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado não poderia chegar a bom porto sem o precioso apoio e incentivo de várias pessoas sem os quais não se teria tornado uma realidade e aos quais estarei eternamente grato. Em primeiro lugar, não posso deixar de agradecer blá blá blá blá..... Na moral! essa é a pior parte pra mim, não que eu não saiba agradecer a alguém, muito pelo contrário, só não consigo colocar o que sinto em palavras em uma folha em branco. Pra mim um gesto vale mais que mil palavras. Desde o processo seletivo foi um longo caminho percorrido. Nada foi fácil, nem tampouco tranquilo, muito menos passei por isso tudo sozinho. Poderia citar nomes de todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram nesse processo, mas a lista seria maior que a dissertação. E no final de que adiantaria?? Eu não me sentiria realmente agradecido dessa forma. Por isso busco outras formas de mostrar a essas pessoas o quanto sou grato por tê-las na minha vida e o quanto elas são importantes pra mim. Ao longo desse processo de trabalho e estudos encontramos diversos problemas e dificuldades. E em meio a esse caos do dia-a-dia eu tento tornar nossos dias um pouco menos estressante, fazendo com que essas pessoas sintam-se mais felizes e riam um pouco, mesmo que seja pra rir de mim e das bobagens que eu falo, pra que elas possam, nem que seja por 10 segundos, esquecer dos problemas um pouco. E é dessa forma que busco a cada dia agradecer a todos que estão próximos de mim e me ajudaram muito. Se você está lendo esta página é porque eu consegui concluir meu trabalho. Não foi fácil chegar até aqui, mas se em algum momento você se lembrar que nós rimos juntos é porque você foi importante em todo esse processo (e ainda é). Não sou apegado a religião, mas acredito em Deus, e assim como na ciência, tudo que é sábio e verdadeiro deve ser reproduzido. Sendo assim repito o que foi dito em Provérbios 17:17 “Em todo o tempo ama o amigo e na adversidade nasce o irmão”. Tive muitas adversidades ao longo dessa estrada, mas também surgiram muitos irmãos nesse caminho.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)

RESUMO

COSTA, César Rafael Marins. **Avaliação do tratamento com N-acetilcisteína no infarto do miocárdio experimental em ratas Wistar**. 2018. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciência Fisiológicas). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

O aumento dos níveis de espécies reativas do oxigênio e o déficit de antioxidantes observados após infarto do miocárdio estão diretamente envolvidos nas mudanças estruturais e funcionais que ocorrem durante o desenvolvimento e progressão do remodelamento cardíaco. Embora estudos prévios tenham demonstrado efeito cardioprotetor na atenuação da lesão tecidual em modelos experimentais de infarto do miocárdio (IM) pela administração de antioxidantes, não são claras as evidências sobre os benefícios do tratamento em longo prazo com substâncias antioxidantes sobre a evolução fisiopatológica do IM tanto em modelos experimentais quanto em pacientes infartados. Atualmente a N-acetilcisteína (NAC) é utilizada terapeuticamente em vários ramos da medicina, pois apresenta algumas características interessantes do ponto de vista farmacoterapêutico. Este estudo teve como objetivo avaliar o papel do tratamento com NAC, durante 28 dias, sobre a função cardíaca, modulação autonômica e estresse oxidativo no IM experimental. Adicionalmente, investigou-se a expressão do fator de crescimento neuronal (NGF) na mediação do aumento da resposta autonômica simpática pós-infarto, bem como, o possível efeito da NAC na modulação desta resposta. A amostra foi composta por ratos Wistar (fêmeas) que foram infartados (IM) ou falso operados (SH), tratados com salina (SAL) ou N-acetilcisteína (NAC) por gavagem (250 mg/Kg/dia). Os animais foram atribuídos em grupos: SHAM-SAL, SHAM-NAC, IM-SAL e IM-NAC, N=10/grupo. Os tratamentos iniciaram-se 24 horas após a cirurgia. Após 28 dias de tratamento os animais foram submetidos a avaliação eletrocardiográfica e ecocardiográfica (ECO) seguida pela eutanásia para a coleta dos tecidos. O procedimento estatístico utilizado foi a *two-way* ANOVA com post hoc de Tukey e significância definida em $P < 0,05$. O IM-SAL teve aumento dos pesos relativos do coração e pulmão comparado a IM-NAC ($P < 0,05$). Houve diminuição da geração de H_2O_2 e aumento da atividade da glutathione peroxidase e na quantidade de grupamento TIOL no IM-NAC comparado a IM-SAL ($P < 0,05$). As análises de ECO mostraram aumento da espessura relativa da parede posterior do ventrículo esquerdo no IM-NAC comparado ao IM-SAL ($P < 0,01$), e aumento dos diâmetros internos da relação do átrio esquerdo e aorta no IM-SAL comparado a IM-NAC ($P < 0,05$). Houve melhora da fração de ejeção no IM-NAC comparado a IM-SAL ($P < 0,05$). Os resultados da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) no domínio do tempo mostraram aumento da frequência cardíaca no IM-SAL e diminuição da raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR consecutivos (RMSSD) ao comparar com IM-NAC ($P < 0,01$). A análise do domínio da frequência da VFC, foi observado aumento do componente de baixa frequência (U.N), diminuição do componente de alta frequência (U.N) e aumento da razão BF/AF no IM-SAL comparado a IM-NAC ($P < 0,01$). A análise da expressão de NGF mostrou aumento no IM-SAL em relação a IM-NAC. O tratamento de ratas infartadas durante 28 dias com N-acetilcisteína foi efetivo em evitar a dilatação da câmara ventricular esquerda mostrando um padrão adaptativo, melhorando a função cardíaca, atenuando o processo congestivo, melhorando o perfil redox e induzindo a uma modulação autonômica mais favorável, pelo menos em parte pela redução da expressão de NGF.

Palavras-chave: Infarto agudo do miocárdio; estresse oxidativo; N-acetilcisteína

ABSTRACT

COSTA, César Rafael Marins. **Evaluation of N-acetylcysteine treatment during experimental myocardial infarction in Wistar rats.** 2018. 74p. Dissertation (Master in Physiological Science). Institute of Biological Sciences and Health, Department of Physiological Sciences, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

The increase in reactive oxygen species and the deficit in antioxidants observed after myocardial infarction are directly related to structural and functional changes that occur during the development and progression of cardiac remodeling. Despite previous studies that demonstrated the cardioprotective effects of antioxidants on the attenuation of damage in experimental models of myocardial infarction (MI), the evidence of the benefits of long-term treatment with antioxidant substances on the physiopathological evolution of MI in both experimental models and infarcted patients are not clear. Currently, N-acetylcysteine (NAC) is, in several branches of medicine, used therapeutically since it shows interesting characteristics from the pharmacotherapeutic point of view. This study assessed the role of NAC treatment during 28 days on cardiac function, autonomic modelling and oxidative stress on experimental MI. Additionally, we evaluated the expression of neuronal growth factor (NGF) on the mediation of the increased sympathetic autonomic response post-infarction, as well as the possible effect of NAC on the modulation of this response. The sample was composed by female Wistar rats that were infarcted (MI) or sham-operated (SH) and treated with saline (SAL) or N-acetylcysteine (NAC) by gavage (250 mg/kg/day). The animals were assigned into groups: SHAM-SAL, SHAM-NAC, MI-SAL and MI-NAC, N=10/group. Treatments started 24 hours after surgery. Twenty-eight days after treatment, the animals were submitted to electrocardiographical and echocardiographical (ECHO) assessment, and then to euthanasia for tissue collection. The statistical procedure used was a two-way ANOVA with Tukey post-hoc and the significance was set at $P < 0.05$. The MI-SAL showed increased relative heart and lung weight when compared to MI-NAC ($P < 0.05$). The H_2O_2 generation decreased in MI-NAC in relation to MI-SAL ($P < 0.05$) and the activity of glutation peroxidase (GPx) and TIOL increased in MI-NAC when compared to MI-SAL ($P < 0.05$). ECHO showed increased relative wall thickness of the posterior wall of the left ventricle in MI-NAC when compared to MI-SAL ($P < 0.01$), and increased internal diameters of the left atrium and aorta ratio in MI-SAL when compared to MI-NAC ($P < 0.05$). The ejection fraction improved in MI-NAC compared to MI-SAL ($P < 0.05$). The heart rate variability in the time domain showed increased heart rate in MI-SAL and decreased RMSSD when compared to the MI-NAC ($P < 0.01$). The frequency domain analysis of heart rate variability, there showed increased low frequency domain component (U.N), decreased high frequency component (U.N) and increased LF/HF ratio in MI-SAL when compared to MI-NAC ($P < 0.01$). The analysis of NGF gene expression by RT-PCR showed increased in MI-SAL compared to MI-NAC ($P < 0.05$). The treatment of infarcted rats during 28 days with N-acetylcysteine was effective to avoid the left ventricle dilation showing an adaptative pattern, improving heart function, attenuating the congestive process by improving the redox profile and inducing a more favorable autonomic modulation, at least in part by the reduction of the expression of NGF.

Key words: Acute myocardial infarction; oxidative stress; N-acetylcysteine

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

AF - alta frequência
AGE - glicação e produtos avançados
AMPc - adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
BF - baixa frequência
D3 - desidase tipo 3
ECG – eletrocardiograma
Eco - ecocardiograma
EROs - espécies reativas do oxigênio
ET-1 - endotelina 1
FAD - dinucleótido de flavina e adenina
FC - frequência cardíaca
GPCR - receptor acoplado a proteína G
GPX - glutathione peroxidase
GSH - glutathione
GSSG - glutathione oxidase
GTP - Trifosfato de guanosina
IM - infarto do miocárdio
ICC - insuficiência cardíaca congestiva
MBF - muito baixa frequência
NAC - N-acetilcisteína
NADPH - nicotinamida adenina dinucleótido fosfato hidrogênio
NGF - fator de crescimento neural
NO - óxido nítrico
PDGF - fator de crescimento derivado de plaquetas
PLB - fosfolamban
pNN50 - percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50ms de seus adjacente
RMSSD - raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais consecutivos
SDNN - desvio padrão de todos os intervalos RR normais
SNAS - Sistema Nervoso Autônomo Simpático
SOD - superóxido dismutase
SRAA - Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
TNF- α - fator de necrose tumoral- α
UBF - ultra baixa frequência
VDFVE - volume diastólico final do ventriculo esquerdo
VE - ventrículo esquerdo
VEGF - fator de crescimento endotelial vascular
VFC - variabilidade da frequência cardíaca

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Aspectos epidemiológicos do infarto agudo do miocárdio (IAM) e da insuficiência cardíaca (IC)	3
2.2 Aspectos fisiopatológicos do IM	4
2.3 Infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca em mulheres	5
2.4 Caminhos que levam à morte celular decorrentes da isquemia	6
2.5 Inflamação – início da cicatrização – consolidação da cicatriz.....	7
2.6 Déficit mecânico pós-infarto e repercussões na fração de ejeção	8
2.7 Insuficiência Cardíaca Congestiva.....	9
2.8 Ativação simpática - Importância e consequência	11
2.9 Espécies Reativas do Oxigênio e Insuficiência Cardíaca	12
2.10 Espécies Reativas do Oxigênio e a Fisiologia Cardiovascular	13
2.11 Estresse Oxidativo no Infarto do Miocárdio	14
2.12 Nox2 no Infarto do Miocárdio	16
2.13 Papel da N-acetilcisteína no Infarto do Miocárdio	17
2.14 Estudo da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC)	19
2.15 Disfunção Autonômica no Infarto do Miocárdio Clínico e Experimental	23
3. JUSTIFICATIVA	26
4. OBJETIVOS	27
4.1 Objetivo Geral	27
4.2 Objetivos específicos	27
5. MATERIAL E MÉTODOS	28
5.1 Animais	28
5.2 Avaliação anatomohistopatológica	29
5.3 Técnica da Produção do Infarto Cicatrizado do Miocárdio	29
5.4 Registro Eletrocardiográfico (ECG)	30
5.5 Registro Ecodopplercardiográfico (ECO)	31
5.6 Avaliação do estresse oxidativo e dos sistemas de defesas antioxidantes	33
5.7 Avaliação da expressão do fator de crescimento neural (NGF) por qRT-PCR	35
6. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	37
6.1 Procedimento Experimental	37
6.2 Critérios de exclusão	38
6.4 Análise Estatística	39
7. RESULTADOS	40
7.1 Anatomohistopatologia	40
7.2 Estresse Oxidativo	41
7.3 Ecodopplercardiografia	44
7.4 Variabilidade da Frequência Cardíaca	48
7.5 Expressão do fator de crescimento neural (NGF)	50
8. DISCUSSÃO	52
9. CONCLUSÃO	59
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares lideram o ranking de morte em nosso país. Estima-se que para 2020, o número de óbitos por doença arterial coronária possa se elevar a valores entre 35 e 40 milhões. Nos países onde a doença arterial coronariana é a principal causa de morte esta é, também, a principal causa da insuficiência cardíaca (IC). A mortalidade nos pacientes com IC ocorre de forma súbita, por falência progressiva do coração e por outras formas, incluindo infarto agudo do miocárdio (IAM). Neste sentido, o conhecimento fisiopatológico minucioso do IAM, considerado o principal representante das doenças arteriais coronarianas, seria fundamental para em futuro próximo, ao menos minimizar as altas morbidades e mortalidades associadas a essa condição clínica.

A fisiopatologia do IAM é descrita como a interrupção da irrigação de uma área da musculatura cardíaca, pela presença de placas ateroma ou trombo, devido a aterosclerose e coágulo sanguíneo, respectivamente. Isto causa obstrução total ou parcial da artéria coronária e leva ao quadro de isquemia miocárdica. Em resposta ao baixo débito cardíaco, ocorre reflexo simpático cardíaco que desempenha um papel decisivo na gênese das arritmias ventriculares precoces, as quais estão associadas a risco aumentado de fibrilação ventricular e mortalidade pós-infarto.

Tradicionalmente, o estresse oxidativo é considerado um efeito potencialmente deletério, que resulta da oxidação e destruição de macromoléculas, membranas e DNA, mediado pela ação de espécies reativas ao oxigênio (EROs), também conhecido como radicais livres. O estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese do remodelamento do miocárdio após infarto, podendo induzir a liberação de citocinas pró-inflamatórias, apoptose de cardiomiócitos, fibrogênese e hipertrofia cardíaca. O aumento dos níveis de espécies reativas do oxigênio (EROs), bem como o déficit de substâncias antioxidantes, observados após infarto do miocárdio, estão diretamente envolvidos nas mudanças estruturais e funcionais que ocorrem durante o desenvolvimento e progressão do remodelamento cardíaco. Sendo assim, seria bastante razoável propor que o tratamento com substâncias antioxidantes seria capaz de ao menos atenuar a evolução fisiopatológica do IAM, por reduzir o estresse oxidativo e o remodelamento no coração, e assim, melhorar a função ventricular esquerda.

Nesse sentido, a N-acetilcisteína (NAC), é um agente farmacológico que teve seu uso restrito durante muito tempo no tratamento, com sucesso, da bronquite crônica e outras patologias pulmonares (devido à sua ação mucolítica e expectorante) e no

tratamento da intoxicação por paracetamol/acetaminofeno (por neutralizar produtos reativos minimizando lesões teciduais). O efeito benéfico do NAC, nesses casos, pode ser creditado ao seu potencial antioxidante, por ser prontamente hidrolisada a cisteína, um precursor da glutatona (GSH), que por sua vez, é sintetizada em duas etapas envolvendo as enzimas γ -glutamilcisteína ligase e γ -glutamilcisteína sintetase. Atualmente a NAC é utilizada terapêuticamente em vários ramos da medicina, pois apresentar algumas características interessantes do ponto de vista farmacoterapêutico. Além de possuir elevada segurança farmacológica (índice terapêutico alto), estudos demonstraram que o tratamento com NAC em ratos infartados foi capaz de diminuir a hiperinervação simpática e, portanto, reduzir os riscos de arritmias cardíacas. No entanto, nenhum estudo funcional foi publicado em modelos de IC associados ao tratamento com NAC. Concomitantemente, embora estudos prévios tenham demonstrado efeito cardioprotetor na atenuação da lesão tecidual em modelos experimentais de IAM pela administração de antioxidantes, não são claras as evidências sobre o tratamento em longo prazo com substâncias antioxidantes sobre a evolução fisiopatológica do IAM tanto em modelos experimentais quanto em humanos.

Considerando a limitação das terapias farmacológicas atuais para IAM, a busca por novas estratégias terapêuticas mais eficazes, baseadas em estudos pré-clínicos, tem granjeado muita atenção da comunidade médica e científica. Sendo assim, este estudo teve como objetivo aprofundar os estudos sobre as bases fisiopatológicas do IAM, além de avaliar o efeito crônico do tratamento com N-acetilcisteína na estrutura, modulação autonômica e função cardíaca no infarto do miocárdio em ratos Wistar fêmeas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos epidemiológicos do infarto agudo do miocárdio (IAM) e da insuficiência cardíaca (IC)

As doenças cardiovasculares representam a principal causa de mortalidade e incapacidade no Brasil e no mundo já há décadas (LOPEZ, 1993). Mais recente estima-se que 17,5 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares em 2012, representando 31% de todas as mortes globais. Destes óbitos, cerca de 7,4 milhões foram devidos a doença coronária e 6,7 milhões a acidentes vasculares cerebrais (WHO, 2016). No Brasil, as doenças cardiovasculares lideram o ranking de morte. De acordo com a base de dados do DATASUS, cerca de 100 mil óbitos anuais são devidos à doença coronariana. Em 80,0% dos casos de morte súbita têm como substrato a doença aterosclerótica das coronárias e 50,0% das mortes por infarto agudo do miocárdio ocorrem antes de o paciente chegar ao hospital (SIERVULI *et al.*, 2014). Segundo a Organização Mundial de Saúde, as doenças cardiovasculares lideram as causas de morte no mundo. Estima-se, para 2020, que o número óbitos por doença arterial coronariana possa se elevar a valores entre 35 e 40 milhões. Seu crescimento acelerado em países em desenvolvimento representa uma das questões de saúde pública mais relevante da atualidade.

Doenças isquêmicas graves assim como processos hipertensivos, relacionados principalmente ao estresse e a má alimentação, juntamente com o tabagismo e alcoolismo, têm sido os grandes causadores das doenças cardiovasculares (AVEZUM *et al.*, 2005; GUIMARÃES, AVEZUM e PIEGAS, 2006).

Dentre essas doenças, a hipertrofia ventricular constitui um indicador de grande relevância no risco de morbidade e mortalidade cardiovascular. Segundo *Framingham Heart Study*, os indivíduos que apresentam hipertrofia ventricular, diagnosticada por alterações eletrocardiográficas, apresentam risco de morte seis vezes maior que a população em geral (KANNEL *et al.*, 1983).

A despeito dos recentes avanços da medicina, a insuficiência cardíaca (IC) continua sendo responsável por elevados índices de morbidade e mortalidade no mundo inteiro. A epidemiologia da IC é bastante controversa no Brasil, pois estudos epidemiológicos são mais difíceis de serem realizados, sendo portanto escassos na literatura (LESSA, 2001). As dificuldades relacionam-se pela falta de acordo universal sobre uma definição da IC, que é principalmente um diagnóstico clínico (DAVIS,

HOBBS e LIP, 2000), sendo necessários diversos exames para diagnósticos específicos, o que torna os estudos muito caros (ARAÚJO et al., 2005). Além dos altos custos hospitalares e de atendimentos de emergência, a IC provoca perda da qualidade de vida, resultando em aposentadorias precoces e em altos custos socioeconômicos para o país (BARRETTO et al., 2002). Dentre as principais causas da IC citam-se a hipertensão arterial, a doença arterial coronária e a disfunção ventricular. Nos países onde a doença arterial coronária é a principal causa de morte, esta é também, a principal causa da IC. Considerando ainda a atual limitação farmacológica para o tratamento da IC (BEER et al., 2007), a busca por novas estratégias terapêuticas mais eficazes, baseadas em estudos pré-clínicos, tem granjeado muita atenção das comunidades médica e científica.

2.2 Aspectos fisiopatológicos do IAM

O infarto agudo do miocárdio (IAM) ocorre quando uma área da musculatura cardíaca tem a sua irrigação interrompida, pela presença de ateroma ou por obstrução total ou parcial da artéria por êmbolo ou trombo, aterosclerose e coágulo sanguíneo (SIERVULI *et al.*, 2014), caracterizando o quadro de isquemia miocárdica. A consequência bioquímica imediata dessa isquemia é a interrupção do metabolismo aeróbico, levando à produção inadequada de fosfatos de alta energia e acúmulo de produtos de degradação nocivos. A isquemia grave induz perda de contratilidade levando a disfunção miocárdica, precipitando o aparecimento de insuficiência cardíaca aguda antes do início da morte dos cardiomiócitos (SIERVULI et al., 2014). Esses mecanismos a longo prazo podem acarretar em um quadro de insuficiência cardíaca congestiva (ICC).

Dependendo da sua extensão, tais alterações são potencialmente reversíveis e a morte celular não é imediata, no entanto, as consequências metabólicas precoces da isquemia intensa, por pelo menos 20-30 minutos, pode resultar em morte celular e comprometimento das propriedades elétricas e mecânicas do coração levando ao dano irreversível (necrose) dos cardiomiócitos (REIMER e IDEKER, 1987; AVEZUM et al., 2004).

Estruturalmente, o infarto do miocárdio é caracterizado pela presença de tecido fibroso após a fase aguda da doença isquêmica, rico em fibras colágenas e fibroblastos formando uma densa camada neovascularizada, subendocárdica ou transmural (MALLORY e PARKER, 1939; FISHBEIN, MACLEAN e MAROKO, 1978; FACTOR, 1990). O tecido miocárdico viável pode passar por alterações anatomopatológicas

características do processo de remodelamento cardíaco (hipertrofia, aumento da cavidade ventricular e formação de aneurisma), que variam de intensidade devido a fatores estruturais (extensão da lesão e características do processo cicatricial) e hemodinâmicos (sobrecarga volumétrica) (FACTOR, 1990; PFEFFER e BRAUNWALD, 1990).

A situação se agrava quando o processo hipertrófico do músculo cardíaco se estabelece em resposta a diversos estímulos locais e sistêmicos. A essas e outras alterações morfológicas do órgão, chamamos de “remodelamento cardíaco”. O remodelamento cardíaco é uma série de alterações na estrutura e na função cardíaca, os quais desempenham um papel importante no desenvolvimento subsequente da insuficiência cardíaca (IC) (ZORNOFF et al., 2009).

2.3 Infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca em mulheres

Estudos epidemiológicos mostraram que dentre os pacientes sobreviventes à IC, existem diferenças marcantes quando se leva em consideração o sexo. Sabe-se que mulheres desenvolvem menos doenças cardiovasculares e menor prevalência de hipertrofia cardíaca do que homens (GARDIN et al., 1995) e o prognóstico para mulheres é melhor do que para homens com IC causada por doenças não-isquêmicas (SIMON et al., 2001) e, esta diferença desaparece após a menopausa (EAKER et al., 1993; LERNER e KANNEL, 1986). Em pacientes idosos, com níveis similares de estenose aórtica, as mulheres apresentam a função cardíaca mais bem preservada do que os homens (BUTTRICK e SCHEUER, 1992). A diferença sexual também é nítida em modelos de hipertrofia e hipertensão em ratos. Neste caso, ratos machos apresentam uma progressão acelerada no desenvolvimento fisiopatológico da IC comparados as fêmeas (TAMURA, SAID e GERDES, 1999; WALLEN et al., 2000). Em estudo recente de *Framingham*, foi encontrada mortalidade de 37% para homens e 38% para mulheres, após dois anos do diagnóstico de IC. Após seis anos, 82% dos homens e 67% das mulheres haviam falecido (KANNEL, PLEHN e CUPPLES, 1988). Em quase todas as faixas etárias de 30 a 62 anos, a taxa de incidência de falha cardíaca congestiva foi maior para homens do que para mulheres (MCKEE et al., 1971). Mulheres apresentam maior prevalência de função sistólica preservada e menor incidência de disfunção ventricular do que homens com IC (VASAN et al., 1999; CLELAND et al., 2003). Estudos anteriores do nosso laboratório mostrou que as fêmeas submetidas ao infarto parecem mostrar uma atenuação da modulação simpática, equilíbrios de fluidos e eletrólitos mais favoráveis e uma função

cardíaca melhor preservada em comparação com os machos submetidos ao mesmo modelo de infarto (SOUZA et al., 2016). Contudo ainda há uma falsa percepção de que a doença cardiovascular não seria particularmente perigosa para as mulheres. De um modo geral, ao analisar a razão de taxas de mortalidade masculina e feminina, a doença cardiovascular em geral e isquêmica em particular foi maior entre os homens do que nas mulheres, porém nas cidades brasileiras a mortalidade entre as mulheres brasileiras é mais elevada em relação a outros países (ESCOSTEGUY, 2002). Sendo assim, a escolha do gênero no presente estudo se baseou principalmente na escassez de estudos com fêmeas infartadas e a crescente importância epidemiológica de insuficiência cardíaca em mulheres (MOSCA et al., 2007, 2011; RAPEPORT, 2011). A doença cardiovascular no sexo feminino é um problema de saúde pública prioritário que deve ser reconhecido e enfrentado. É fundamental estimular o desenvolvimento de procedimentos terapêuticos para a melhoria da qualidade de tratamento em mulheres, uma vez que há evidências de que intervenções eficazes sejam desigualmente utilizadas entre os sexos (ESCOSTEGUY, 2002).

2.4 Caminhos que levam à morte celular decorrentes da isquemia

Após a oclusão de uma artéria coronária principal, o teor de oxigênio dos tecidos cardíacos diminui e o metabolismo oxidativo mitocondrial torna-se inibido. Com a perda de oxigênio, a fosforilação oxidativa mitocondrial para rapidamente, com a consequente perda da principal fonte de produção de ATP para o metabolismo energético (BUJA, 2005). Concomitantemente com a inibição das reações oxidativas, ocorre aumento compensatório na glicólise anaeróbia para a produção de ATP. Na isquemia miocárdica grave, o glicogênio sarcoplasmático é o principal substrato para essa via. Assim, as consequências metabólicas precoces da isquemia incluem a diminuição das reservas de glicogênio e a acumulação progressiva de íons de hidrogênio e lactato, resultando em acidose intracelular e inibição da glicólise, bem como o ácido graxo mitocondrial e o metabolismo de energia residual. Com um declínio substancial no ATP, a Na^+/K^+ -ATPase é inibida, resultando em um declínio de K^+ e um aumento de Na^+ (REIMER e IDEKER, 1987; BUJA, 2005). Além disso, todas as proteínas miocárdicas com capacidade ATPásica, aquelas responsáveis pela captação de cálcio, podem apresentar déficits em suas funções, com deterioração tanto da função cardíaca sistólica quanto da diastólica (FRANCIS, 2001). O efeito combinado das vias catabólicas acima mencionadas é uma

carga osmótica intracelular substancial que pode contribuir para o inchaço das células o que causa a ruptura do sarcolema do miócito inchado.

2.5 Inflamação – início da cicatrização – consolidação da cicatriz

Em mamíferos adultos, o processo de reparo ocorre pela substituição de células maduras onde há formação de cicatriz. A cicatriz é caracterizada por fibroblastos e uma matriz extracelular desorganizada, formada principalmente por colágeno. A cicatrização constitui-se de três fases- fase inflamatória (0-2 dias), formação de novos tecidos (5-20 dias) e um estágio de remodelamento (> 21dias) envolvendo a participação de muitos genes (RUH et al., 2013). A fase inflamatória se caracteriza por vasodilatação, ativação de plaquetas que ativam a cascata de coagulação iniciando a formação de uma matriz de fibrina, permitindo a migração celular (RUH et al., 2013).O reparo tecidual ocorre pela formação de um tecido fibroso, produzido principalmente por células como os fibroblastos, denominado cicatriz, que leva à disfunção do tecido.

A resposta inflamatória prolongada cria um ambiente inadequado para regeneração (SEGERS e LEE, 2008). Como tentativa normal de remoção dos tecidos danificados e mortos (ex: após o infarto do miocárdio), a inflamação pode se prolongar e exacerbar as consequências injuriosas.

Os neutrófilos são geralmente as primeiras células a infiltrar a lesão, contribuem, respectivamente, para a digestão proteolítica e fagocitose do tecido infartado e, juntamente com os macrófagos, produzem fatores de crescimento que estimulam a angiogênese e a fibrinogênese (SUN et al., 2002). A formação de novos tecidos é caracterizada por proliferação e migração celular permitindo o início de cobertura da lesão. Na fase final, de remodelamento, ocorre uma transição de tecido de granulação em tecidos maduros com cicatriz, o que resulta na perda de elementos contráteis e diminui a eficácia de contração do tecido fibrótico no miocárdio sobrevivente (GASPARELO, 2009). Este processo exige a participação de várias enzimas proteolíticas, incluindo metaloproteinases da matriz, responsáveis pela degradação do colágeno. A quebra da rede de colágeno interfibrilar pode ter inúmeras consequências, tanto na arquitetura quanto na função ventricular. O processo de cicatrização da área do infarto inicia-se nas bordas e caminha em direção ao centro da lesão (SIERVULI et al., 2014) e após 21 dias da oclusão coronariana o processo de cicatrização se torna completo (ZORNOFF et al., 2009).

2.6 Déficit mecânico pós-infarto e repercussões na fração de ejeção

O infarto é acompanhado por disfunção tanto sistólica como diastólica, que já são identificadas 3 horas após a oclusão coronariana em ratos (PFEFFER et al., 1979). Inicialmente, a disfunção ventricular é consequência da perda de tecido contrátil, secundária ao infarto, levando a queda do volume ejetado, com aumento do volume sistólico final e diastólico final do ventrículo esquerdo resultando em aumento da tensão diastólica e dilatação ventricular. A contratilidade tende a ser reestabelecida através do mecanismo de *Frank-Starling*, normalizando as pressões de enchimento ventricular numa fase inicial (ZORNOFF et al., 2009). O tecido miocárdico viável pode passar por alterações anatomopatológicas características do processo de remodelamento cardíaco (hipertrofia, aumento da cavidade ventricular e formação de aneurisma), que variam de intensidade devido a fatores estruturais (extensão da lesão e características do processo cicatricial) pós-infarto.

Em situações de remodelamento e disfunção ventricular, ocorre um aumento precoce do Ca^{2+} citosólico devido a alterações multifatoriais nos sistemas de transporte no sarcolema e no retículo sarcoplasmático, como modificações dos canais-L, receptores da rianodina, diminuição da atividade da calsequestrina que regulam a quantidade de cálcio ofertado às proteínas contráteis durante o processo de contração, bem como, diminuição da calmodulina quinase, redução na fosforilação da fosfolambam e redução na atividade da SERCA-2 responsáveis pela maior captação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático, promovendo melhora do relaxamento (HASENFUSS et al., 1997). Em função disso, a ativação das proteases induzida por Ca^{2+} causa alterações nas proteínas contráteis, diminuição da sensibilidade ao Ca^{2+} e comprometimento sustentado da contratilidade apesar do Ca^{2+} citosólico elevado (BUJA, 2005). Estes achados suportam a ideia de que em associação com alterações nos sistemas de transporte iônico nas membranas do sarcolema e organelas (BUJA, 1991), a função reduzida do retículo sarcoplasmático para acumular cálcio pode refletir em uma contração prejudicada, com atividade elétrica persistente causando grande defeito no acoplamento de excitação e contração na insuficiência cardíaca humana.

Em condições de hipertrófica cardíaca ocorre diversas alterações na via beta-adrenérgica, tais como, diminuição da concentração de receptores β_1 , aumento da concentração de receptores β_2 , diminuição dos níveis de proteína Gs, aumento dos níveis de proteína Gi e redução da atividade da adenil ciclase. Portanto, a exemplo do que ocorre

com o trânsito de cálcio, a via beta-adrenérgica provavelmente desempenha papel crítico na deterioração da função cardíaca no coração remodelado (BARROS, OKOSHI e CICOGNA, 1999).

2.7 Insuficiência Cardíaca Congestiva

A Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC), devido ao infarto do miocárdio, é iniciada por disfunção sistólica levando à diminuição do débito cardíaco, com consequente diminuição do fluxo renal, aumentando à retenção de sódio e água e ao surgimento de edemas periférico e pulmonar. Para sustentar um débito cardíaco adequado e, conseqüentemente, perfusão tecidual normal, ocorre dilatação das câmaras ventriculares, com aumento da pressão de enchimento ventricular esquerda. A disfunção ventricular sistólica após o IAM tem sido extensivamente estudada em sua relação com desenvolvimento da insuficiência cardíaca (IC) e aumento da mortalidade (ANTONELLI et al., 2015).

Na ICC ocorre a incapacidade do coração em manter o débito cardíaco necessário ao metabolismo, ou quando a manutenção só é possível através do aumento das pressões ventriculares. Quando o coração não bombeia o sangue adequadamente, uma parte dele fica estagnada no leito venoso e capilar, fenômeno esse chamado de congestão veno-capilar. O aumento resultante da pressão veno-capilar provoca distensão venosa e extravasamento de líquido para o interstício, determinando um acúmulo de fluido (edema). Isto leva a ativação de respostas homeostáticas, como o aumento da atividade do Sistema Nervoso Autônomo Simpático (SNAS) e do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), ambos vinculados à manutenção da função cardiovascular bem como a ativação de respostas concernentes a regulação hidroeletrólítica (ADAMS, 2004; FRANCIS et al., 2001). O baixo débito estimula os barorreceptores arteriais e venosos, ativando o SNAS que, age sobre os receptores β_1 , promovendo o aumento da contratilidade dos miócitos remanescentes. O SRAA, que também é ativado pelo baixo débito, aumenta a retenção de sódio e água pelos rins pelos túbulos renais. Estes mecanismos compensatórios surgem na tentativa de compensar, na fase inicial da doença, a perda de outros miócitos, mantendo, assim, o débito sistólico, aumentando a frequência cardíaca, a pressão diastólica final e da massa ventricular.

O recrutamento da alça neuro-humoral na ICC é idêntico ao de estados hipovolêmicos (COURNEYA e KORNER, 1991): o sistema nervoso autônomo

simpático e o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) agem no sentido de restaurar a pressão arterial através da vasoconstrição e da retenção de fluídos. Porém, na insuficiência cardíaca, a homeostase não pode ser estabelecida devido a persistência da disfunção ventricular esquerda, e com o aumento excessivo do volume diastólico final a performance ventricular passa a se tornar dificultada, levando ao aumento das pressões de enchimento e à redução do débito sistólico. Assim, na ausência de uma alça de feedback negativo, o que seria vantajoso sob o ponto de vista homeostático, torna-se parte de um ciclo vicioso que acaba por deteriorar ainda mais o quadro fisiopatológico. Sendo assim, a manutenção da estabilidade hemodinâmica se dá às custas desses mecanismos de compensação resulta em deformação na estrutura cardíaca e vascular, propiciando a hipertrofia cardíaca e arteriolar para a qual a via final comum de todos os processos de doença cardiovascular irão convergir na dilatação ventricular (ZORNOFF et al., 2009).

As alterações genéticas, estruturais e bioquímicas causadas pelo IAM resultam em deterioração da capacidade funcional do coração a longo prazo, e conseqüente aparecimento dos sinais e sintomas da IC e/ou morte súbita (ZORNOFF et al., 2009). O desenvolvimento de IC após o IAM está relacionado com o tamanho do infarto, a doença multiarterial coronariana, a eficiência da reperfusão e o uso de medicações adjuvantes (ANTONELLI et al., 2015). A IC apresenta em torno de 20 a 30% de prevalência pós-IAM, mesmo sobre a crescente utilização da revascularização miocárdica precoce (NICOD et al., 1988), representando a principal causa de morbimortalidade intra-hospitalar (GREENBERG, MCMASTER e DWYER, 1984).

2.8 Ativação simpática – Importância e consequência

O estudo eletrofisiológico pode ser útil para estratificar o risco de morte súbita em pacientes com cardiopatia estrutural. O risco de morte súbita ou parada cardíaca em pacientes com IAM prévio, podem ser maior em pacientes com disfunção ventricular esquerda e taquicardia ventricular (AVEZUM et al., 2004). Em modelos experimentais utilizando cães, quando se provoca infarto agudo, ocorre depressão da atividade parassimpática, deslocando o equilíbrio autonômico em favor do sistema simpático (SCHWARTZ, BILLMAN e STONE, 1984; SCHWARTZ et al., 1988; FARRELL et al., 1991).

A disfunção autonômica pós-infarto pode ser provocada por vários mecanismos. Áreas seletivas de desnervação parassimpática podem ocorrer, resultando em

hipersensibilidade às catecolaminas. Bem como, os distúrbios hemodinâmicos subsequentes ao infarto que aumentam a produção reflexa de catecolaminas com o objetivo de manter a pressão sanguínea diminuída pela queda do débito cardíaco (AVEZUM et al., 2004).

O coração é rico em fibras simpáticas e parassimpáticas e a estabilidade elétrica do miocárdio é dependente das influências sinérgicas normais de ambas as divisões do sistema nervoso autônomo (FARRELL et al., 1991), podendo ser danificadas, ou sua função ser alterada por um IAM gerando perturbações na atividade neural de origem cardíaca (SCHWARTZ et al., 1988).

A isquemia miocárdica aguda desencadeia um reflexo simpático cardíaco, que desempenha um papel decisivo na gênese das arritmias ventriculares precoces (SCHWARTZ, BILLMAN e STONE, 1984). Isso demonstra a importância da atividade vagal como protetora contra a indução de arritmias ventriculares em sobreviventes de infarto do miocárdio (SCHWARTZ et al., 1988). Assim, a ativação de fibras aferentes simpáticas tem o potencial de prejudicar a manutenção vagal, facilitando assim a ocorrência de uma taquicardia perigosa (SCHWARTZ, BILLMAN e STONE, 1984).

A hiperatividade simpática é deletéria não só por causa de seus efeitos eletrofisiológicos diretos, mas também porque produz um aumento adicional de uma frequência cardíaca já fisiologicamente elevada. Isto, por sua vez, aumenta a gravidade da isquemia e precipita a fibrilação ventricular (SCHWARTZ et al., 1988).

Após o IAM tanto a sensibilidade do baroreflexo quanto a variabilidade da frequência cardíaca, isto é, a variação dos intervalos entre batimentos sucessivos ao longo do tempo (ver com detalhes a diante), são deprimidas, estando associadas a um risco aumentado de fibrilação ventricular e mortalidade. Sendo assim, a função autonômica desordenada pode facilitar a expressão de arritmias com risco de vida em pacientes pós-infarto. Essa ideia deixa claro a importância dos mecanismos subjacentes à complexa relação entre o sistema nervoso autônomo, isquemia miocárdica aguda e arritmias com o risco de vida.

2.9 Espécies Reativas do Oxigênio e Insuficiência Cardíaca

A hipertrofia cardíaca é frequentemente associada ao infarto agudo do miocárdio (ZAINO e TABOR, 1963; ANVERSA et al., 1986; JANSSENS et al., 2004) sendo um processo muito importante para a compensação do volume de tecido perdido do

miocárdio danificado e preservação da função cardíaca (RUBIN, FISHBEIN e SWAN, 1983). No entanto, a hipertrofia pode levar a declínio da função ventricular e, finalmente, à insuficiência cardíaca. O estresse oxidativo mediado por espécies reativas de oxigênio (EROs) desempenha papel importante na patogênese do reparo/remodelamento do miocárdio após IM (HILL e SINGAL, 1996; KHAPER et al., 2003; GRIEVE et al., 2004; LU, QUINN e SUN, 2004; LOOI et al., 2008), podendo induzir a liberação de citocinas pró-inflamatórias, apoptose de cardiomiócitos (HARE, 2001), fibrogênese (POLI e PAROLA, 1996) e hipertrofia cardíaca (NAKAGAMI, TAKEMOTO e LIAO, 2003).

Essa hipertrofia é mediada em parte pela via da angiotensina II (Ang II), que aumenta a síntese de proteínas contráteis (SUTTON e SHARPE, 2000). Após infarto há aumento da atividade do sistema nervoso autônomo simpático (LEE, LAI e CHANG, 2010; CHAN et al., 2015), que leva ao aumento na produção de catecolaminas pela medula da suprarrenal. A liberação aumentada de noradrenalina contribui direta e indiretamente para a resposta hipertrófica, por meio da ativação dos adrenorreceptores β_1 no aparelho justaglomerular induzindo a liberação de renina, o que aumenta a produção de Ang II, estímulo importante para a hipertrofia no miocárdio não infartado (LINDPAINTNER et al., 1993; SUTTON e SHARPE, 2000) sendo essa resposta mediada por receptores AT1 (BUSCHE et al., 2000).

O aumento dos níveis de espécies reativas do oxigênio (EROs), bem com o déficit de antioxidante e o aumento na expressão de NADPH oxidase, observados após infarto do miocárdio, estão diretamente envolvidos nas mudanças estruturais e funcionais que ocorrem durante o desenvolvimento e progressão do remodelamento cardíaco (FUKUI et al., 2001; GRIEVE et al., 2004; LOOI et al., 2008). O aumento da EROs pode ser um mecanismo subjacente comum pelo qual níveis altos na circulação ou tecido de Ang-II levar ao desenvolvimento de hipertrofia cardíaca, no entanto esta resposta é inibida pelo tratamento com antioxidantes (NAKAGAMI, TAKEMOTO e LIAO, 2003). O tratamento antioxidante crônico suprime o estresse oxidativo cardíaco e atenua o remodelamento ventricular, preservando parcialmente a função ventricular esquerda e melhorando a sobrevivência em animais com IAM experimental (KINUGAWA et al., 2000; SIA et al., 2002; SIA, PARKER, TSOPORIS et al., 2002).

Sendo assim, a inibição da produção de EROs pode também reduzir a remodelamento adverso e melhorar a função contráctil do ventrículo esquerdo, apresentando um potencial terapêutico para o tratamento da insuficiência cardíaca crônica (GRIEVE et al., 2004).

2.10 Espécies Reativas do Oxigênio e a Fisiologia Cardiovascular

Todos os organismos aeróbicos geram espécies reativas de oxigênio (EROs ou ROS, do inglês: *reactive oxygen species*), moléculas que contém oxigênio e que são caracterizadas pela sua alta reatividade química. As ERO incluem os radicais livres (OH com um ou dois elétrons não-pareados) como os superóxidos ($O_2^{\cdot-}$) e os radicais hidroxílicos (OH^{\cdot}) e as espécies não-radicaís como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (BARREIROS, DAVID e DAVID, 2006; FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Fisiologicamente, a geração das EROs é contraregulada pela atividade dos sistemas antioxidantes enzimáticos, como a superóxido dismutase (SOD), catalase e a glutathione peroxidase (GPX), e outras moléculas como a peroxiredoxina, thioredoxina/thioredoxina redutase etc., e sistemas não enzimáticos como as vitaminas C e E, que tamponam ou reduzem os níveis das ERO mantendo com isso um balanço redox apropriado nas células e tecidos (BARREIROS, DAVID e DAVID, 2006). Em condições fisiológicas do metabolismo humano e de animais ocorrem produções de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio. Alterações nesse balanço normal, seja pelo aumento na geração das ERO ou pela diminuição da reserva dos sistemas antioxidantes, levam a um estado conhecido como: estresse oxidativo, onde as moléculas biológicas e as membranas aumentam a suscetibilidade de reagir com as EROs (BARBOSA et al., 2010).

Os potenciais sítios de geração de ERO no sistema cardiovascular incluem: mitocôndria (IDE et al., 2001), NADPH oxidases (MURDOCH et al., 2006), óxido nítrico sintases desacopladoras (MASANO et al., 2008), xantina oxidase (ENGBERDING et al., 2004).

No entanto, foi demonstrado recentemente que ERO podem exercer efeitos modulatórios na célula (CAVE et al., 2006). Primeiro, a regulação fina na produção de ERO pode modular a atividade de diversas moléculas intracelulares e vias de sinalização e então regular as alterações agudas e crônicas altamente específicas do fenótipo celular, o mecanismo conhecido como: “sinalização redox.” Segundo, a interação do $O_2^{\cdot-}$ com a molécula sinalizadora óxido nítrico (NO), leva tanto a redução na biodisponibilidade quanto a geração de outra espécie reativa: peroxinitrito ($ONOO^{\cdot-}$), que por sua vez, tem atividade biológica. A inativação do NO pelas ERO é um mecanismo chave para explicar a disfunção endotelial, que por sua vez, é um importante contribuidor para a fisiopatologia de doenças cardiovasculares (CAVE et al., 2006). Assim, ERO podem exercer desde um

amplo espectro de atividades fisiológicas importantes até outras deletérias sendo, neste caso, espécies reativas perigosas responsáveis pela destruição celular oxidativa (CAVE et al., 2006).

2.11 Estresse Oxidativo no Infarto do Miocárdio

Essas espécies reativas apresentam importantes funções biológicas como na defesa do sistema imune contra um agente invasor. A maquinaria celular dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio redox. Entretanto, durante desequilíbrios homeostáticos, a produção exagerada de espécies reativas acarreta no desencadeamento do estresse oxidativo, no qual o desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante com o predomínio das espécies reativas oxidantes podem gerar danos teciduais com destruição do DNA celular, assim como podem promover peroxidação de lipídeos de membranas e peroxidação de proteínas.

Tradicionalmente, o estresse oxidativo foi considerado ser universalmente deletério, resultado da oxidação e destruição, induzida por radicais livres, de macromoléculas, de membranas e do DNA (POULSEN, PRIEME e LOFT, 1998; VALKO et al., 2004). Por exemplo, a normalização da oferta de oxigênio durante a reperfusão sanguínea miocárdica após uma isquemia prolongada é acompanhada por produção exagerada de radicais livres que traz consequências deletérias tais como aceleração da morte celular por apoptose e necrose (FRANCISCHETTI et al., 2010; SILVEIRA e PROCIANOY, 2005).

Espécies reativas de oxigênio influenciam vários componentes do fenótipo de falha cardíaca, incluindo função contrátil, fibrose intersticial, disfunção endotelial e hipertrofia de miócitos. Nox2 e Nox4 oxidases parecem ser ativadas de um modo específico e afetam diferentes componentes da resposta hipertrófica geral, dependendo do estímulo (MURDOCH et al., 2006).

ERO são bem conhecidos pelos seus efeitos destruidores por meio de interações não específicas com proteínas, lipídeos de membranas, mitocôndria e o DNA. Tais efeitos são importantes na insuficiência cardíaca e após a reperfusão coronariana após a isquemia miocárdica (GIORDANO, 2005). No entanto, em baixos níveis a produção específica de ERO (em particular de H_2O_2 , que é relativamente estável e difusível) pode mediar à modulação reversível da atividade de inúmeras enzimas, proteínas, canais iônicos, e fatores de transcrição e, portanto, tem ações importantes na sinalização redox (DRÖGE,

2002; SHAH e SAUER, 2006). Além disso, evidências clínicas e experimentais suportam o importante papel do estresse oxidativo e dos EROs no remodelamento cardíaco e insuficiência cardíaca (GIORDANO, 2005). Por exemplo, marcadores de estresse oxidativo estão elevados em pacientes com insuficiência cardíaca e se correlaciona com a disfunção cardíaca e insuficiência cardíaca (MCMURRAY et al., 1993; MALLAT et al., 1998; VALGIMIGLI et al., 2004). Aumento na produção de ERO foi descrito diretamente no coração insuficiente utilizando para isso métodos extremamente específicos como a espectroscopia de ressonância elétron spin (IDE et al., 2000; SAM et al., 2005). Portanto, as vias de sinalização redox estão envolvidas no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, fibrose, remodelamento da matriz, e apoptose (FILOMENI e CIRIOLO, 2006; HEINEKE e MOLKENTIN, 2006; BERK, FUJIWARA e LEHOUX, 2007; SWYNGHEDAUW, 1999) e vários estudos experimentais sugerem que a abordagem antioxidante pode atenuar essas condições patológicas (KINUGAWA et al., 2000; SIA et al., 2002; SIA, PARKER, LIU et al., 2002; SIA, PARKER, TSOPORIS et al., 2002; SHIOMI et al., 2004).

2.12 NADPH Oxidases no Infarto do Miocárdio

Existem evidências significativas, tanto em nível experimental como clínico, que suportam o importante papel do estresse oxidativo na gênese do remodelamento cardíaco pós-infarto (HILL e SINGAL, 1996). O estresse oxidativo devido à formação de peróxido de hidrogênio levando a peroxidação lipídica e oxidação do grupo sulfídrico durante a isquemia-reperfusão parece ser um dos mecanismos que podem produzir defeitos de membrana e resultar em sobrecarga de cálcio intracelular e disfunção contrátil cardíaca no miocárdio atordoado (DHALLA et al., 1999). Animais infartados apresentam aumento dos níveis de peróxido de hidrogênio e peroxidação de lipídeos e redução na taxa de glutathiona oxidase (GSH/GSSG) no tecido cardíaco (DE CASTRO et al., 2014).

Além disso, já foi demonstrado que diminuição da geração de ERO seja ela farmacológica ou por meio de manipulação genética (superexpressão de enzimas antioxidantes endógenas, por exemplo), é capaz de atenuar os efeitos deletérios do remodelamento cardíaco no modelo de infarto do miocárdio experimental (KINUGAWA et al., 2000; SHIOMI et al., 2004; SIA, PARKER, TSOPORIS et al., 2002).

Dados obtidos de estudos utilizando o modelo de infarto do miocárdio em ratos e outros que utilizaram corações obtidos de pacientes que morreram de infarto do miocárdio

mostraram que existe aumento na expressão de Nox2 tanto em células inflamatórias como em cardiomiócito (FUKUI et al., 2001; KRIJNEN et al., 2003).

Estudos mais recentes utilizando camundongos geneticamente modificados sugerem envolvimento direto da Nox2 no remodelamento cardíaco pós-infarto do miocárdio. Por exemplo, embora o tamanho do infarto (produzido pela oclusão permanente da artéria coronária esquerda) seja similar entre camundongos *wild type* (controle) e *knockout* para Nox2 tanto 24 horas como quatro semanas pós-infarto, os animais geneticamente modificados apresentaram maiores fração de encurtamento e de ejeção bem como menores dilatação ventricular, hipertrofia e fibrose intersticial no ventrículo esquerdo comparados ao controle (LOOI et al., 2008). Em outro estudo, utilizando dessa vez animais *knockout* para p47phox, embora o tamanho do infarto também não tenha sido diferente entre os grupos controle e *knockout*, a dilatação ventricular e a disfunção contrátil global foram significativamente menores nesse último grupo quando comparado ao controle. Os animais *knockout* para p47phox também apresentaram menor taxa de apoptose dos cardiomiócitos e maior sobrevida em relação ao controle. Esses estudos demonstraram as primeiras evidências do papel da Nox2 no remodelamento cardíaco pós-infarto do miocárdio e sugerem que os sistemas das Noxs podem ser alvos terapêuticos importantes para o tratamento do infarto do miocárdio no futuro.

2.13 Papel da N-acetilcisteína no Infarto do Miocárdio

O tratamento antioxidante crônico tem se mostrado suprimir o estresse oxidativo cardíaco, atenuando o remodelamento ventricular, e melhorando a função ventricular esquerda em ratos ou camundongos com infarto do miocárdio experimental.

A N-acetilcisteína (NAC), por exemplo, é utilizada terapeuticamente em vários ramos da medicina e apresenta elevada segurança farmacológica (LEE, LAI e CHANG, 2010). O efeito benéfico do NAC pode ser creditado ao seu potencial antioxidante, direta e indiretamente, reabastecendo os níveis de glutatona (SOCHMAN, 2002). NAC é prontamente hidrolisada a cisteína, um precursor da glutatona (GSH), que por sua vez, é sintetizada em duas etapas envolvendo as enzimas γ -glutamilcisteína ligase e γ -glutamilcisteína sintetase (a enzima limitante do processo) (BURGUNDER, VARRIALE e LAUTERBURG, 1989; MEISTER, 1994). Esta via torna a função da NAC mais ampla do que somente sua função direta de antioxidante, i.e., “tamponante” dos ERO. Aliás, a

constante de reação de antioxidação de radicais livres da NAC é várias ordens de grandeza inferior a de enzimas antioxidantes como a catalase e a superóxido dismutase (ARUOMA et al., 1989; JONES et al., 2003). Portanto, a ação “tamponante” de radicais livres não deve ser a mais importante para explicar seu efeito antioxidante in vivo.

No entanto, o uso de NAC em cardiologia ainda está em debate, uma vez que os efeitos benéficos observados em estudos com animais não foram completamente reproduzidos em estudos clínicos (PEKER et al., 2008; BRAUNERSREUTHER e JAQUET, 2012).

Embora estudos prévios tenham demonstrado efeito cardioprotetor da NAC na atenuação do efeito da injúria de reperfusão em infarto agudo do miocárdio (CECONI et al., 1988; MATEJÍKOVÁ et al., 2009), não se sabe se existe efeito benéfico similar sobre a modulação autonômica, portanto, em tratamentos a longo prazo. Em um dos poucos estudos utilizando NAC em observações crônicas, Lee e colaboradores (2010), demonstraram que o tratamento de ratos infartados (pela oclusão permanente da artéria coronária esquerda) com NAC, mas não com as vitaminas C ou E, foi capaz de diminuir a hiperinervação simpática e portanto reduzir as arritmias cardíacas induzidas por programação elétrica. Os autores especulam ainda que o efeito benéfico deve ter sido gerado pela via NAC-glutationa, impedindo a expressão de NGF (do inglês: *nerve growth factor*), uma vez que os outros antioxidantes utilizados foram desprovidos deste efeito. Embora esse estudo tenha sido bem conduzido apresentando resultados relevantes, não houve qualquer demonstração funcional para corroborar os resultados bioquímicos e estruturais.

2.14 Estudo da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC)

O estudo da VFC é um método que nos permite analisar as flutuações que ocorrem durante períodos curtos ou prolongados (24h), tendo a vantagem de possibilitar uma avaliação não invasiva e seletiva da função autonômica. Este tipo de análise granjeou muita atenção, principalmente pelo estabelecimento da forte e independente relação entre VFC e mortalidade pós-IAM (BIGGER et al., 1991; KLEIGER et al., 1987).

As chamadas medidas no domínio do tempo são índices obtidos de um registro contínuo de eletrocardiograma (ECG), a partir do qual determina-se a dispersão da duração dos intervalos entre complexos QRS normais, isto é, resultantes de despolarização sinusal (Tabela 1). Os vários índices propostos para mensuração da VFC

no domínio do tempo podem ser derivados de cálculos aritméticos, estatísticos ou geométricos (histograma R-R). Tendo em vista a importância das doenças cardiovasculares, é de extrema relevância o aprofundamento no conhecimento dos seus mecanismos fisiopatológicos.

Tabela 1. Definição dos índices do domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca

Índices	Unidade	Definição
RR médio	ms	Média de todos os intervalos RR normais
SDNN	ms	Desvio padrão de todos os intervalos RR normais
SDNNi	ms	Média dos desvios padrões dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos
SDANN	ms	Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos
RMSSD	ms	Raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado
pNN50	%	Percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente

(Fonte: DA SILVA SOUZA et al., 2013)

Os componentes da BF e AF são medidos em unidades absolutas de potência (milissegundos ao quadrado, ms^2) ou podem ser representados em valores relativos à potência total menos o componente de MBF, também conhecido como unidade normalizada (UN). A relação entre a potência de BF e de AF (BF/AF) pode ser considerada uma medida de equilíbrio simpato-vagal (AKSELROD et al., 1985; LOMBARDI et al., 1987; MALLIANI et al., 1991; MORAES e FERLIN, 1992).

A maioria dos trabalhos utiliza as faixas de AF e BF como indicadores de VFC, provavelmente devido ao maior conhecimento de seus componentes autonômicos. Entretanto, os sinais de menores frequência ($< 0,04$ Hz, faixas de MBF e UBF) correspondem a maior parte da densidade espectral (Figura 1).

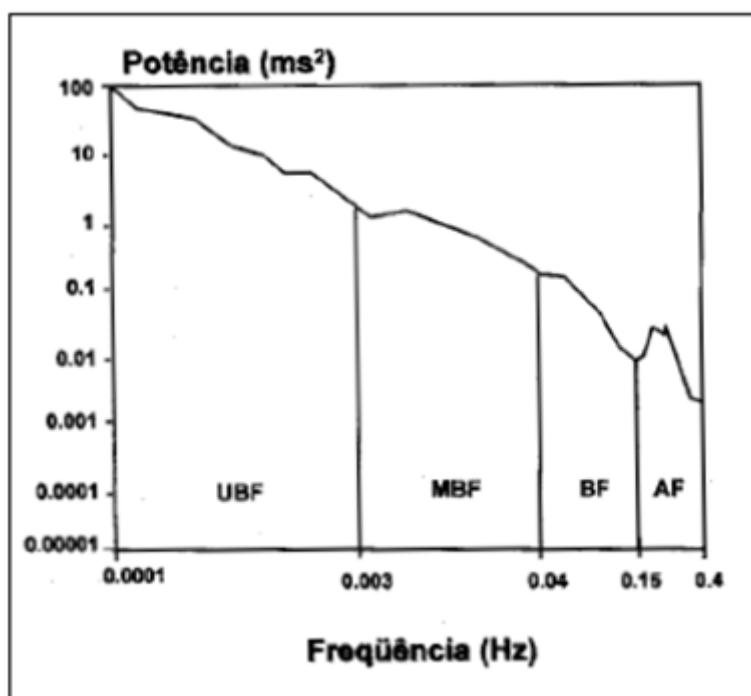


Figura 1. Gráfico representativo das quatro faixas principais que compõem a potência total de uma análise espectral obtida de um Holter 24h em seres humanos. Observar que as faixas UBF e MBF são proporcionalmente maiores que as de AF e BF (Fonte: DOS REIS *et al.*, 1998).

Como as medidas de VFC no domínio do tempo e de frequência são apenas métodos diferentes de avaliar o mesmo fenômeno, tem sido possível demonstrar uma correlação entre alguns índices dos dois domínios (STEIN *et al.*, 1994). Por exemplo, o SDNN, ao avaliar o desvio padrão de todos os intervalos RR do traçado de 24h apresenta uma correspondência com a potência total do espectro de frequência, ou seja, variabilidade total. Por outro lado, o pNN50 e o RMSSD, por considerarem diferenças entre intervalos R-R adjacentes, quantificam variações rápidas da frequência cardíaca (FC) e, conseqüentemente, correlacionam-se com o componente de alta frequência do espectro de potência. É importante ressaltar que a magnitude dos componentes do espectro de potência reflete a modulação autonômica (maior diferença entre ativação e inibição fisiológica) e não o grau de atividade tônica do sistema nervoso autônomo (média da atividade flutuante que existe entre a ativação e inibição) (MALIK e CAMM, 1993b). Por exemplo, diminuição da densidade do componente de AF, que ocorre durante a mudança da posição de decúbito para a ortostática, significa diminuição da modulação parassimpática com diminuição concomitante da atividade tônica vagal (Figura 4). Por outro lado, em situações onde o sistema parassimpático está estimulado intensa e continuamente, como durante aumentos da pressão arterial com fenilefrina, a frequência cardíaca diminui e pode sofrer menor influência do efeito da respiração e da modulação

parassimpática da VFC. Nestas condições, o componente de AF, ou seja, a modulação vagal diminui em vigência de atividade tônica aumentada (MALIK e CAMM, 1993a).

A VFC também pode ser avaliada através das medidas no domínio de frequência. Estas medidas são derivadas da análise da densidade do espectro de potência que descreve a distribuição da densidade (variância) em função da frequência. Em outras palavras, a análise espectral decompõe a variabilidade total da frequência cardíaca em seus componentes causadores, apresentando-os segundo a frequência com que alteram a frequência cardíaca. Independentemente do método utilizado para cálculo da densidade espectral (transformação rápida de *Fourier* ou modelo autorregressivo), delimitam-se normalmente quatro faixas de frequências distintas, ilustradas na Figura 3: 1) alta frequência (AF: 0,15 a 0,40 Hz), modulada pelo sistema nervoso parassimpático e gerado pela respiração (FURLAN et al., 1990); 2) baixa frequência (BF: 0,04 a 0,15 Hz), modulada tanto pelo simpático quanto pelo parassimpático (CHESS, TAM e CALARESU, 1975; SAUL et al., 1990). Esta, já foi correlacionada ao sistema barorreceptor e termorregulador (KITNEY, 1980) à atividade periférica vasomotora e ao sistema renina-angiotensina (AKSELROD et al., 1985; MALIK e CAMM, 1993b); 3) muita baixa frequência (MBF; 0,01 à 0,04 Hz) tem sido proposta como um marcador de modulação simpática (MALIK e CAMM, 1993a), embora isto ainda não esteja bem definido; 4) ultra baixa frequência (UBF: 10-5 à 10-2 Hz), onde sua correspondência fisiológica ainda permanece obscura (MALIK e CAMM, 1993a).

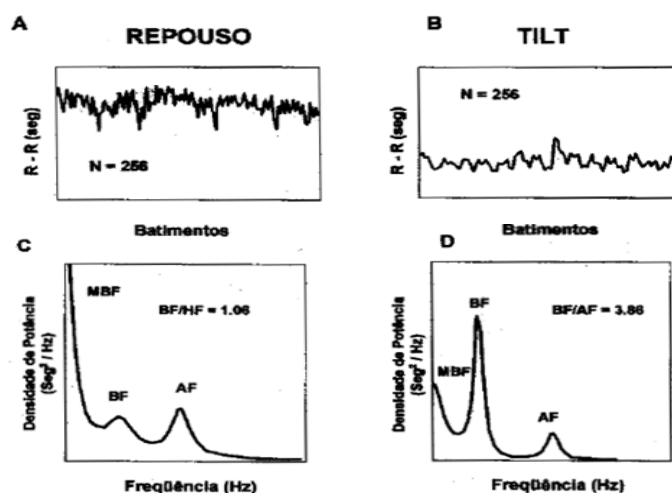


Figura 2 - Exemplo de tacograma (gráficos A e B) e das curvas de análise espectral com suas diferentes faixas de repouso em posição supinada e após teste de inclinação (*tilt test*). A análise espectral realizada através do método auto-regressivo de cada situação (repouso e *tilt test*) é apresentada nos gráficos C e D. (Adaptado de: *Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology*, 1996).

2.15 Disfunção Autonômica Cardíaca no Infarto do Miocárdio Clínico e Experimental

A diminuição da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) representa um importante fator prognóstico para o surgimento de eventos cardíacos em indivíduos previamente saudáveis (TSUJI et al., 1996) e em portadores de cardiopatias (BIGGER et al., 1991; PIPILIS et al., 1991; PRINCIP et al., 2016). Uma vez que também foi relatado que o infarto afeta o sistema nervoso autônomo, suas alterações podem ser detectadas monitorando a VFC (KORPELAINEN et al., 1994). Após infarto agudo do miocárdio (IAM), a redução da VFC constitui um fator de risco independente para arritmias e mortalidade (FARRELL et al., 1991; KLEIGER et al., 1987; AIRES et al., 2017). A VFC tem sido usado em seres humanos como uma ferramenta prognóstica porque um alto tônus simpático após o infarto é um marcador de baixa evolução e aumento da mortalidade (VALENTINI e PARATI, 2009). Esta diminuição da VFC está relacionada à hiperatividade adrenérgica e diminuição da atividade parassimpática cardíaca encontradas ao longo da convalescência do IAM (CASOLO et al., 1992; AIRES et al., 2017). Existem evidências experimentais de um efeito protetor da estimulação vagal sobre a vulnerabilidade elétrica ventricular e taxa de sobrevivência melhorada (VANOLI et al., 1991; LI et al., 2004) correlacionando o aumento da atividade simpática ao desenvolvimento de arritmias letais (LEE, LAI e CHANG, 2010). Entretanto, a diminuição da VFC, também, se correlaciona com o aumento da incidência de eventos cardíacos isquêmicos novos em indivíduos normais (TSUJI et al., 1996) e com mortalidade causada por insuficiência cardíaca em pacientes após IAM (KLEIGER et al., 1987; PIPILIS et al., 1991), sugerindo a existência de outros mecanismos além da modulação elétrica, que poderiam explicar a relação entre VFC e mortalidade.

Há muito tempo já se sabe que a inibição do efeito adrenérgico cardíaco, com o uso de betabloqueadores, é capaz de reduzir a mortalidade de pacientes após IAM (HJALMARSON et al., 1981; PEDERSEN, 1985; YUSUF et al., 1985). Também já foi demonstrado que a angiotensina II inicia um mecanismo de feedback positivo que conduz à elevação da regulação do receptor de tipo 1 da angiotensina II, que são encontrados em todo o sistema nervoso central e são expressos em alto grau em áreas do hipotálamo e da medula, que regulam a saída simpática (ALLEN et al., 1998), levando à inibição do óxido nítrico e ao aumento da produção de EROs através da ação da NADPH oxidase,

consequentemente induzindo um aumento da saída simpática e progressão na insuficiência cardíaca (LI et al., 2006; ZUCKER et al., 2009; KISHI et al., 2010; OGAWA et al., 2011).

Entretanto, em relação à diminuição da atividade parassimpática, apesar das evidências experimentais (KLEIGER et al., 1987; BIGGER et al., 1991) de sua relevância clínica após IAM (BIGGER et al., 1991; SCHWARTZ, LA ROVERE e VANOLI, 1992), ainda não existem comprovações científicas sólidas que demonstrem a contribuição da estimulação colinérgica para a diminuição da mortalidade neste grupo de pacientes.

Surpreendentemente, não existem muitos estudos em nível experimental, utilizando a ferramenta da análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca em modelos de insuficiência cardíaca, como aquele induzido pela oclusão permanente da artéria coronária esquerda em ratos. Henze *et al.*, (2008) demonstraram, nesse modelo, que somente os ratos que apresentaram insuficiência cardíaca grave, e não aqueles que desenvolveram disfunção cardíaca moderada, desenvolveram alterações autonômicas similares aquelas descritas em pacientes humanos graves: diminuição da sensibilidade do barorreflexo e dos componentes AF e BF na análise espectral. Os autores ainda especularam que a ausência de taquicardia associada ao fato da não observação do aumento em BF pode ser explicada pela insensibilidade do coração infartado em responder a regulação autonômica normal. Apesar da evidência de recuperação gradual do equilíbrio autonômico normal no coração após MI (AIRES et al., 2017) poucos estudos focaram nos efeitos do tratamento com NAC na VFC após o IM. Estudos futuros de variabilidade e análise espectral nesse modelo serão imperativos para esclarecer o padrão de regulação autonômica no coração infartado produzido por ligadura da artéria coronária.

3. JUSTIFICATIVA

Segundo a Organização Mundial de Saúde, as doenças cardiovasculares lideram as causas de morte no mundo. Dentre essas doenças, a hipertrofia ventricular constitui um indicador de grande relevância no risco de morbidade e mortalidade cardiovascular. Segundo *Framingham Heart Study*, os indivíduos que apresentam hipertrofia ventricular, diagnosticada por alterações eletrocardiográficas, apresentam risco de morte seis vezes maior que a população em geral (KANNEL et al., 1983; WHO, 2016). No Brasil, o panorama não é diferente, as doenças cardiovasculares lideram o ranking de morte em nosso país (GODOY et al., 2007; DATASUS, 2015).

Doenças isquêmicas graves assim como processos hipertensivos, relacionados principalmente ao estresse e a má alimentação, juntamente com o tabagismo e alcoolismo, têm sido os grandes causadores das doenças cardiovasculares (*World Health Organization*, 2016). Considerando ainda a atual limitação farmacológica para o tratamento da ICC (BEER et al., 2007), a busca por novas estratégias terapêuticas mais eficazes, baseadas em estudos pré-clínicos, tem granjeado muita atenção da comunidade médica e científica.

Tendo em vista a importância das doenças cardiovasculares, é de extrema relevância o aprofundamento no conhecimento dos seus mecanismos fisiopatológicos.

Assim, o presente estudo tem o objetivo perspicuo, é importante para aprofundar os estudos sobre a fisiopatologia do infarto, o maior mal do século 21, visando preencher algumas lacunas da literatura na área da fisiopatologia do infarto do miocárdio/insuficiência cardíaca, tais como: o possível potencial da N-acetilcisteína como terapia alternativa futura para o infarto do miocárdio experimental na progressão/gravidade da doença. Vale ressaltar, que o referido fármaco possui baixo custo e é amplamente utilizado para outros fins terapêuticos com insignificantes efeitos tóxicos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivos Gerais

Avaliar o papel do tratamento com N-acetilcisteína sobre a função cardíaca, modulação autonômica e o estresse oxidativo no infarto do miocárdio experimental.

Investigar o possível papel do fator de crescimento neuronal (NGF) no aumento da resposta autonômica simpática pós-infarto, bem como o possível papel da N-acetilcisteína na modulação nesse processo.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a modulação autonômica, o estresse oxidativo no coração e relacionar esses achados com o remodelamento e função cardíaca de ratas infartadas;

- Avaliar o papel do tratamento com N-acetilcisteína nas alterações do balanço simpato-vagal, no estresse oxidativo e na função cardíaca de ratas submetidas ao infarto do miocárdio experimental;

- Estudar a influência do tratamento com N-acetilcisteína na expressão de NGF em corações de ratas infartadas.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais

Todos os procedimentos utilizados nesse estudo estão de acordo com as normas e princípios éticos preconizados pela do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea) e foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob o número: 015/2015 (vide Anexo 1). O presente estudo também se adequa plenamente ao *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (NHI Publicação número 85-23, revisado 1996).

Foram utilizados neste estudo ratos Wistar (fêmeas) pesando entre 200 e 250g, obtidos do Biotério de Criação do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCFis – ICBS – UFRRJ), mantidos em caixas coletivas (contendo 4 a 5 animais cada) no Biotério de Manutenção do DCFis (ICBS – UFRRJ), ciclo claro-escuro de 12/12 horas (luz acesa entre as 06:00 e as 18:00 horas), temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, e com acesso ad libitum à água e à ração.

A escolha do gênero no presente estudo se baseou principalmente na escassez de estudos com fêmeas infartadas e a maioria dos estudos epidemiológicos que examinam morbidade e mortalidade por doença arterial coronariana baseiam-se no sexo masculino, e seus resultados têm sido extrapolados para a população feminina (PIMENTA, 2001). No entanto, devido a vários fatores, como variação cíclica de parâmetros biológicos e o desvio para formação de matrizes, as ratas são menos utilizadas na experimentação científica. Por outro lado, considerando aspectos concernentes ao dimorfismo sexual, é imperativo que se intensifiquem estudos em ratas pela razão perspicua de sua importância para o melhor conhecimento da fisiopatologia do infarto do miocárdio, considerado o principal representante das doenças arteriais coronarianas, e, por conseguinte, o estabelecimento de estratégias terapêuticas mais específicas futuramente. Por fim, a alta demanda de ratos machos para a utilização em pesquisa associada a recomendação de otimização no emprego de animais para uso científico (redução ao máximo no número de animais) preconizada pelos órgãos de regulamentação também fundamentam de forma importante a escolha do gênero neste estudo.

Os animais tiveram seu ciclo estral avaliado regularmente antes do início dos experimentos para possível detecção de eventuais fêmeas não ciclando (em anestro) e

foram manuseados diariamente durante a semana anterior aos experimentos para minimizar a possível variação nos dados biológicos concernentes ao gênero feminino e o estresse inespecífico respectivamente

5.2 Avaliação anatomohistopatológica - Avaliação indireta da insuficiência cardíaca

Os pesos do coração, pulmões e fígado foram obtidos (em mg) e normalizados pelo peso corporal dos animais (em g) no momento da necrópsia. Desta forma obtivemos os pesos relativos do coração, pulmão e fígado respectivamente. O aumento do peso do coração foi considerado hipertrofia ao passo que o aumento de peso do pulmão e do fígado foram considerados edema periférico devido a insuficiência cardíaca esquerda e direita respectivamente (OLIVARES et al., 2004; OLIVARES et al., 2007; ARAUJO et al., 2009).

5.3 Técnica da Produção do Infarto Cicatrizado do Miocárdio

O infarto experimental em ratos foi obtido como descrito por Johns e Olson, (1954) e Selye *et al.*, (1960) e modificado pelo nosso grupo de pesquisa (OLIVARES et al., 2004; OLIVARES et al., 2007; TRINDADE et al., 2007). Assim, durante a anestesia com gás isoflurano 2% em um fluxo de 1L/min de oxigênio (UNIDOX, Brasil-RJ), os animais foram fixados em uma pequena mesa cirúrgica de madeira revestida por fórmica em decúbito dorsal e em seguida ventilados por meio de um ventilador (Bomba Respiratória, *Insight* – Equipamentos, Pesquisa e Ensino – Ribeirão Preto/SP). Após a certificação de que o animal estava em plano anestésico desejado, pela verificação da perda de reflexos protetores, analgesia e sedação, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico.

A cirurgia iniciou-se com incisão da pele em nível para-esternal esquerdo de aproximadamente 1 cm de comprimento e localizada a 1 cm da linha esternal média, na junção dos terços inferior e médio da distância entre a clavícula e o rebordo costal. Em seguida, os músculos peitorais maior e menor foram dissecados objetivando a visualização do gradil costal esquerdo. Neste momento, foi procedida uma sutura em plano único e em “bolsa” da pele e dos músculos da região, deixando o nó aberto até o término da cirurgia para minimizar o pneumotórax que ocorre em seguida. Com o auxílio

de uma pinça hemostática (Kelly reta) foi feita a incisão entre o 4° ou 5° espaço intercostal esquerdo, através do qual o coração foi exteriorizado por meio de uma suave compressão manual torácica direita. Após a localização da artéria coronária esquerda (geralmente sob a aurícula esquerda), a mesma foi ligada com fio de seda 6-0 o mais próximo possível de sua origem na aorta. Em seguida o coração foi recolocado rapidamente em sua posição anatômica original e o nó da sutura em bolsa foi finalmente fechado. Em alguns casos foi necessário suporte ventilatório através de um pequeno ambú manufacturado, com o intuito de estimular os movimentos respiratórios espontâneos.

No caso do grupo controle (animais falso-operados) o procedimento foi semelhante, excetuando a etapa de ligadura da artéria coronária. Neste caso, o fio de sutura foi passado pelo músculo cardíaco sem promover o nó cirúrgico.

Após a recuperação da anestesia, isto é, animais exibindo atividade motora espontânea e deambulação normais, os mesmos foram reconduzidos ao biotério e mantidos com água e ração *ad libitum* e cuidados diários para a verificação de possíveis problemas pós-cirúrgicos, como decência de sutura, morte dos animais, dentre outros.

5.4 Registro Eletrocardiográfico (ECG)

O ECG foi realizado após a colocação de dois eletrodos de aproximadamente 1,5 colocados em nível precordial, um no hemitórax esquerdo e outro no direito (ambos a aproximadamente a 3 cm da linha esternal), sobre a pele previamente tricotomizada em toda a extensão torácica, sob anestesia (como descrita para o infarto do miocárdio). Para a geração das séries temporais, batimento a batimento, o registro foi obtido do software de aquisição eletrocardiográfico do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ (Acknowledgement, versão 3.8.1 – ADInstruments) e convertido em formato .txt e exportado para outro software (Kubios HRV, versão 2.2).

Posteriormente, foi realizada a contagem dos picos R-R sucessivos em um intervalo de 10 minutos, gerando a série temporal em pontos de 100 ms usando uma frequência de interpolação de 10 Hz. Antes do cálculo da densidade do poder espectral, os segmentos foram inspecionados visualmente para a detecção de segmentos de ruídos para que os mesmos pudessem ser desprezados da análise. As séries interpoladas foram divididas em segmentos de 512 pontos (51,2 s). O espectro de potência foi obtido com uma decomposição rápida baseada no método de *Fourier* que requer intervalos iguais de tempo, e integrados em bandas de baixa (BF: 0,20 – 0,75 Hz) ou alta (AF: 0,75 – 3,0 Hz)

frequências, e a janela *Hamming* (Método de Welch: 256 pontos (duração 25,6 s), 50% de sobreposição e resolução de 0,039 Hz) foi utilizada para minimizar os efeitos secundários (AUBERT et al., 1999, 2009, PEREIRA-JUNIOR et al., 2006, 2010).

Após a detecção do pico da onda R, foram gerados tacogramas de 10 minutos contando todas as flutuações cardíacas dentro deste período de tempo. No domínio do tempo, os índices obtidos foram os seguintes: média do intervalo RR, desvio padrão dos intervalos RR (SD), raiz quadrada das diferenças da média quadrada dos intervalos sucessivos RR (RMSSD) e percentagem de intervalos sucessivos RR em diferenças superiores a 5 ms (pNN50). Para análise espectral da VFC (domínio da frequência), os tacogramas foram redimensionados para intervalos iguais pelo método de interpolação cúbica, a 10 Hz, e a tendência linear foi removida. A potência (ms^2) foi estimada como a área sob o espectro dentro dessas amplitudes de frequência (AUBERT et al., 1999, 2009, PEREIRA-JUNIOR et al., 2006, 2010). A medida relação BF/AF foi realizada para estudo do balanço entre o SNA simpático e parassimpático.

5.5 Registro Ecodopplercardiografico (ECO)

Para a realização do ecocardiograma, os animais foram anestesiados com gás isoflurano igual ao procedimento do infarto, tricotomizados na região do precórdio e examinados com o aparelho Vevo 770® *High-Resolution Imaging System* (VisualSonics, Ontário, Canada) com transdutor de 30 MHz. Os cortes ecocardiográficos obtidos seguirão a nomenclatura descrita pela Sociedade Americana de Ecocardiografia (ASE) e descrito por Sahn, Demaria e Kisslo (1978). O animal foi colocado em decúbito dorsal ou lateral esquerdo e as imagens longitudinais, transversais, e apicais sequencialmente obtidas. Estas foram gravadas em CD-ROM e posteriormente realizadas as análises e a digitalização das imagens representativas de cada animal.

O objetivo do uso de tal ferramenta foi analisar a geometria cardíaca e a função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo. A análise da geometria cardíaca foi feita por meio da utilização do modo bidimensional para a mensuração da área das cavidades ventriculares direita e esquerda ao final da diástole em corte transversal no nível dos músculos papilares. A análise ecodopplercardiográfica foi realizada por um único observador experiente da técnica, o qual desconhecia a procedência dos animais quanto aos grupos experimentais pertencentes (experimentador “cego”).

Todas as análises foram medidas em milímetros. A determinação da função sistólica do ventrículo esquerdo foi estabelecida através da análise da fração de ejeção a qual foi calculada pelo método de Simpson. Este método consiste na delimitação, com auxílio de um cursor, de toda a cavidade ventricular esquerda em sístole e em diástole de quatro cortes transversais (da base ao ápice) e um longitudinal (da saída da aorta ao ápice). O aparelho então calcula automaticamente o volume sistólico e o volume diastólico final fornecendo a fração de ejeção. Os animais foram avaliados ao final do protocolo de tratamento, e todos foram avaliados no período entre 08 e 12:00 horas. Os parâmetros ecocardiográficos avaliados e que serão mostrados na sessão dos resultados foram então:

1. Geometria do ventrículo esquerdo:

- a) VDF: volume diastólico final (μ l);
- b) ERPP: espessura relativa da parede posterior.

2. Medida indireta do processo congestivo:

- a) Relação AE/Ao: relação entre os diâmetros internos do átrio esquerdo e da aorta.

3. Função Diastólica:

- a) Relação E/A – relação entre a velocidade máxima da onda E e a velocidade máxima da onda A. Como observado em estudos anteriores, os animais que apresentam valores acima de 3,0 são classificados como padrão de enchimento ventricular “restritivo” (LITWIN et al., 1994; TANAKA et al., 1996; HOIT et al., 1997; OLIVARES et al., 2004).

4. Função Sistólica:

- a) Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FE%) pelo método Simpson (BEL et al., 2003; YOSHIYAMA et al., 2004);
- b) Fração de Encurtamento de Área – (FEA %).

5.6 Avaliação do estresse oxidativo e dos sistemas de defesas antioxidantes

5.6.1 Preparo do homogenato e fracionamento do tecido cardíaco (região apical)

Para a realização das mensurações das atividades das enzimas antioxidantes, 150 miligramas do tecido cardíaco foi homogeneizado através do Turrox com 900 μ L do tampão de lise Tris-HCl 100mM em pH 7,4 acrescidos com inibidores de proteases (aprotinina 1 μ g/mL e fluoreto de fenilmetanossulfonilo, PMSF 1mM). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 720g a 4°C durante 10 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi coletado e utilizado como o homogenato proteico total, no qual as concentrações de proteínas foram mensuradas pelo método de Bradford.

Para a avaliação de geração de peróxido de hidrogênio, 100 miligramas de tecido cardíaco foi homogeneizado utilizando o Turrox em 900 μ L de tampão H (Fosfato de sódio 50mM, pH7,2 + EGTA 1mM + Sacarose 0,25M + DDT 0,5mM), acrescido de inibidores de proteases (aprotinina 5 μ g/mL e PMSF 34,8 mg/mL). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 12000g a 4°C durante 10 minutos. Após a centrifugação, os sobrenadantes foram coletados e centrifugados novamente a 100000g a 4°C durante 35 minutos. Os sobrenadantes foram descartados após a segunda centrifugação, e o pellet foi ressuspensionado em tampão A2 (Fosfato de sódio 50mM, pH 7,2 + MgCl 2mM + Sacarose 0,25M), acrescido de inibidores de proteases (aprotinina 5 μ g/mL e PMSF 34,8 mg/mL), caracterizando a fração microssomal das amostras.

Tanto o homogenato total, quanto a fração microssomal foram estocados a -80°C até serem utilizados para os ensaios de atividades de enzima antioxidantes e a produção de H₂O₂, respectivamente.

5.6.2 Produção de H₂O₂

A geração de H₂O₂ foi quantificada na fração microssomal do tecido cardíaco pelo ensaio Amplex-red/Peroxidase de raiz forte (HRP) (Molecular Probes, Invitrogen), que detecta a acumulação de um produto oxidado fluorescente. As frações microssomais das amostras foram incubadas em tampão fosfato de sódio 150 mM, pH 7,4 contendo superóxido dismutase (SOD) (100 U/mL, Sigma), HRP (0,5 U/mL, Roche), Amplex red (50 μ M, Molecular Probes), EGTA 1 mM, e a fluorescência foi imediatamente medida em um leitor de microplacas (Victor X5, PerkinElmer) a 30°C, utilizando excitação a 530

nm e emissão a 595 nm. A produção de H₂O₂ foi quantificada utilizando curvas de concentrações padrão. A atividade enzimática específica foi expressa como nanomoles de H₂O₂ por miligrama de proteína por hora (nmol.mg⁻¹.h⁻¹).

5.6.3 Atividade da Enzima Catalase (CAT)

Neste experimento a atividade da enzima catalase foi determinada pelo método descrito por Aebi. Nesse método é possível mensurar através do espectrofotômetro a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pela enzima catalase presente na amostra do tecido cardíaco.

Para a avaliação da atividade catalase, as amostras foram adicionadas em 1 mL de tampão fosfato 50 mM, pH7,0 mais EDTA 1 mM com H₂O₂ 15 mM. A leitura foi realizada pelo espectrofotômetro na faixa de 240 nm durante 60 segundos, observando a queda de absorbância dado o consumo de H₂O₂. Uma unidade de CAT corresponde à atividade da enzima necessária para o consumo de 1 µmol de H₂O₂ em 1 min, sendo os valores expressos em mmol.min⁻¹.mL⁻¹.

5.6.4 Atividade da Enzima Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi determinada utilizando o método descrito por Crapo, McCord e Fridovich (1997). A sua atividade é mensurada através da inibição da redução do citocromo C a 37°C pelo superóxido O₂^{•-}. Nesta reação, a enzima xantina oxidase atua sobre a xantina gerando O₂^{•-}. Esse ânion age sobre o citocromo C, reduzindo o Fe⁺³ à Fe⁺², que pode ser visualizada espectrofotometricamente a 550 nm, que é o comprimento de onda relativo ao pico de absorbância do citocromo C – Fe⁺². A SOD captura o O₂^{•-}, inibe a formação de Fe⁺², podendo ser acompanhada na curva. Essa curva foi monitorada por 5 minutos. Nesse ensaio, uma unidade de atividade é definida como a quantidade de enzima que promove 50% de inibição de redução do citocromo C a 37°C em pH 7,8. O meio reacional foi composto de 50 µM de xantina, 20 µM de citocromo C, 10 µM de cianeto de potássio (para inibir outras peroxidases) e um volume variado do homogenato em tampão fosfato de potássio 50mM, EDTA 0,1mM, pH 7,8. A reação foi iniciada com adição de xantina oxidase a concentração final de 8 mU.

5.6.5 Atividade de glutathiona peroxidase (GPx)

A atividade da GPx foi determinada pelo método de Wendel (1981) que utiliza o peróxido de tertbutila como substrato da reação, ocorrendo a oxidação da glutathiona (GSH) pela GPx gerando sua forma oxidada (GSSH), que é convertido em GSH pela glutathiona reductase, consumindo assim nessa reação uma molécula de NADPH, a qual pode ser acompanhada em espectrofotômetro a 340 nm. O meio da reação foi composto de tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7, EDTA 1 mM, glutathiona reductase 0,24 U/mL, GSH 0,5 mM e NADPH 0,15 mM. A reação foi iniciada com a adição do peróxido de tertbutila 1,2 mM e acompanhada por 5 minutos. Os valores foram expressos por μmol de NADPH oxidado por mg de proteína por minuto ($\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$).

5.6.6 Quantificação do grupamento tiol

As amostras musculares, imediatamente após a homogeneização, foram avaliadas quanto ao dano oxidativo, determinado pela medição de tióis reduzidos. Os tióis reduzidos totais foram determinados utilizando DTNB. Os resíduos de tiol reagem com DTNB, clivando a ligação dissulfureto para dar 2-nitro-5-tiobenzoato (NTB⁻), que se ioniza no NTB²⁻-dianion em água a pH neutro e alcalino. NTB²⁻ foi quantificado em um espectrofotômetro (Hitachi U-3300) medindo a absorvância a 412 nm e foi expresso como nmol de DTNB reduzido / mg de proteína (ELLMAN, 1959).

5.7 Avaliação da expressão do fator de crescimento neural (NGF) por qRT-PCR

Avaliação da eficiência dos primers desenhados (Invitrogen) para os alvos de interesse: curva de diluição seriada (1:5) da amostra, com o gradiente de concentração variando de 25 ng/ μL a 0,2 ng/ μL . As diferentes concentrações de amostra foram amplificadas por qRT-PCR em um mix contendo:

7,5 μL de *Power SYBR[®] Green PCR Master Mix*

0,6 μL da mistura de *primers* senso e reverso a 10 μM

6,9 μL de amostra diluída em água

A ciclagem de temperaturas foi: uma etapa inicial de 50°C por 2 minutos e 95°C por 10 minutos, seguida de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto para todos os primers, no equipamento *Applied Biosystems® Viia™ 7 Real-Time PCR System*. A análise da curva padrão foi usada no cálculo da eficiência: $E=10^{(-1/\text{slope})}-1$. Primers com eficiências de amplificação entre 90 e 100% foram consideradas ideais para o ensaio com as amostras controle e experimentais.

Análise da expressão relativa: o cDNA das amostras foi diluído a 5 ng/μL e 1 μL foi utilizado na reação de amplificação juntamente com 7,5 μL de *Power SYBR® Green PCR Master Mix*, 0,6 μL da mistura de *primers* senso e reverso a 10 μM e 4,9 μL de água. Amostras foram amplificadas em duplicata nas temperaturas validadas no experimento de eficiência.

Controle endógeno: Gapdh

Método de análise: método $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Lista com as sequências dos primers:

Primer	Senso	Reverso
NGF	AGTGTCAGTGTGTGGGTTGG	TCTCTACAGGATTCGGGGCT
Gapdh	CCATCAACGACCCCTTCATT	GACCAGCTTCCATTCTCAG

6. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

6.1 Procedimento Experimental

Ratos Wistar fêmeas foram infartados (IM) (n = 20) ou falso-operados (SH) (n = 20) no “dia zero” e 24 horas após a cirurgia foram submetidos ao ECG para a confirmação da eficácia do procedimento (ver tópico seguinte). Em seguida as ratas foram subdivididas em dois grupos para o tratamento com salina (SAL) ou N-acetilcisteína (NAC) por gavagem (250 mg/Kg/dia, n = 10/grupo constituindo os quatro grupos: SH-SAL = 10, SH-NAC = 10, IM-SAL = 10 e IM-NAC = 10.

Quatro semanas após a cirurgia, os animais foram submetidos aos exames ecocardiográfico para a avaliação da função/geometria cardíaca. No dia seguinte aos exames, os animais foram submetidos a eutanásia por decapitação, coleta de sangue e remoção dos órgãos (coração, pulmão e fígado) para a pesagem e obtenção dos pesos relativos cardíaco, pulmonar e hepático. O coração foi fatiado com o auxílio de uma lâmina em três regiões: **1.** Região apical, para a avaliação da atividade das NADPH oxidases, **2.** Região mediana (em nível dos músculos papilares), para a histologia e planimetria da área de infarto e **3.** Região basal para o estudo de biologia molecular por meio de qPCR. A Figura 5 ilustra o desenho experimental.

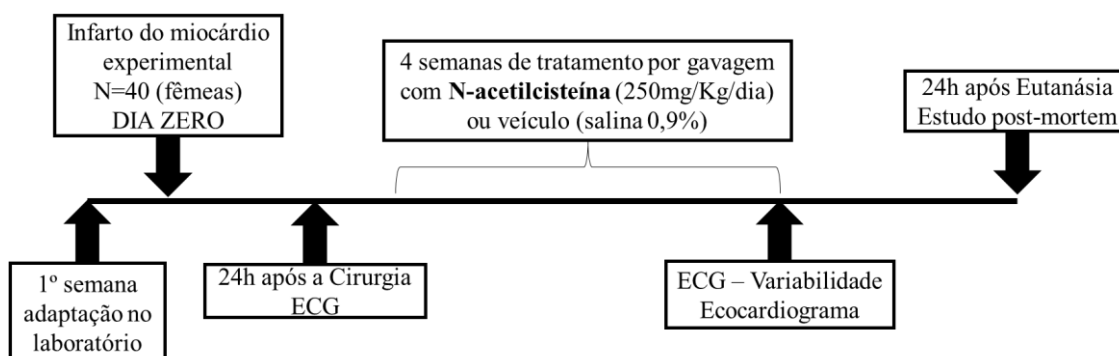


Figura 3: Protocolo experimental de tratamento com o antioxidante N-acetilcisteína nas alterações morfofuncionais cardíacas em animais infartados.

6.2 Critérios de exclusão

Todos os animais operados objetivando a produção do infarto do miocárdio experimental foram submetidos ao ECG para a confirmação da eficácia do procedimento 24 horas após a cirurgia. Aqueles animais que não apresentaram onda Q na derivação bipolar D1, foram retirados do estudo. Estudos prévios do nosso grupo mostraram que esse parâmetro eletrocardiográfico é patognomônico para o infarto do miocárdio em ratos (MIRANDA et al., 2007; OLIVARES et al., 2004; OLIVARES et al., 2007). Os animais controle (falso-operados, sham) foram submetidos ao mesmo protocolo. Nesse estudo, a mortalidade trans e pós-cirúrgica ficou em torno de zero e 40% nos grupos sham e infartado respectivamente. Todas as mortes ocorreram nos primeiros 10-20 minutos (maioria) ou em até seis horas (minoria) após as cirurgias. A percentagem de animais que não apresentavam onda Q no ECG, isto é, aqueles onde se objetivou realizar o infarto, mas que efetivamente não ocorreu, foi em torno de 20%. Nesse caso, os animais também foram excluídos do estudo.

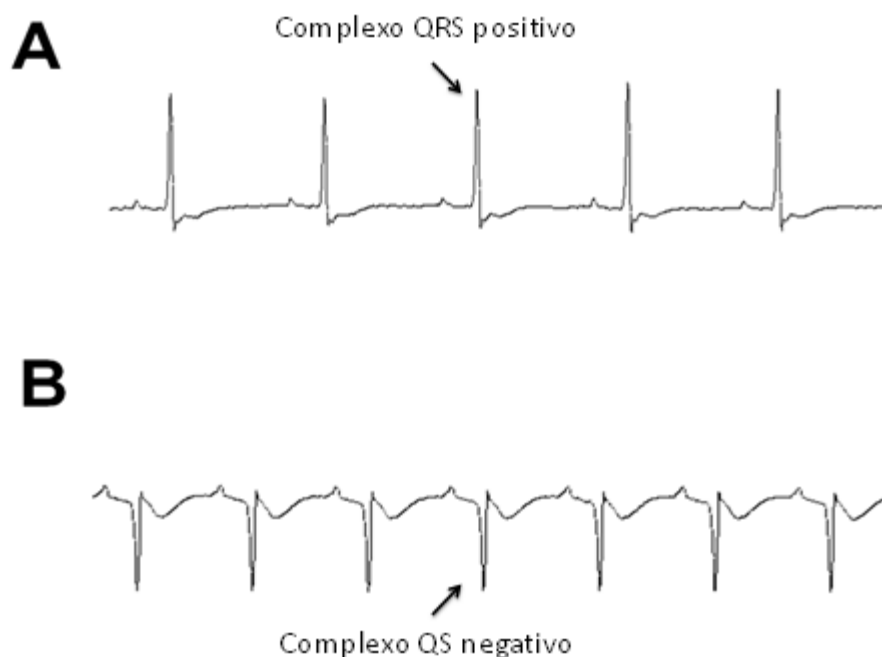


Figura 4 – Eletrocardiogramas representativos obtidos em um animal não infartado (A) e outro infartado (B) 24 horas após a cirurgia. Note que apenas o animal infartado apresenta o complexo QRS na forma de “QS”. Embora tenha havido tentativa de oclusão de coronária esquerda durante o procedimento cirúrgico, não houve êxito no mesmo, como sugere o padrão eletrocardiográfico acima (A). Nesse caso, o animal (A) foi descartado do estudo.

6.3 Análises Estatísticas

A análise estatística foi utilizada para a comparação dos resultados apresentados pelos grupos experimentais. Para tanto, utilizamos a análise de variância univariada ou bivariada (ANOVA) seguida de teste de comparação múltipla de *Tukey* ou *Bonferroni* quando indicado. Para as avaliações qualitativas do tipo sim ou não o teste exato de Fisher foi utilizado. Em todos os testes, o grau mínimo de significância considerado foi 95% ($P < 0,05$) ou 99% ($P < 0,01$). Todos os cálculos foram realizados no computador através do programa GraphPad Prism® (Graphpad software, Inc., San Diego, USA). Os valores foram descritos como média \pm SEM (erro padrão da média).

7. RESULTADOS

7.1 Anatomohistopatologia

A Figura 7 mostra que houve aumento significativo do peso cardíaco relativo nos animais infartados tratados com salina (IM-SAL) comparado ao seu controle (SH-SAL) (5.15 ± 0.19 vs. 3.81 ± 0.15 mg/g, respectivamente, $P < 0,01$, Figura 5). Curiosamente, os animais infartados tratados com NAC não apresentaram aumento nesse parâmetro em relação ao seu controle ($P > 0,05$), porém foi significativamente menor quando comparado ao grupo IM-SAL (5.15 ± 0.93 vs. 4.22 ± 0.34 mg/g, respectivamente, $P < 0,05$, Figura 5). Este dado sugere que o tratamento com NAC evitou a hipertrofia cardíaca induzida pelo IM.

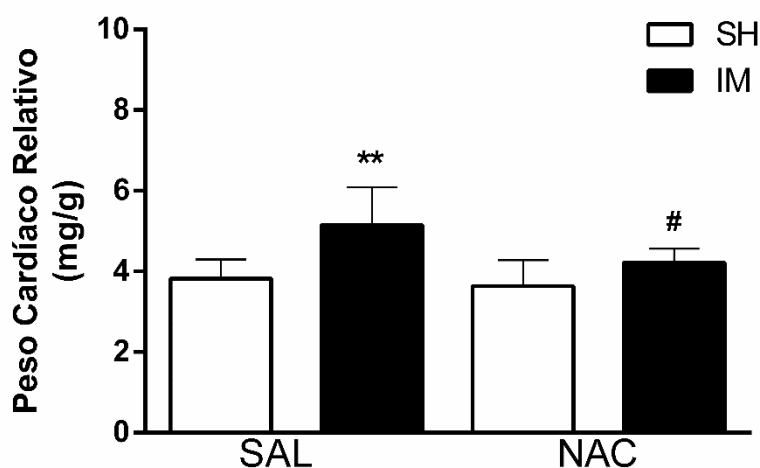


Figura 5: Peso Cardíaco Relativo de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). ** $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL; # $P < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

Em relação ao peso pulmonar relativo, foi observado o mesmo padrão do peso cardíaco relativo. Enquanto no grupo de animais infartados (IM-SAL) houve aumento comparado ao seu controle (SH-SAL) (8.26 ± 1.4 vs. 5.54 ± 0.75 vs. 6.60 ± 1.34 mg/g, respectivamente, $P < 0,01$), o mesmo não foi observado nos animais infartados tratados com NAC (IM-NAC) em relação ao infartado tratado com salina (IM-SAL, $P > 0,05$) (Figura 6).

Esses dados sugerem que o tratamento com NAC também foi efetivo em evitar (atenuar) a instalação do processo congestivo nos animais infartados.

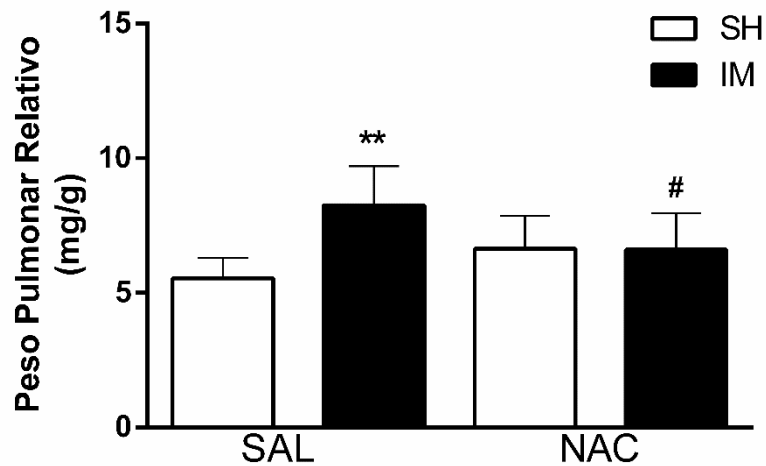


Figura 6: Peso Pulmonar Relativo de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). ** $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL; # $P < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

Não houve nenhuma diferença significativa no peso hepático relativo em nenhum dos grupos avaliados, $P > 0,05$. Esses dados corroboram vários estudos na literatura que não descrevem alterações neste parâmetro nesse modelo de infarto, provavelmente por se tratar de um modelo de insuficiência cardíaca congestiva esquerda (FISHBEIN, MACLEAN e MAROKO, 1978a; SPADARO et al., 1980).

7.2. Estresse Oxidativo

Quanto a geração de H_2O_2 , foi observado aumento no grupo IM-SAL quando comparado ao seu controle (SH-SAL) (43.49 ± 3.47 vs. 30.93 ± 1.61 , respectivamente, $P < 0,05$). No entanto uma diminuição foi observada nos animais infartados tratados com NAC (IM-NAC) comparado aos animais infartados não tratados (IM-SAL) (30.47 ± 1.16 vs. 43.49 ± 3.47 , respectivamente, $P < 0,05$, Figura 7).

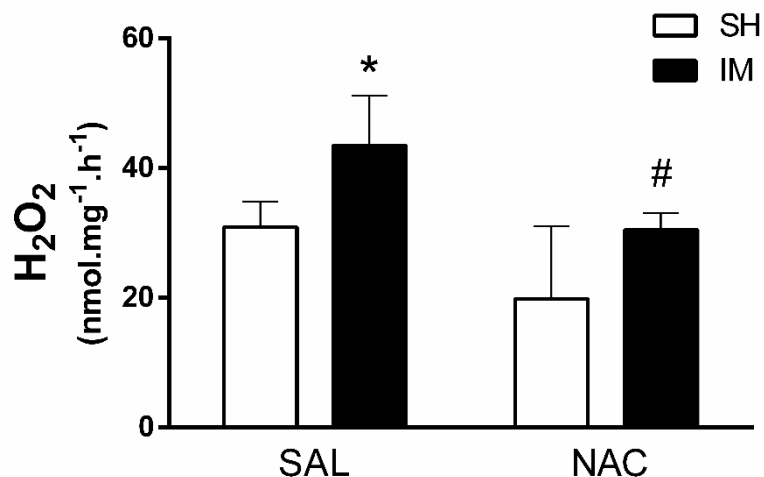


Figura 7: Geração de H₂O₂ de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). *P < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo controle SH-sal; #P < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

A atividade da Superóxido Dimutase (SOD) aumentou somente no grupo IM-NAC em relação ao seu controle SH-NAC (25.21 ± 0.82 vs. 22.06 ± 0.36 , respectivamente, P < 0,05, Figura 8).

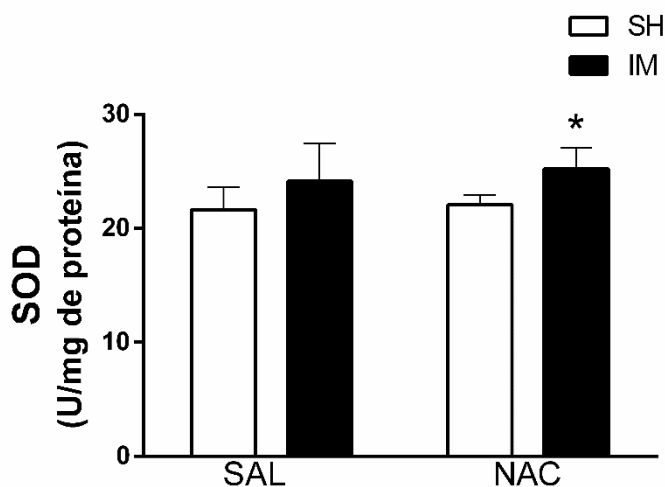


Figura 8: Atividade da Superóxido Dimutase (SOD) de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). *P < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo controle SH-NAC.

Não foi observado nenhuma alteração significativa na atividade da catalase em nenhum dos grupos (Figura 9).

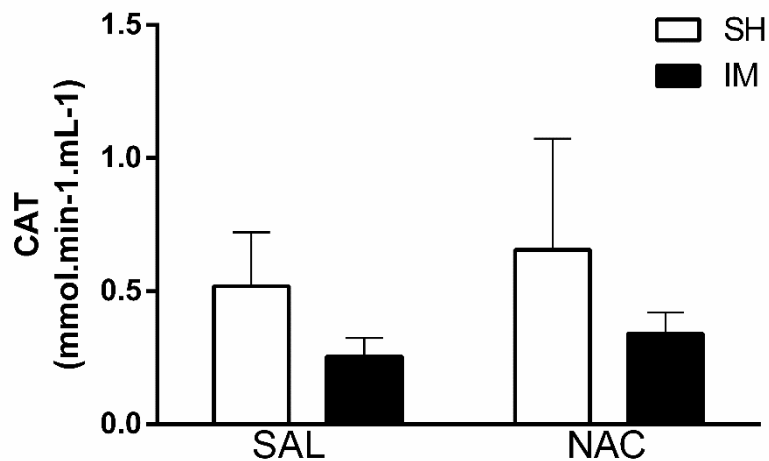


Figura 9: Atividade da Catalase (CAT) de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). $P > 0,05$.

Ao avaliar a atividade da glutatona peroxidase (GPx) foi observado diminuição no grupo IM-SAL comparado ao seu controle SH-SAL (96.13 ± 3.73 vs. 131.5 ± 5.68 , respectivamente, $P < 0,01$), assim como entre IM-NAC e SH-NAC (178.8 ± 7.23 vs. 136.5 ± 5.11 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 10). No entanto, ao comparar os grupos infartados (IM) foi observado um aumento da atividade da GPx no grupo tratado com NAC quando comparado com o grupo SAL (136.5 ± 5.11 vs. 131.5 ± 5.68 , respectivamente, $P < 0,01$), assim como nos animais sham (SH) (178.8 ± 7.23 vs. 96.13 ± 3.73 , grupo SH-NAC e SH-SAL respectivamente, $P < 0,01$, Figura 10).

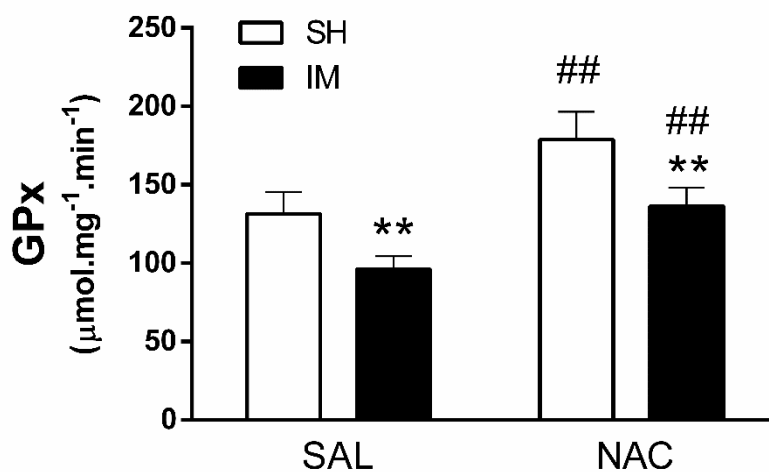


Figura 10: Atividade da Glutathione Peroxidase (GPx) de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). ** $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo controle SH; # $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

Foi observada também redução da atividade do TIOL reduzida entre IM-SAL e SH-SAL (60.93 ± 7.02 vs. 92.13 ± 6.71 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 11). No entanto, houve aumento significativo desse parâmetro no grupo IM-NAC quando comparado ao IM-SAL (84.61 ± 5.62 vs. 60.93 ± 7.02 , respectivamente, $P < 0,05$, Figura 11).

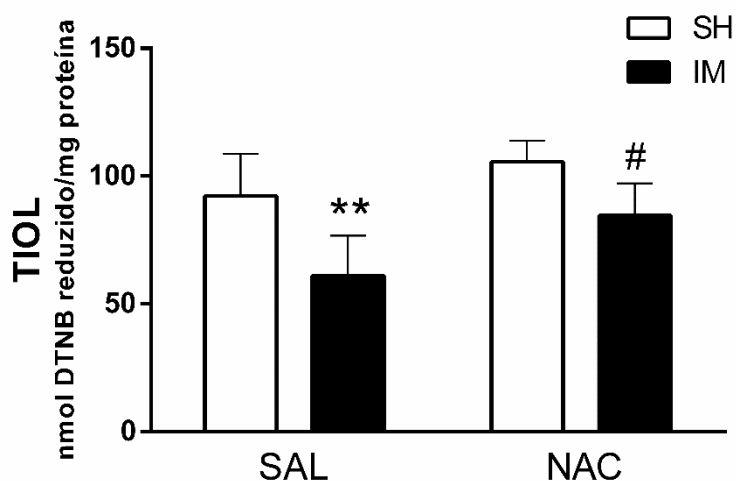


Figura 11: Atividade do TIOL de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). ** $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL; # $P < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

7.3. Ecodopplercardiografia

A variável VDF (μ l) demonstrou aumento estatístico significativo nos animais IM-SAL ao comparar com SH-SAL (364.8 ± 36.80 vs. 239.8 ± 29.26 , respectivamente, $P < 0,05$, Figura 12). Não houve diferença significativa para essa variável entre os animais infartados (IM) e sham (SH) tratados com NAC ($P > 0,05$) (Figura 12).

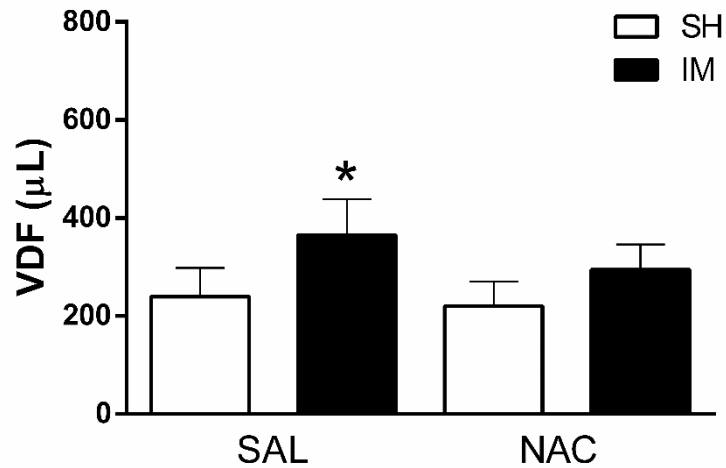


Figura 12: Volume Diastólico Final (VDF) do ventrículo esquerdo de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). *P < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo controle SH-sal, VDF = volume diastólico final.

Quanto a Espessura Relativa da Parede Posterior (ERPP) do ventrículo esquerdo apresentou redução significativa no grupo IM-SAL quando comparado ao SH-SAL (0.43 ± 0.01 vs. 0.62 ± 0.04 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 13). Curiosamente, foi observado diferença oposta entre os grupos tratados com NAC sobre a ERPP, em que IM-NAC apresentou aumento significativo quando comparado ao seu controle (SH-NAC) e a IM-SAL (0.95 ± 0.02 vs. 0.68 ± 0.06 vs. 0.62 ± 0.04 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 13).

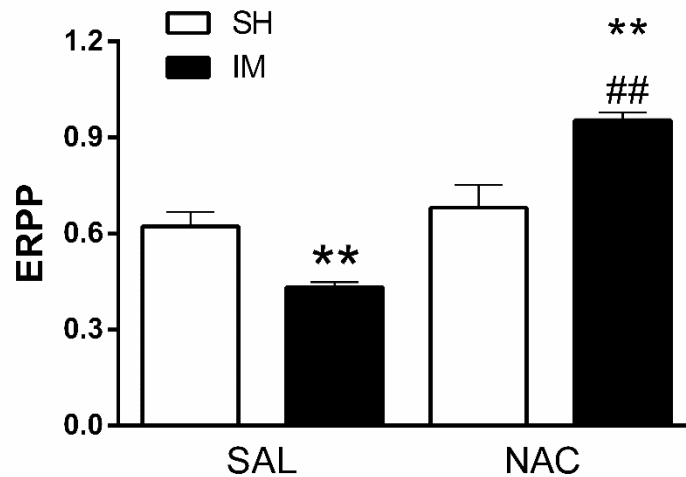


Figura 13: Espessura Relativa da Parede Posterior (ERPP) do ventrículo esquerdo de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). **P < 0,01 diferença significativa em relação ao grupo controle SH; ##P < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL. ERPP = espessura relativa da parede posterior.

A relação entre os diâmetros internos do átrio esquerdo e da aorta (Relação AE/Ao) aumentou significativamente no grupo IM-SAL comparado ao seu controle (SH-

SAL) ($1,35 \pm 0,06$ vs. $1,03 \pm 0,02$, respectivamente, $P < 0,01$, Figura 14). No entanto, ao comparar o grupo IM-NAC com IM-SAL foi observada resposta oposta com diferença significativa nesse parâmetro ($1,0 \pm 0,02$ vs. $1,35 \pm 0,09$, respectivamente, $P < 0,05$, Figura 14).

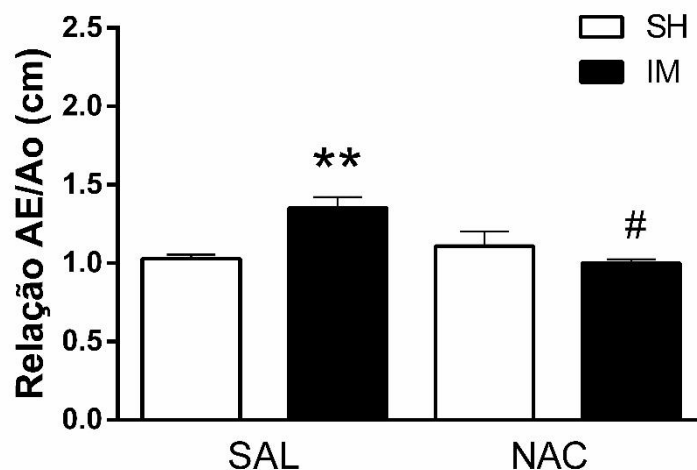


Figura 14: Avaliação do processo congestivo através da relação AE/Ao de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). ** $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo controle SH-sal; # $P < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL. AE = átrio esquerdo; Ao = artéria aorta.

Esses dados em conjunto sugerem efeitos benéficos do tratamento com NAC sobre o remodelamento cardíaco e sua conseqüente repercussão hemodinâmica. Dessa forma, a NAC alterou o remodelamento cardíaco no sentido da conservação do DDF (evitando a dilatação da câmara ventricular esquerda) e propiciou aumento da espessura da parede posterior em termos relativos. Provavelmente, esses efeitos evitaram a instalação do processo congestivo sugerido pela análise do peso relativo do pulmão e da relação AE/Ao.

Para avaliar se as alterações na geometria cardíaca induzidas pelo tratamento com NAC nos animais infartados pudessem refletir na função cardíaca, parâmetros relativos às funções diastólica e sistólica foram estudadas e apresentadas a seguir.

A função diastólica do ventrículo esquerdo, avaliada por meio da Relação E/A, não houve diferença significativa em nenhum dos grupos avaliados, $P > 0,05$ (Figura 15).

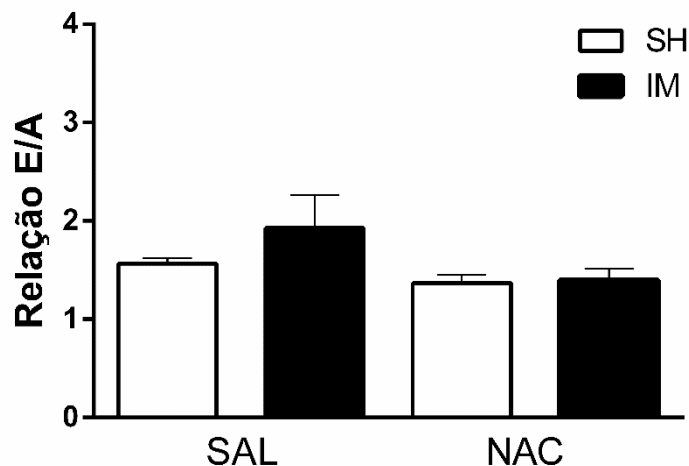


Figura 15: Relação entre as velocidades máximas das ondas E e A (Relação E/A) de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). $P > 0,05$.

Por outro lado, em relação a função sistólica, o grupo IM-SAL apresentou diminuição significativa, no parâmetro FEA(%), comparado ao seu controle SH-SAL (42.79 ± 2.14 vs. 56.70 ± 2.01 %, respectivamente, $P < 0,01$, Figura 16). Não houve nenhuma diferença significativa entre as fêmeas infartadas e sham tratadas com NAC.

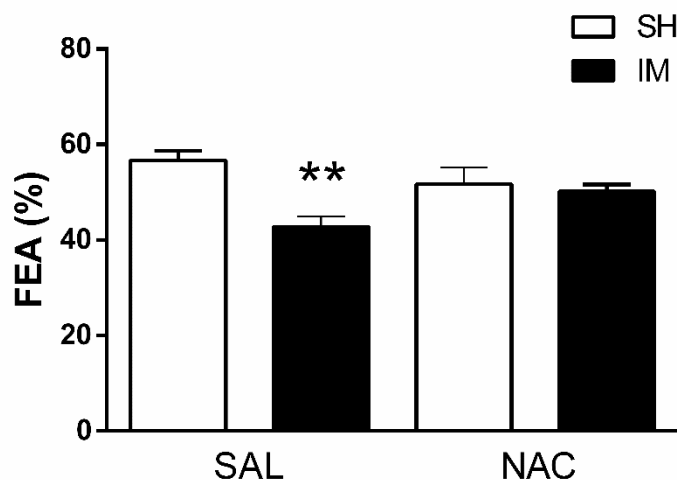


Figura 16: Fração de Ejeção Atrial (FEA) de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). $**P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL.

Ao avaliara a fração de ejeção pelo método de Simpson, os animais IM-SAL apresentaram piora (redução) da Fração de Ejeção comparado ao seu controle (SH-SAL) (46.63 ± 3.51 vs. 79.21 ± 1.87 %, respectivamente, $P < 0,01$, Figura 17). No entanto o grupo IM-NAC apresentou melhora comparado ao IM-SAL (63.00 ± 3.76 vs. 46.63 ± 3.51 %, respectivamente, $P < 0,05$, Figura 17).

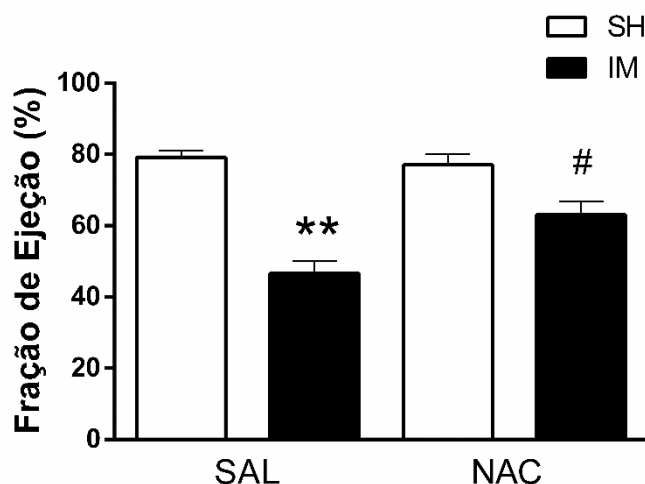


Figura 17: Fração de Ejeção de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). **P < 0,01 diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL; #P < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

Portanto, considerando os resultados relativos a função cardíaca, pode-se sugerir que os efeitos da NAC sobre o remodelamento cardíaco foram importantes para determinar a manutenção da função cardíaca e, portanto, um estado compensado adaptativo nesses animais o que deve ter propiciado melhor estado hemodinâmico, sugerido por parâmetros indiretos.

7.4. Variabilidade da Frequência Cardíaca

Na avaliação dos resultados da VFC no domínio do tempo, houve um aumento da FC no grupo IM-SAL comparado a SH-SAL (225.4 ± 6.82 vs. 172.3 ± 3.58 , respectivamente, $P < 0,01$). Porém, o grupo IM-NAC demonstrou FC significativamente menor comparado ao IM-SAL (157.0 ± 6.84 vs. 225.4 ± 6.82 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 18-A).

No parâmetro RMSSD foi observado redução significativa no grupo IM-SAL comparado ao seu controle SH-SAL (38.41 ± 1.46 vs. 81.67 ± 7.04 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 18-B). Por outro lado, o grupo IM-NAC apresentou aumento significativo nessa variável quando comparado com os grupos IM-SAL e SH-NAC (104.5 ± 5.01 vs. 38.41 ± 1.46 vs. 86.04 ± 4.98 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 18-B). No entanto, nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos ($P > 0,05$), no parâmetro pNN50 (%) (Figura 18-C).

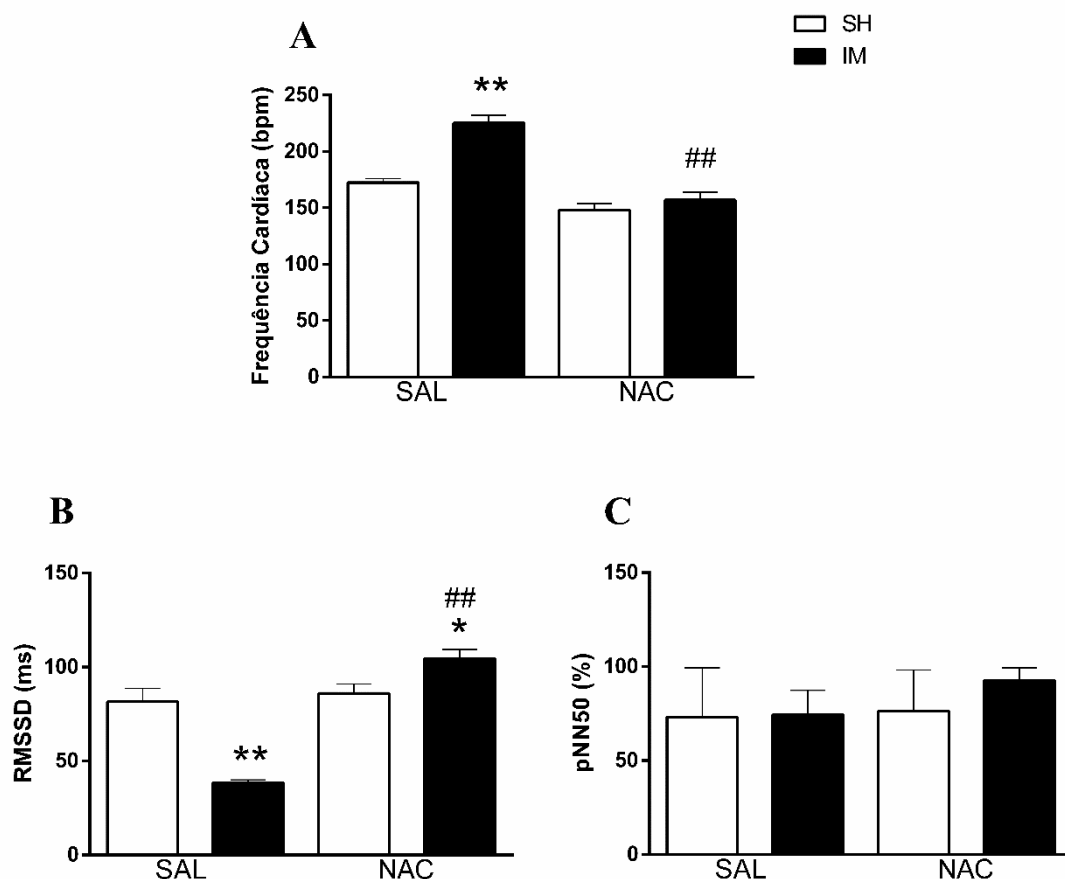


Figura 18: Frequência cardíaca (A) e variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo avaliada em termos de RMSSD (B) e pNN50% (C) de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). *P < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL; **P < 0,01 diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL; ##P < 0,01 diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

A avaliação dos resultados da VFC, no domínio da frequência, foi observado que o grupo IM-SAL aumentou significativamente BF, expressos e unidades normalizadas (UN), em relação ao seu controle (62.85 ± 3.98 vs. 45.00 ± 3.72 , respectivamente, $P < 0,01$). Por outro lado, o grupo IM-NAC reduziu significativamente BF comparado ao IM-SAL (39.06 ± 4.16 vs. 62.85 ± 3.98 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 19-A). Ao observar o parâmetro AF (UN) verificou-se diminuição no grupo IM-SAL em relação ao seu controle (37.04 ± 3.97 vs. 54.82 ± 3.71 , respectivamente, $P < 0,01$), e aumento de AF no grupo IM-NAC quando comparado aos grupos IM-SAL e SH-NAC (60.24 ± 4.06 vs. 37.04 ± 3.97 vs. 44.27 ± 5.71 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 19-B). Já o balanço simpato-vagal, representado pela razão BF/AF, foi significativamente menor no grupo IM-NAC quando comparado com IM-SAL e SH-SAL (0.7541 ± 0.13 vs. 3.166 ± 0.46 vs. 1.219 ± 0.20 , respectivamente, $P < 0,01$, Figura 19-C).

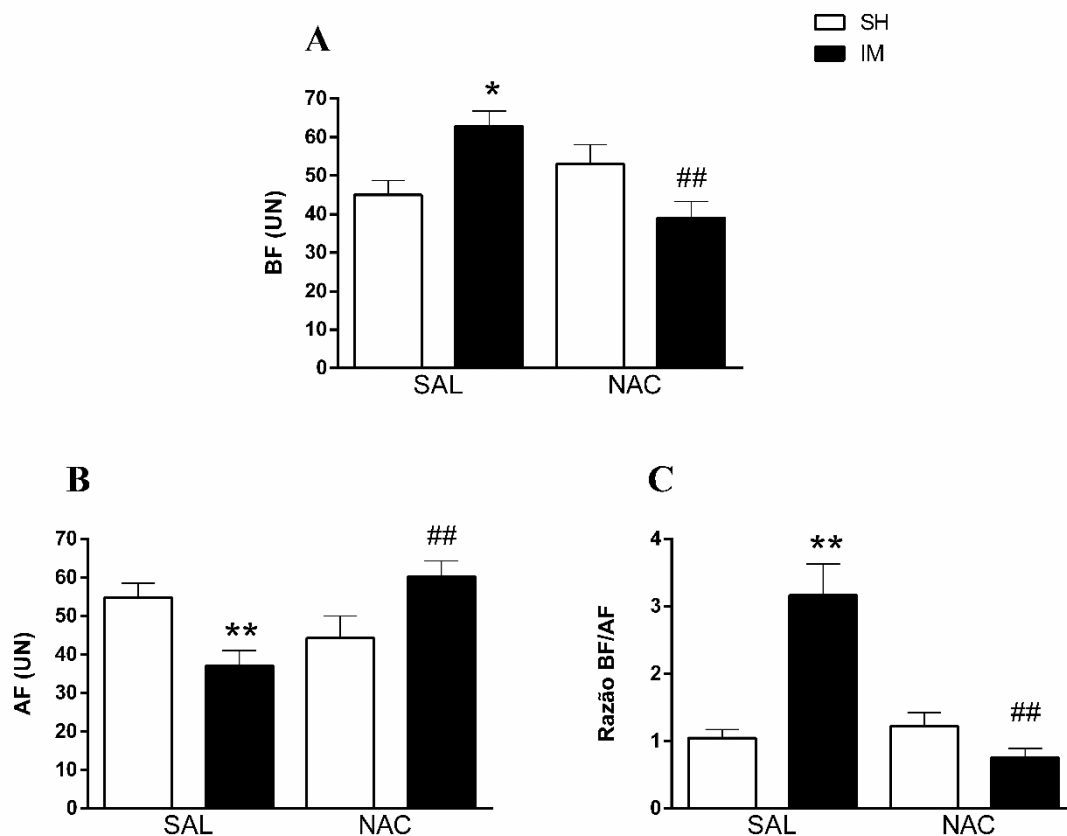


Figura 19: Variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência de animais Sham (SH) e Infartados (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL) avaliados em termos de espectro de baixa frequência (BF em UN, **A**), alta frequência (AF em UN, **B**) e a razão BF/AF (**C**). * $P < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL; ** $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo controle SH-SAL; ## $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

7.5. Expressão do fator de crescimento neural (NGF)

Com o objetivo perspicuo de investigar o possível aumento da expressão de NGF no coração de ratas infartadas que pudessem explicar, pelo menos em parte, o aumento da modulação simpática pós-infarto, bem como, o possível papel da NAC na modulação em nível transcricional deste fator de crescimento, uma vez que o tratamento com NAC diminuiu a resposta simpática pós-infarto, procedeu-se o estudo da expressão de NGF por RT-PCR 28 dias após as cirurgias.

A Figura 20 mostra os resultados do RT-PCR para NGF em todos os grupos. Como observado na Figura 20, houve aumento significativo ($P < 0,01$) da expressão de

NGF 28 dias após o infarto no grupo IM-SAL em relação ao controle (SH-SAL) (3.7 ± 0.3 vs. 1.0 ± 0.3 , respectivamente, $P < 0,01$).

Ainda na Figura 20 observa-se que o tratamento com NAC no grupo infartado (IM-NAC) foi efetivo em evitar esse aumento, uma vez que não houve diferença significativa nos valores deste grupo quando comparado ao seu controle (SH-NAC, $P > 0,05$) e diminuição significativa neste grupo em relação ao infartado tratado com veículo (IM-SAL) (1.8 ± 0.6 vs. 3.7 ± 0.3 , respectivamente, $P < 0,05$).

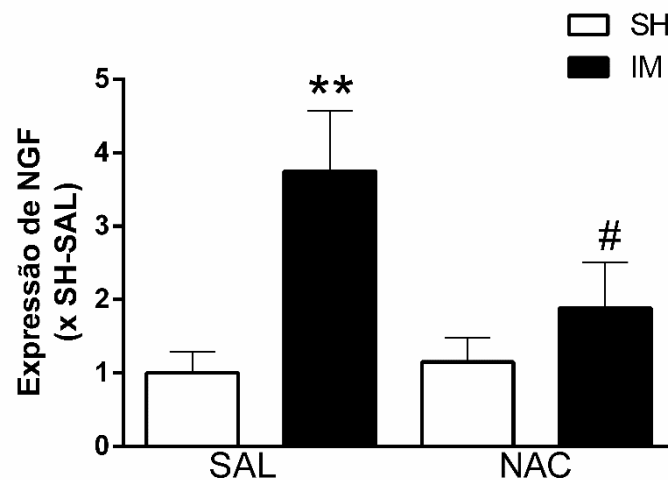


Figura 20: Expressão de NGF (número de vezes maior que a expressão do grupo SH-SAL) por RT-PCR de animais Sham (SH) e infartado (IM) tratados durante 28 dias com N-acetilcisteína (NAC) ou salina (SAL). ** $P < 0,01$ diferença significativa em relação ao grupo SH-SAL; # $P < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo IM-SAL.

8 DISCUSSÃO

Uma vez que a perda de cardiomiócitos é um mecanismo importante no desenvolvimento de remodelamento miocárdico e insuficiência cardíaca (ZHAO et al., 2004), o peso cardíaco aumentado indica o desenvolvimento de hipertrofia no miocárdio não infartado (ANVERSA et al., 1986). Estímulos extracelulares tais como a tensão mecânica, neurohormônios, ou citocinas têm sido bem reconhecidos para promover a hipertrofia dos miócitos (ZORNOFF et al., 2009). Estudos demonstraram ainda que estes estímulos extracelulares podem mediar a hipertrofia dos cardiomiócitos através do estresse oxidativo (ZHAO et al., 2009). No presente estudo o tratamento com N-acetilcisteína durante 28 dias por via-oral foi capaz de evitar a hipertrofia cardíaca/dilatação maladaptativa nos animais infartados, esses resultados estão de acordo com estudos anteriores que mostraram que diminuição do estresse oxidativo cardíaco, pode atenuar o remodelamento ventricular e melhorar a função ventricular esquerda em ratos ou camundongos com IM experimental (KINUGAWA et al., 2000; SIA, LAPOINTE, PARKER et al., 2002; SIA, PARKER, LIU et al., 2002).

As disfunções ventriculares que acontecem no infarto do miocárdio podem desenvolver aumento das pressões de enchimento ventricular e conseqüentemente, ocasionar a congestão pulmonar e hepática (BOCCHI et al., 2009; MONTERA et al., 2009). A análise dos pesos relativos e absolutos desses órgãos na literatura descreve a relação da congestão pulmonar e/ou hepática nos quadros de insuficiência cardíaca, servindo como um parâmetro indireto de avaliação para essa patologia (KIRIAZIS et al., 2002; SCHMIDT-OTT e ASCHEIM, 2006). Os nossos resultados apresentaram aumento no índice pulmonar nos animais infartados e o tratamento com NAC durante 28 dias foi capaz de atenuar a resposta de congestão. No entanto, no peso relativo do fígado não houve quaisquer alterações entre os grupos demonstrando que este modelo de insuficiência cardíaca não é capaz de promover congestão direita e que a dose (250mg/kg) e o tempo de administração (28 dias) de NAC também não foram capazes de influenciar esta variável.

Uma vez observado tais alterações na morfologia cardíaca, verificou-se qual seria seu impacto sobre parâmetros morfológicos e funcionais do coração. Realizou-se para tanto o exame ecodopplercardiográfico afim de avaliar as alterações cardíacas relacionadas com a geometria do ventrículo esquerdo, a função diastólica e sistólica bem como o processo congestivo. Quando se avaliou a geometria cardíaca em termos relativos,

ou seja, promovendo a relação entre a espessura relativa da parede posterior (ERPP) e o volume diastólico final (VDF), ambos do ventrículo esquerdo, observou-se que o parâmetro VDF pelo método *Simpson*, apresentou um aumento do volume nos animais infartados, esses dados estão de acordo com a literatura que mostra que após o infarto há uma dilatação ventricular (ANVERSA et al., 1986; LITWIN et al., 1994; PFEFFER e BRAUNWALD, 1990; SUTTON, SHARPE, 2000; WARREN et al., 1988). No entanto, a NAC não impediu a dilatação nos animais infartados.

Curiosamente, quando se avaliou a morfologia da câmara ventricular esquerda em termos relativos, i.e., a espessura relativa da parede posterior (ERPP), houve alterações diametralmente opostas nos animais infartados tratados com NAC e infartados tratados com salina. Enquanto nos animais infartados salina, houve diminuição, no grupo infartado tratado com NAC observou-se aumento neste parâmetro após 28 dias de tratamento. Segundo um princípio físico amplamente estudado em Fisiologia Cardiovascular, a “lei de Laplace”, a pressão distensora (P) em um objeto oco e distensível é igual, no equilíbrio, à tensão na parede (T) dividida pelos dois principais raios da curvatura do objeto (r1 e r2). Assim:

$$P = T(1/r1 + 1/r2)$$

Nessa equação, P é em realidade, a pressão transmural, isto é, a pressão de um lado da parede menos a do outro lado. Em uma esfera, $r1 = r2$ então $P = 2T/r$. Em um cilindro, como o vaso sanguíneo, um dos raios é infinito, então: $P = T/r$.

Portanto, em corações dilatados, quando o raio da câmara cardíaca está aumentado, desenvolve-se uma tensão maior pelo miocárdio para desenvolver uma dada pressão; conseqüentemente um coração dilatado precisa realizar um trabalho maior do que um coração não dilatado. Neste contexto, o grupo tratado com NAC exibiu vantagens sobre o grupo infartado não tratado, pois, com a redução do diâmetro diastólico e a manutenção da espessura da parede ventricular posterior, provavelmente, menor trabalho foi dispensado para a realização de uma determinada pressão. Isto em conjunto, pode explicar, pelo menos parcialmente, o melhor desempenho funcional observado. Contudo, um estudo hemodinâmico, por meio de cateterização do ventrículo esquerdo se torna extremamente relevante para o melhor entendimento do efeito da NAC nos parâmetros morfológicos e físicos do coração.

De qualquer forma, nesse estudo realizaram-se medidas indiretas da hemodinâmica cardiovascular. Por exemplo, a avaliação indireta do processo congestivo através da relação do diâmetro interno do átrio esquerdo e da aorta (relação AE/Ao). Quando há um processo congestivo esta relação aumenta. Sendo assim, após 28 dias houve aumento da relação AE/Ao nos animais infartados, e o tratamento com NAC foi efetivo em evitar o estabelecimento do processo congestivo nos animais infartados.

No que diz respeito à função diastólica, avaliada através da relação E/A, não foi observado qualquer alteração significativa. Isto sugere que o modelo de infarto do miocárdio em ratas não progride, pelo menos no protocolo utilizado aqui, para uma disfunção diastólica suficiente para alterar o padrão de enchimento ventricular esquerdo. Esse achado já foi descrito pelo nosso grupo recentemente, que demonstrou que o padrão de enchimento “restritivo”, i.e., aumento da relação E/A, ocorre somente em ratos machos e quatro semanas após a cirurgia de infarto (SOUZA et al., 2016).

Porém, ao analisar a resposta funcional sistólica do coração pela fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi possível observar que os infartados tratados com salina apresentaram queda significativa nessa variável evidenciando uma disfunção ventricular esquerda. No entanto, uma melhora significativa da fração de ejeção só foi observada nos animais IM tratadas com NAC, mostrando maior preservação da função ventricular sistólica, provavelmente em função de um remodelamento mais adaptativo, uma vez que os dados coletados do ecocardiograma sugerem que o tratamento com NAC durante 28 dias atenuou o remodelamento cardíaco e os efeitos consequentes a ele, melhorando efetivamente a propriedade contrátil do coração nos animais tratados. Nesse contexto, a terapia com NAC parece ter desempenhado um papel aditivo na melhora do desempenho sistólico cardíaco, evidenciado principalmente em termos de fração de ejeção.

Em conjunto, os dados da ecodopplercardiografia sugerem respostas adaptativas nos animais infartados tratados com NAC. Neste sentido, o tratamento durante 28 dias com N-acetilsisteína possibilitou uma manutenção das propriedades sistólicas (sugeridas pela Fração de Ejeção% e aumento da Espessura Relativa da Parede Posterior do ventrículo esquerdo) o que deve ter assegurado um nível de contratilidade maior e um processo congestivo mais brando (sugeridas pela relação AE/Ao).

Objetivando fundamentar os dados funcionais encontrados nesse estudo, procurou-se investigar se o tratamento com NAC poderia de alguma forma atenuar o estresse oxidativo no coração infartado. Sabe-se que, uma ampla gama de vias de sinalização são redox-sensíveis, portanto, um aumento no EROs pode modular o

crescimento celular autônomo e sobrevivência (BLOCK e GORIN, 2012). Sendo assim, no presente estudo buscou avaliar o estresse oxidativo e a atividade de enzima antioxidantes no tratamento com N-acetilcisteína no infarto do miocárdio. Os resultados mostraram que houve diminuição da geração de H₂O₂ no grupo tratado, uma espécie reativa de oxigênio (ERO) que pode reagir com componentes celulares tais como lipídios, proteínas alterando suas funções, bem como o DNA (FORTUNATO et al., 2014). Portanto, as mudanças na geração de H₂O₂ podem estar relacionadas à homeostase redox muscular, e a remoção direta de radicais hidroxílicos por tióis foi sugerida como mecanismo de proteção (SAGRISTÁ et al., 2002), assim como, enzimas e moléculas antioxidantes, tais como glutathiona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxiredoxinas, provavelmente por destruírem o H₂O₂ antes que ele possa reagir com DNA no núcleo (SCHWEIZER, CHIU e KÖHRLE, 2008). Sendo assim, a defesa antioxidante da N-acetilcisteína parece ser crucial para prevenir o estresse oxidativo celular sendo capaz de diminuir a geração de H₂O₂ e aumentar a atividade da GPx e TIOL nos animais infartados.

Além do estresse oxidativo local (no tecido cardíaco) impactar diretamente no remodelamento cardíaco e, portanto, na função cardíaca, evidências experimentais sugerem que o desbalanço redox pode influenciar a função cardiovascular de forma mais ampla. Por exemplo, algumas evidências sugerem que o aumento do estresse oxidativo contribui para a disfunção autonômica em doenças cardiovasculares (FLÖGEL et al., 2001; LINDLEY et al., 2004; ZANZINGER e CZACHURSKI, 2000), assim como, o aumento do estresse oxidativo seguido do infarto do miocárdio leva a simpato-excitação (LINDLEY et al., 2004). Essa hiperatividade simpática, além de aumentar a instabilidade elétrica e favorecer as arritmias que ameaçam a vida, apresentam muitos efeitos adversos, que incluem aumento na agregação plaquetária, vasoconstrição coronária e estresse da parede ventricular esquerda. Esses efeitos podem precipitar episódios isquêmicos e alterar adversamente o remodelamento ventricular (LA ROVERE et al., 1998). Considerando que a NAC é permeável à membrana celular, e desta forma, consegue atravessar passivamente a barreira hematoencefálica e assim, promover o aumento da GSH24 neuronal (AOYAMA et al., 2006; DRINGEN e HAMPRECHT, 1999; FARR et al., 2003), fica tentador levantar a hipótese de que os efeitos benéficos da NAC podem ser também atribuídos a sua ação sobre grupamentos neuronais relacionados ao controle cardiovascular.

Em função do possível efeito modulador da NAC sobre o sistema nervoso

autônomo, utilizou-se a ferramenta da análise da variabilidade da frequência cardíaca nesse estudo. Sabe-se que o tratamento com N-acetilcisteína parece ser capaz de atenuar os níveis de NGF cardíaco o que poderia estar relacionado com uma menor hiperinervação simpática causada pelo infarto (LEE, LAI e CHANG, 2010). Sendo assim, a VFC é clinicamente reconhecida como um indicador físico do equilíbrio autonômico cardíaco, o que conseqüentemente resulta em doenças cardiovasculares, sendo reduzida em pacientes após IM estando relacionada a complicações, sendo um indicador de mortalidade por esta condição (GALINIER et al., 2000; KLEIGER et al., 1987). Ao analisar a VFC, uma taxa aumentada nos parâmetros relacionados ao aumento da modulação simpática (~~BF(Hz)~~, BF(U.N.)) e razão BF/AF foi encontrada nos animais 28 dias após o infarto, o que foi diferente no grupo tratado com NAC onde essa taxa foi menor. Nos parâmetros relacionados com o aumento da modulação parassimpática tanto no domínio do tempo (RMSSD(ms)) como da frequência (~~AF(Hz)~~, AF(U.N.)) houve diminuição nos animais infartados não tratados e aumento nos animais infartados tratados com NAC.

Embora seja inevitável especular que a NAC possa ter atuado em regiões encefálicas responsáveis pelo controle autonômico cardíaco e desta forma ter reduzido a hiperatividade simpática em resposta à insuficiência cardíaca, não se pode comprovar essa hipótese com a metodologia empregada nesse estudo. No entanto, esta hipótese deve ser testada em estudos futuros utilizando microinjeção central de NAC, por exemplo, pois dados na literatura sugerem que o estresse oxidativo de neurônios está ligada ao aumento da atividade autonômica simpática no modelo do infarto do miocárdio (YU et al., 2013).

Assim, com os dados experimentais obtidos nesse estudo, é possível concluir que a diminuição da resposta autonômica simpática em resposta ao infarto do miocárdio deve ser atribuída, pelo menos em parte, ao aumento da expressão de NGF, descrito como fator importante para a hiperinervação simpática pós-infarto (LEE, LAI e CHANG, 2010). Além disso, corroborando resultados descritos anteriormente (LEE, LAI e CHANG, 2010), a NAC parece diminuir esse efeito por meio da inibição da expressão desse fator, resultado obtido nesse estudo (Figura 21).

A Figura 22 ilustra de forma hipotética os possíveis sítios de atuação da N-acetilcisteína que ajudam a compreender, pelo menos em parte, seus efeitos benéficos no modelo de infarto do miocárdio em ratos. Como observado na Figura e baseando-se nos resultados desse estudo, a N-acetilcisteína: 1. Reduz o estresse oxidativo propiciando um remodelamento cardíaco adaptativo; 2. Diminui a expressão de NGF reduzindo o efeito

da hiperatividade simpática e, de forma especulativa; 3. Reduz o estresse oxidativo no sistema nervoso central diminuindo o fluxo simpático por meio da inibição direta e/ou indireta sobre a atividade de neurônios pré-motores simpáticos no núcleo paraventricular do hipotálamo (GUGGILAM *et al.*, 2007; MASSON *et al.*, 2014). Essas ações em conjunto melhoram a função cardíaca como sugerida por meio dos exames ecodopplercardiográficos nesse estudo.

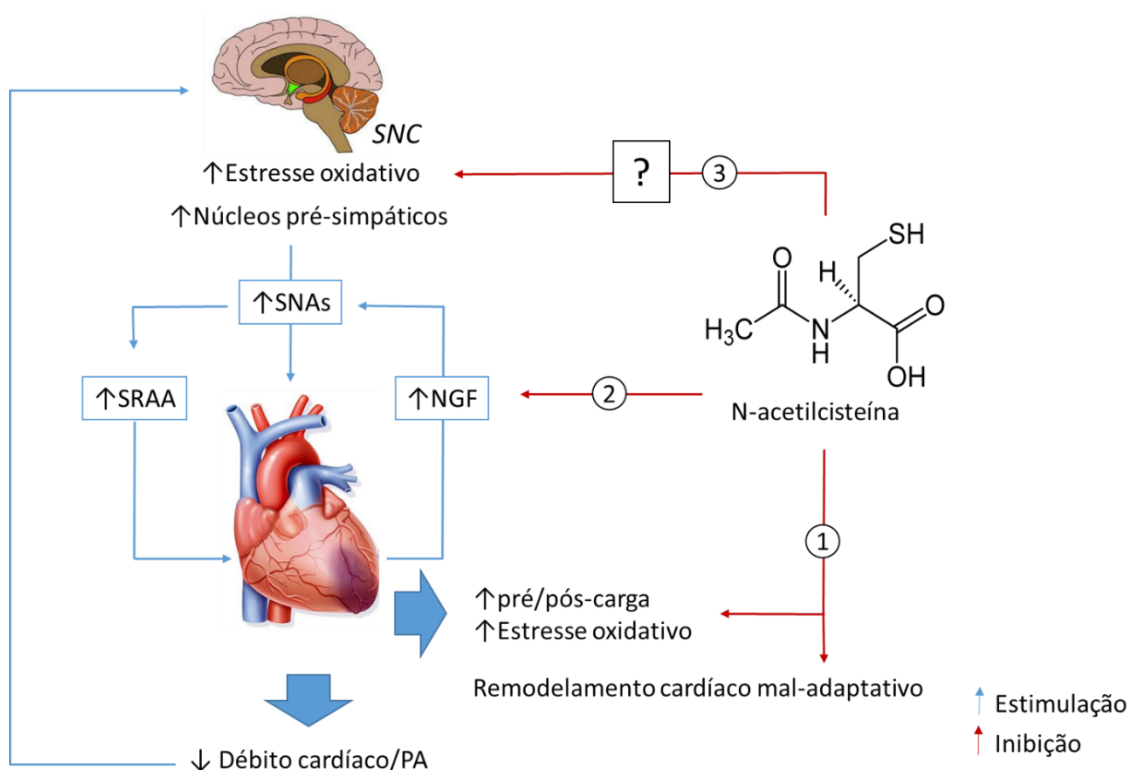


Figura 21. Esquema ilustrativa dos possíveis sítios de atuação da N-acetilcisteína. 1. efeitos diretos sobre o estresse oxidativo e remodelamento cardíaco. 2. efeito indireto reduzindo a expressão de NGF no e a hiperinervação simpática e, portanto, a modulação simpática sobre o coração. 3. efeito sobre o sistema nervoso central (núcleo paraventricular do hipotálamo) diminuindo o estresse oxidativo e a ativação de neurônios pré-simpáticos reduzindo assim o fluxo simpático sobre o sistema cardiovascular. NGF = fator de crescimento neuronal. PA = pressão arterial. SRAA = sistema renina-angiotensina-aldosterona. O ponto de interrogação indica uma especulação do efeito da N-acetilcisteína baseado em dados prévios da literatura.

No entanto, estudos futuros deverão ser conduzidos para a avaliação da importância desses possíveis efeitos da NAC no modelo de IAM em ratos.

Um outro achado interessante deste estudo foi aquele relativo a frequência cardíaca. A frequência cardíaca elevada em repouso é um preditor de mortalidade cardiovascular na população geral, bem como em pacientes com hipertensão, doença coronariana e insuficiência cardíaca crônica (COOK *et al.*, 2006; HJALMARSON e ÅKE, 2007). A média da frequência cardíaca no presente estudo mostrou-se elevada nos

animais infartados. Alguns estudos fisiopatológicos indicam que uma frequência cardíaca mais alta tem efeitos prejudiciais que favorecem a isquemia miocárdica, arritmias ventriculares, bem como um aumento do estresse oxidativo vascular, disfunção endotelial e progressão da aterosclerose (DIAZ et al., 2005; DISEGNI et al., 1995; GILLMAN et al., 1993; GILLUM, MAKUC e FELDMAN, 1991; LANG et al., 2010). A frequência cardíaca é determinada pela atividade do nodo sinusal, que é influenciada pela interação de atividades simpáticas e vagais. Uma frequência cardíaca elevada pode, portanto, resultar de hiperatividade simpática ou de uma diminuição da atividade vagal (desequilíbrio autonômico) (LANG et al., 2010). Em verdade, quando ocorre uma dilatação do coração, as fibras cardíacas aferentes simpáticas aumentam o disparo, e essa excitação simpática aferente leva à inibição tônica e reflexa da atividade eferente vagal cardíaca (SCHWARTZ e DE FERRARI, 2011)

Sendo assim, o desequilíbrio autonômico, caracterizado por um sistema simpático hiperativo e um sistema parassimpático hipoativo, está associado a várias condições patológicas (KISHI, 2012). Uma hipótese para explicar os achados do presente estudo é que a diminuição da VFC nos animais após 28 dias de infarto correlaciona-se com aumento da atividade simpática e diminuição vagal, podendo predispor à fibrilação ventricular (BIGGER et al., 1991; KLEIGER et al., 1987). Assim como, as alterações na VFC podem ser consideradas como um reflexo do desequilíbrio do estresse oxidativo (BROOK et al., 2010; CHAHINE et al., 2007; CHUANG et al., 2013). Portanto, o desequilíbrio autonômico pode ser um caminho final comum para o aumento da morbidade e mortalidade de uma série de condições e doenças, incluindo doenças cardiovasculares (THAYER, YAMAMOTO e BROSSCHOT, 2010). No entanto nos animais tratados com N-acetilcisteína essas respostas foram atenuadas sugerindo que a diminuição do estresse oxidativo é um mecanismo protetor que é capaz de mitigar as alterações na VFC.

9 CONCLUSÃO

Os dados mais relevantes do presente estudo foram aqueles que sugeriram que o tratamento de ratas infartadas durante 28 dias com N-acetilcisteína não só foi efetivo em evitar o remodelamento cardíaco maladaptativo, isto é, a dilatação da câmara ventricular esquerda como em modificar a geometria da câmara para um padrão adaptativo onde a relação entre a parede ventricular e o diâmetro da câmara foi aumentada. Esse padrão deve ter propiciado repercussões hemodinâmicas que refletiram em melhor função cardíaca e, portanto, o não estabelecimento do processo congestivo observado nas ratas infartadas tratadas com salina.

Em busca de mecanismos que explicassem pelo menos em parte os efeitos da NAC no remodelamento cardíaco adaptativo e na melhora da função cardíaca, observamos que os animais tratados com NAC apresentaram melhor perfil redox sugerido aqui pelo aumento da atividade de enzimas antioxidantes e diminuição de H_2O_2 . Outro achado interessante foi aquele da análise na variabilidade da frequência cardíaca que revelou balanço simpato-vagal deslocado para o parassimpático, sugerindo modulação autonômica mais favorável nos animais infartados tratados com NAC. Se esse achado de diminuição da modulação simpática/aumento da modulação parassimpática foi devido a menor inervação simpática devido a menor expressão de NGF, observada aqui nesse estudo, ou consequência de um estado hemodinâmico mais fisiológico/favorável e, portanto, menor resposta neurohumoral, estudos futuros devem ser realizados para definir esta questão que permanece aberta.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, K. F. Pathophysiologic role of the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems in heart failure. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 61, n. 9, p. S4–S13, 2004.

AIRES, R. et al. Time course of changes in heart rate and blood pressure variability in rats with myocardial infarction. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 1, 2017.

AKSELROD, S. et al. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. **The American journal of physiology**, v. 249, n. 4, p. H867-75, 1985.

ALLEN, A. M. et al. Angiotensin receptors in the nervous system. **Brain research bulletin**, v. 47, n. 1, p. 17–28, 1998.

ANTONELLI, L. et al. Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo Preservada em Pacientes com Infarto Agudo do Miocárdio. **Arq Bras Cardiol**, v. 105, n. 2, p. 145–150, 2015.

ANVERSA, P. et al. Myocardial infarction in rats. Infarct size, myocyte hypertrophy, and capillary growth. **Circulation Research**, v. 58, n. 1, p. 26–37, 1986.

AOYAMA, K. et al. Neuronal glutathione deficiency and age-dependent neurodegeneration in the EAAC1 deficient mouse. **Nature neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 119–126, 2006.

ARAÚJO, D. V. et al. Custo da insuficiência cardíaca no Sistema Único de Saúde. **Arq Bras Cardiol**, v. 84, n. 5, p. 422–427, 2005.

ARUOMA, O. I. et al. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 6, n. 6, p. 593–597, 1989.

AUBERT, A. E. et al. Complexity of cardiovascular regulation in small animals. **Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences**, v. 367, n. 1892, p. 1239–50, 2009.

AUBERT, A. E. et al. The analysis of heart rate variability in unrestrained rats. **Validation of method and results**. Computer methods and programs in biomedicine, v. 60, n. 3, p. 197–213, 1999.

AVEZUM, A. et al. Aspectos epidemiológicos do infarto agudo do miocárdio no Brasil. **Rev Bras Clin Terap**, v. 31, n. 2, p. 93–96, 2005.

AVEZUM, Á. et al. III Diretriz sobre tratamento do infarto agudo do miocárdio. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 83, p. 1–86, 2004.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse Oxidativo: Relação Entre Geração de Espécies Reativas e Defesa do Organismo. **Quim. Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006

BARRETTO, A. C. P. et al. Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Cardíaca. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, p. 1-30, 2002

BARROS, R. A.; OKOSHI, M. P.; CICOGNA, A. C. Via beta-adrenérgica em corações normais e hipertrofiados. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 72, n. 5, p. 641–656, 1999.

BEER, S. et al. High-dose 17beta-estradiol treatment prevents development of heart failure post-myocardial infarction in the rat. **Basic research in cardiology**, v. 102, n. 1, p. 9–18, 2007.

BEL, A. et al. Transplantation of autologous fresh bone marrow into infarcted myocardium: a word of caution. **Circulation**, v. 108, n. 10 suppl 1, p. II-247, 2003.

BERK, B. C.; FUJIWARA, K.; LEHOUX, S. Review series ECM remodeling in hypertensive heart disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 3, p. 568–575, 2007.

BIGGER, T. J. et al. Frequency Domain Measures of Heart Period Variability and Mortality After Myocardial Infarction. **Circulation**, v. 85, n. 1, p. 164–171, 1991.

BLOCK, K.; GORIN, Y. Aiding and abetting roles of NOX oxidases in cellular transformation. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, n. 9, p. 627, 2012.

BOCCHI, E. A. et al. III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, p. 3-70, 2009

BRAUNERSREUTHER, V.; JAQUET, V. Reactive oxygen species in myocardial reperfusion injury: from physiopathology to therapeutic approaches. **Current pharmaceutical biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 97–114, 2012.

BROOK, R. D. et al. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease. **Circulation**, v. 121, n. 21, p. 2331–2378, 2010.

BUJA, L. M. Lipid abnormalities in myocardial cell injury. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 1, n. 1, p. 40–45, 1991.

BUJA, L. M. Myocardial ischemia and reperfusion injury. **Cardiovascular Pathology**, v. 14, n. 4, p. 170–175, 2005.

BURGUNDER, J. M.; VARRIALE, A.; LAUTERBURG, B. H. Effect of N-acetylcysteine on plasma cysteine and glutathione following paracetamol administration. **European journal of clinical pharmacology**, v. 36, n. 2, p. 127–131, 1989.

BUSCHE, S. et al. Expression of Angiotensin AT1 and AT2 Receptors in Adult Rat Cardiomyocytes after Myocardial Infarction: A Single-Cell Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Study. **The American Journal of Pathology**, v. 157, n. 2, p. 605–611, 2000.

BUTTRICK, P.; SCHEUER, J. Sex-associated differences in left ventricular function in aortic stenosis of the elderly. **Circulation**, v. 86, n. 4, p. 1336–1338, 1992.

CASOLO, G. C. et al. Heart rate variability during the acute phase of myocardial infarction. **Circulation**, v. 85, n. 6, p. 2073–2079, 1992.

CAVE, A. C. et al. NADPH oxidases in cardiovascular health and disease. **Antioxidants & redox signaling**, v. 8, n. 5–6, p. 691–728, 2006.

CECONI, C. et al. The Role of Glutathione Status in the Protection Against Ischaemic and Reperfusion Damage: Effects of N-Acetyl Cysteine University of Brescia, Chair of Cardiology and Chair of Chemistry, Brescia, Italy Perfusion sequence. **J Mol Cell Cardio**, v. 13, n. 1, p. 5–13, 1988.

CHAHINE, T. et al. Particulate air pollution, oxidative stress genes, and heart rate variability in an elderly cohort. **Environmental health perspectives**, v. 115, n. 11, p. 1617, 2007.

CHAN, Y. H. et al. Subcutaneous nerve activity is more accurate than the heart rate variability in estimating cardiac sympathetic tone in ambulatory dogs with myocardial infarction. **Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society**, v. 12, n. 7, p. 1619–1627, 2015.

CHESS, G. F.; TAM, R. M.; CALARESU, F. R. Influence of cardiac neural inputs on rhythmic variations of heart period in the cat. **The American journal of physiology**, v. 228, n. 3, p. 775–80, 1975.

CHUANG, H. C. et al. Nickel-regulated heart rate variability: the roles of oxidative stress and inflammation. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 266, n. 2, p. 298–306, 2013.

CLELAND, J. G. F. et al. The EuroHeart Failure survey programme—a survey on the quality of care among patients with heart failure in Europe: Part 1: patient characteristics and diagnosis. **European heart journal**, v. 24, n. 5, p. 442–463, 2003.

COOK, S. et al. High heart rate: a cardiovascular risk factor? **European heart journal**, v. 27, n. 20, p. 2387–2393, 2006.

COURNEYA, C. A.; KORNER, P. I. Neurohumoral mechanisms and the role of arterial baroreceptors in the reno-vascular response to haemorrhage in rabbits. **The Journal of physiology**, v. 437, n. 1, p. 393–407, 1991.

DA SILVA-SOUZA, M. V. A. et al. Variabilidade da frequência cardíaca: análise dos índices no domínio do tempo em portadores de cardiopatia chagásica crônica, antes e após um programa de exercícios. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 32, n. 3, p. 219–227, 2013.

DAVIS, R. C.; HOBBS, F. D. R.; LIP, G. Y. H. ABC of heart failure: history and epidemiology: History and epidemiology. **British Medical Journal**, v. 320, n. 7226, p. 39, 2000.

DE CASTRO, A. L. et al. Cardioprotective effects of thyroid hormones in a rat model of myocardial infarction are associated with oxidative stress reduction. **Mol Cell Endocrinol**, v. 391, n. 1–2, p. 22–29, 25 jun. 2014.

DHALLA, N. S. et al. Evidence for the role of oxidative stress in acute ischemic heart disease: a brief review. **The Canadian journal of cardiology**, v. 15, n. 5, p. 587–593, 1999.

DIAZ, A. et al. Long-term prognostic value of resting heart rate in patients with suspected or proven coronary artery disease. **European heart journal**, v. 26, n. 10, p. 967–974, 2005.

DISEGNI, E. et al. The predictive value of admission heart rate on mortality in patients with acute myocardial infarction. **Journal of clinical epidemiology**, v. 48, n. 10, p. 1197–1205, 1995.

DOS REIS, A. F. et al. Parasympathetic dysfunction, heart rate variability and cholinergic stimulation after acute myocardial infarction. **Arq Bras Cardiol**, v. 70, n. 3, p. 193–199, 1998.

DRINGEN, R.; HAMPRECHT, B. N-acetylcysteine, but not methionine or 2-oxothiazolidine-4-carboxylate, serves as cysteine donor for the synthesis of glutathione in cultured neurons derived from embryonal rat brain. **Neuroscience letters**, v. 259, n. 2, p. 79–82, 1999.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological reviews**, v. 82, n. 1, p. 47–95, 2002.

EAKER, E. D. et al. Cardiovascular disease in women. **Circulation**, v. 88, n. 4, p. 1999–2009, 1993.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 82, n. 1, p. 70–77, 1959.

ENGBERDING, N. et al. Allopurinol attenuates left ventricular remodeling and dysfunction after experimental myocardial infarction: A new action for an old drug? **Circulation**, v. 110, n. 15, p. 2175–2179, 2004.

ESCOSTEGUY, C. C. Epidemiologia das doenças cardiovasculares nas mulheres. **Revista da SOCERJ**, 2002.

FACTOR, S. M. Borderline myocarditis on initial endomyocardial biopsy: no-man's-land no more? **Journal of the American College of Cardiology**, v. 15, n. 2, p. 290–291, 1990.

FARR, S. A. et al. The antioxidants α -lipoic acid and N-acetylcysteine reverse memory impairment and brain oxidative stress in aged SAMP8 mice. **Journal of neurochemistry**, v. 84, n. 5, p. 1173–1183, 2003.

FARRELL, T. G. et al. Baroreflex sensitivity and electrophysiological correlates in patients after acute myocardial infarction. **Circulation**, v. 83, n. 3, p. 945–952, 1991.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Medicina**, v. 43, n. 1, p. 61–68, 1997.

FILOMENI, G.; CIRIOLO, M. R. Redox control of apoptosis: an update. **Antioxidants & redox signaling**, v. 8, n. 11–12, p. 2187–92, 2006.

FISHBEIN, M. C.; MACLEAN, D.; MAROKO, P. R. Experimental myocardial infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. **The American journal of pathology**, v. 90, n. 1, p. 57, 1978a.

FISHBEIN, M. C.; MACLEAN, D.; MAROKO, P. R. The histopathologic evolution of myocardial infarction. **Chest**, v. 73, n. 6, p. 843–849, 1978b.

FLÖGEL, U. et al. Myoglobin: a scavenger of bioactive NO. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 2, p. 735–740, 2001.

FORTUNATO, R. S. et al. Sexual dimorphism and thyroid dysfunction: a matter of oxidative stress? **Journal of Endocrinology**, v. 221, n. 2, p. R31–R40, 2014.

FRANCIS, G. S. Pathophysiology of chronic heart failure. **The American journal of medicine**, v. 110, n. 7, p. 37–46, 2001.

FRANCIS, J. et al. Central mineralocorticoid receptor blockade improves volume regulation and reduces sympathetic drive in heart failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 281, n. 5, p. H2241–H2251, 2001.

FRANCISCHETTI, I. et al. Leukocytes and the inflammatory response in ischemia-reperfusion injury. **Revista brasileira de cirurgia cardiovascular: orgao oficial da Sociedade Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 25, n. 4, p. 575–584, 2010.

FUKUI, T. et al. Expression of p22-phox and gp91-phox, essential components of NADPH oxidase, increases after myocardial infarction. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 281, n. 5, p. 1200–6, 2001.

FURLAN, R. et al. Continuous 24-hour assessment of the neural regulation of systemic arterial pressure and RR variabilities in ambulant subjects. **Circulation**, v. 81, n. 2, p. 537–547, 1990.

GALINIER, M. et al. Depressed low frequency power of heart rate variability as an independent predictor of sudden death in chronic heart failure. **European Heart Journal**, v. 21, n. 6, p. 475–482, 2000.

GARDIN, J. M. et al. Relationship of cardiovascular risk factors to echocardiographic left ventricular mass in healthy young black and white adult men and women. **Circulation**, v. 92, n. 3, p. 380–387, 1995.

GASPARELO, T. A. C. Estudo dos mecanismos genéticos e celulares durante a fase inflamatória do processo de regeneração tecidual em animais selecionados geneticamente para a máxima resposta inflamatória aguda homocigotos para os alelos R ou S do gene Slc11a1. Dissertação (Mestrado em Imunologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42133/tde-03022010-093331/en.php>>. Acesso em: 2017-01-24.

GILLMAN, M. W. et al. Influence of heart rate on mortality among persons with hypertension: the Framingham Study. **American heart journal**, v. 125, n. 4, p. 1148–1154, 1993.

GILLUM, R. F.; MAKUC, D. M.; FELDMAN, J. J. Pulse rate, coronary heart disease, and death: the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. **American heart journal**, v. 121, n. 1, p. 172–177, 1991.

GIORDANO, F. J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 3, p. 500–508, 2005.

GODOY, M. F. et al. Mortalidade por doenças cardiovasculares e níveis socioeconômicos na população de São José do Rio Preto, estado de São Paulo, Brasil. **Arq Bras Cardiol**, v. 88, n. 2, p. 200–206, 2007.

GREENBERG, H.; MCMASTER, P.; DWYER JR., E. M. Left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction: Results of a prospective multicenter study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 4, n. 5, p. 867–874, 1984.

GRIEVE, D. J. et al. Role of oxidative stress in cardiac remodelling after myocardial infarction. **Heart, lung & circulation**, v. 13, n. 2, p. 132–8, 2004.

GUGGILAM, A. et al. TNF- α blockade decreases oxidative stress in the paraventricular nucleus and attenuates sympathoexcitation in heart failure rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 1, p. H599–H609, 2007.

GUIMARÃES, H. P.; AVEZUM, Á.; PIEGAS, L. S. Epidemiologia do infarto agudo do miocárdio. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v. 16, n. 1, p. 1–7, 2006.

HARE, J. M. Oxidative Stress and Apoptosis in Heart Failure Progression. **Circulation Research**, v. 89, n. 3, p. 198–200, 2001.

HASENFUSS, G. et al. Calcium handling proteins in the failing human heart. **Basic Research in Cardiology**, v. 92, n. 1, p. 87–93, 1997.

HEINEKE, J.; MOLKENTIN, J. D. Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signalling pathways. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 8, p. 589–600, 2006.

HENZE, M. et al. Persistent alterations in heart rate variability, baroreflex sensitivity, and anxiety-like behaviors during development of heart failure in the rat. **American journal of physiology-heart and circulatory physiology**, v. 295, n. 1, p. H29–H38, 2008.

HILL, M. F.; SINGAL, P. K. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. **The American Journal of Pathology**, v. 148, n. 1, p. 291–300, jan. 1996a.

HILL, M. F.; SINGAL, P. K. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. **The American Journal of Pathology**, v. 148, n. 1, p. 291–300, 1996b.

HJALMARSON, Å. et al. Effect on mortality of metoprolol in acute myocardial infarction. A Double-blind Randomised Trial. **The Lancet**, v. 318, n. 8251, p. 823–827, 1981.

HJALMARSON, Å. Heart rate: an independent risk factor in cardiovascular disease. **European Heart Journal Supplements**, v. 9, n. suppl_F, p. F3–F7, 2007.

HOIT, B. D. et al. In vivo determination of left ventricular wall stress-shortening relationship in normal mice. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 272, n. 2, p. H1047–H1052, 1997.

IDE, T. et al. Direct evidence for increased hydroxyl radicals originating from superoxide in the failing myocardium. **Circulation research**, v. 86, n. 2, p. 152–157, 2000.

IDE, T. et al. Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction. **Circulation research**, v. 88, n. 5, p. 529–535, 2001.

Indicadores de Saúde. Disponível em: www.datasus.gov.br (acesso em 18/01/2017)

JANSSENS, S. et al. Cardiomyocyte-specific overexpression of nitric oxide synthase 3 improves left ventricular performance and reduces compensatory hypertrophy after myocardial infarction. **Circulation research**, v. 94, n. 9, p. 1256–1262, 2004.

JOHNS, T. N. P.; OLSON, B. J. Experimental myocardial infarction: I. A method of coronary occlusion in small animals. **Annals of Surgery**, v. 140, n. 5, p. 675, 1954.

JONES, C. M. et al. Kinetics of superoxide scavenging by glutathione: an evaluation of its role in the removal of mitochondrial superoxide. **Biochemical Society transactions**, v. 31, n. 6, p. 1337–1339, 2003.

KANNEL, W. B. et al. Coronary heart disease and atrial fibrillation: The Framingham Study. **American Heart Journal**, v. 106, n. 2, p. 389–396, 1983.

KANNEL, W. B.; PLEHN, J. F.; CUPPLES, L. A. Cardiac failure and sudden death in the Framingham Study. **American Heart Journal**, v. 115, n. 4, p. 869–875, 1988.

KHAPER, N. et al. Antioxidant enzyme gene expression in congestive heart failure following myocardial infarction. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 251, n. 1, p. 9–15, 2003.

KINUGAWA, S. et al. Treatment with dimethylthiourea prevents left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction in mice: role of oxidative stress. **Circulation research**, v. 87, n. 5, p. 392–398, 2000.

KIRIAZIS, H. et al. Hypertrophy and functional alterations in hyperdynamic phospholamban-knockout mouse hearts under chronic aortic stenosis. **Cardiovascular research**, v. 53, n. 2, p. 372–381, 2002.

KISHI, T. et al. Angiotensin II type 1 receptor–activated caspase-3 through ras/mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in the rostral ventrolateral medulla is involved in sympathoexcitation in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 55, n. 2, p. 291–297, 2010.

KISHI, T. Heart failure as an autonomic nervous system dysfunction. **Journal of cardiology**, v. 59, n. 2, p. 117–122, 2012.

KITNEY, R. I. An Analysis of the Thermoregulatory Influences on Heart-Rate Variability, chapter 5. In: The study of heart-rate variability. **Oxford University press**, New York, NY, 1980, p. 81–106.

KLEIGER, R. E. et al. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. **The American Journal of Cardiology**, v. 59, n. 4, p. 256–262, 1987.

KORPELAINEN, J. T. et al. Cardiovascular autonomic reflexes in brain infarction. **Stroke**, v. 25, n. 4, p. 787–792, 1994.

KRIJNEN, P. A. J. et al. Increased Nox2 expression in human cardiomyocytes after acute myocardial infarction. **Journal of clinical pathology**, v. 56, n. 3, p. 194–9, 2003.

LA ROVERE, M. T. et al. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. **The Lancet**, v. 351, n. 9101, p. 478–484, 1998.

LANG, C. C. et al. Elevated heart rate and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease: clinical evidence and pathophysiological mechanisms. **Atherosclerosis**, v. 212, n. 1, p. 1–8, 2010.

LEE, T. M.; LAI, P. Y.; CHANG, N. C. Effect of N-acetylcysteine on sympathetic hyperinnervation in post-infarcted rat hearts. **Cardiovascular Research**, v. 85, n. 1, p. 137–146, 2010.

LERNER, D. J.; KANNEL, W. B. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. **American heart journal**, v. 111, n. 2, p. 383–390, 1986.

LESSA, Í. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica e da insuficiência cardíaca no Brasil. **Rev bras hipertens**, v. 8, n. 4, p. 383–392, 2001.

LI, M. et al. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. **Circulation**, v. 109, n. 1, p. 120–124, 2004.

LI, Y. F. et al. Angiotensin-mediated increase in renal sympathetic nerve discharge within the PVN: role of nitric oxide. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 290, n. 4, p. R1035–R1043, 2006.

LINDLEY, T. E. et al. Superoxide is involved in the central nervous system activation and sympathoexcitation of myocardial infarction-induced heart failure. **Circulation research**, v. 94, n. 3, p. 402–409, 2004.

LINDPAINNER, K. et al. Selective activation of cardiac angiotensinogen gene expression in post-infarction ventricular remodeling in the rat. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 25, n. 2, p. 133–143, 1993.

LITWIN, S. E. et al. Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. **Circulation**, v. 89, n. 1, p. 345–354, 1994.

LOMBARDI, F. et al. Heart rate variability as an index of sympathovagal interaction after acute myocardial infarction. **The American Journal of Cardiology**, v. 60, n. 16, p. 1239–1245, 1987.

LOOI, Y. H. et al. Involvement of Nox2 NADPH oxidase in adverse cardiac remodeling after myocardial infarction. **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 319–325, 2008.

LOPEZ, A. D. Assessing the burden of mortality from cardiovascular diseases. World health statistics quarterly. **Rapport trimestriel de statistiques sanitaires mondiales**, v. 46, n. 2, p. 91–96, 1993.

LU, L.; QUINN, M. T.; SUN, Y. Oxidative stress in the infarcted heart: role of de novo angiotensin II production. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 325, n. 3, p. 943–951, 2004.

MALIK, M.; CAMM, A. J. Components of heart rate variability--what they really mean and what we really measure. **The American journal of cardiology**, v. 72, n. 11, p. 821–822, 1993a.

MALIK, M.; CAMM, A. J. Heart rate variability: From facts to fancies. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 22, n. 2, p. 566–568, 1993b.

MALLAT, Z. et al. Elevated levels of 8-iso-prostaglandin F2alpha in pericardial fluid of patients with heart failure: a potential role for in vivo oxidant stress in ventricular dilatation and progression to heart failure. **Circulation**, v. 97, n. 16, p. 1536–9, 1998.

MALLIANI, A. et al. Spectral analysis to assess increased sympathetic tone in arterial hypertension. **Hypertension**, v. 17, n. 4, p. III36, 1991.

MALLORY, F. B.; PARKER JR, F. Fixing and staining methods for lead and copper in tissues. **The American journal of pathology**, v. 15, n. 5, p. 517, 1939.

MASANO, T. et al. Beneficial effects of exogenous tetrahydrobiopterin on left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats: the possible role of oxidative stress caused by uncoupled endothelial nitric oxide synthase. **Circ.J.**, v. 72, n. 1346–9843 (Print), p. 1512–1519, 2008.

MASSON, G. S. et al. Time-Dependent Effects of Training on Cardiovascular Control in Spontaneously Hypertensive Rats: Role for Brain Oxidative Stress and Inflammation and Baroreflex Sensitivity. **PLOS ONE**, v. 9, n. 5, p. e94927, 2014.

MATEJÍKOVÁ, J. et al. Protection against ischemia-induced ventricular arrhythmias and myocardial dysfunction conferred by preconditioning in the rat heart: Involvement of mitochondrial KATP channels and reactive oxygen species. **Physiological Research**, v. 58, n. 1, p. 9–19, 2009.

MCKEE, P. A. et al. The Natural History of Congestive Heart Failure: The Framingham Study. **New England Journal of Medicine**, v. 285, n. 26, p. 1441–1446, 1971.

MCMURRAY, J. et al. Evidence of oxidative stress in chronic heart failure in humans. **European Heart Journal**, v. 14, n. 11, p. 1493–1498, 1993.

MEISTER, A. Glutathione biosynthesis and its inhibition. **Methods in enzymology**, v. 252, p. 26–30, 1994.

MIRANDA, A. et al. Time course of echocardiographic and electrocardiographic parameters in myocardial infarct in rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, n. 4, p. 639–648, 2007.

MONTERA, M. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. II Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Aguda. II Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Aguda. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, n. 3 supl. 3, p. 1-65, 2009

MORAES, R. S. F.; FERLIN, E. L. Variabilidad de la frecuencia cardíaca: utilidad del análisis espectral para evaluar el sistema nervioso autónomo. **Revista Argentina de Cardiologia**, v. 60, p. 77–80, 1992.

MOSCA, L. et al. Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women—2011 update. **Circulation**, v. 123, n. 11, p. 1243-1262, 2011.

MOSCA, L. et al. Evidence-based guidelines for cardiovascular disease prevention in women: 2007 update. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 49, n. 11, p. 1230–1250, 2007.

MURDOCH, C. E. et al. NADPH oxidase and heart failure. **Current opinion in pharmacology**, v. 6, n. 2, p. 148–153, 2006.

NAKAGAMI, H.; TAKEMOTO, M.; LIAO, J. K. NADPH oxidase-derived superoxide anion mediates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 35, n. 7, p. 851–859, 2003.

NICOD, P. et al. Influence on prognosis and morbidity of left ventricular ejection fraction with and without signs of left ventricular failure after acute myocardial infarction. **The American journal of cardiology**, v. 61, n. 15, p. 1165–1171, 1988.

OGAWA, K. et al. Brain AT1 receptor activates the sympathetic nervous system through toll-like receptor 4 in mice with heart failure. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 58, n. 5, p. 543–549, 2011.

OLIVARES, E. L. et al. Bone marrow stromal cells improve cardiac performance in healed infarcted rat hearts. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 287, n. 2 56-2, p. H464–H470, 2004.

OLIVARES, E. L. et al. Cellular cardiomyoplasty in large myocardial infarction: Can the beneficial effect be enhanced by ACE-inhibitor therapy? **European Journal of Heart Failure**, v. 9, n. 6–7, p. 558–567, 2007.

PEDERSEN, T. R. Six-year follow-up of the Norwegian Multicenter Study on Timolol after Acute Myocardial Infarction. **The New England journal of medicine**, v. 313, n. 17, p. 1055–8, 1985.

PEKER, O. et al. Effects of intravenous N-acetylcysteine on periprocedural myocardial injury after on-pump coronary artery by-pass grafting. **Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 49, n. 4, p. 527, 2008.

PEREIRA-JUNIOR, P. P. et al. Cardiac autonomic dysfunction in rats chronically treated with anabolic steroid. **European Journal of Applied Physiology**, v. 96, n. 5, p. 487–494, 2006.

PEREIRA-JUNIOR, P. P. et al. Noninvasive method for electrocardiogram recording in conscious rats: feasibility for heart rate variability analysis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 2, p. 431-437, 2010

PFEFFER, M. A. et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. **Circulation research**, v. 44, n. 4, p. 503–512, 1979.

PFEFFER, M. A.; BRAUNWALD, E. Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction Experimental Observations and Clinical Implications. **Circulation Research**, v. 81, n. 4, p. 1161–1172, 1990.

PIMENTA, L. Doença cardiovascular na mulher: fatos e mitos. **Revista da SOCERJ**, 2001.

PIPILIS, A. et al. Heart rate variability in acute myocardial infarction and its association with infarct site and clinical course. **The American Journal of Cardiology**, v. 67, n. 13, p. 1137–1139, 1991.

POLI, G.; PAROLA, M. Oxidative damage and fibrogenesis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 22, n. 1–2, p. 287–305, 1997.

POULSEN, H. E.; PRIEME, H.; LOFT, S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 7, n. 1, p. 9–16, 1998.

PRINCIP, M. et al. Can illness perceptions predict lower heart rate variability following acute myocardial infarction? **Frontiers in psychology**, v. 7, 2016.

RAPEPORT, N. Cardiovascular disease prevention in women: are we up to date? **Cardiovascular journal of Africa**, v. 22, n. 3, p. 119–121, 2011.

REIMER, K. A.; IDEKER, R. E. Myocardial ischemia and infarction: anatomic and biochemical substrates for ischemic cell death and ventricular arrhythmias. **Human pathology**, v. 18, n. 5, p. 462–475, 1987.

RUBIN, S. A. et al. Compensatory hypertrophy in the heart after myocardial infarction in the rat. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 1, n. 6, p. 1435–1441, 1983.

RUH, A. C. et al. Inflamação: entre a regeneração e a cicatrização. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 19, n. 1, p. 11–19, 2013.

SAGRISTÁ, M. L. et al. Antioxidant and pro-oxidant effect of the thiolic compounds N-acetyl-L-cysteine and glutathione against free radical-induced lipid peroxidation. **Free radical research**, v. 36, n. 3, p. 329–340, 2002.

SAHN, D. J.; DEMARIA, A.; KISSLO, J. Recommendations Regarding Quantitation in M-Mode Echocardiography: Results of a Survey of Echocardiographic Measurements. **Circulation**, v. 58, n. 6, p. 1072–1083, 1978.

SAM, F. et al. Increased reactive oxygen species production and functional alterations in antioxidant enzymes in human failing myocardium. **Journal of Cardiac Failure**, v. 11, n. 6, p. 473–480, 2005.

SAUL, J. P. et al. Heart-rate and muscle sympathetic-nerve variability during reflex changes of autonomic activity. **American Journal of Physiology**, v. 258, n. 3, p. h713–h721, 1990.

SCHMIDT-OTT, U. M.; ASCHEIM, D. D. Thyroid hormone and heart failure. **Current Heart Failure Reports**, v. 3, n. 3, p. 114–119, 2006.

SCHWARTZ, P. J. 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, p. 969–979, 1988.

SCHWARTZ, P. J.; BILLMAN, G. E.; STONE, H. L. Autonomic mechanisms in ventricular fibrillation induced by myocardial ischemia during exercise in dogs with healed myocardial infarction. An experimental preparation for sudden cardiac death. **Circulation**, v. 69, n. 4, p. 790–800, 1984.

SCHWARTZ, P. J.; DE FERRARI, G. M. Sympathetic–parasympathetic interaction in health and disease: abnormalities and relevance in heart failure. **Heart failure reviews**, v. 16, n. 2, p. 101–107, 2011.

SCHWARTZ, P. J.; LA ROVERE, M. T.; VANOLI, E. Autonomic nervous system and sudden cardiac death. Experimental basis and clinical observations for post-myocardial infarction risk stratification. **Circulation**, v. 85, n. 1, p. I77–I91, 1992.

SCHWEIZER, U.; CHIU, J.; KÖHRLE, J. Peroxides and peroxide-degrading enzymes in the thyroid. **Antioxidants & redox signaling**, v. 10, n. 9, p. 1577–1592, 2008.

SEGERS, V. F. M.; LEE, R. T. Stem-cell therapy for cardiac disease. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 937–942, 2008.

SELYE, H. et al. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. **Angiology**, v. 11, n. 5, p. 398–407, 1960.

SHAH, A. M.; SAUER, H. Transmitting biological information using oxygen: Reactive oxygen species as signalling molecules in cardiovascular pathophysiology. **Cardiovascular Research**, v. 71, n. 2, p. 191–194, 2006.

SHIOMI, T. et al. Overexpression of Glutathione Peroxidase Prevents Left Ventricular Remodeling and Failure after Myocardial Infarction in Mice. **Circulation**, v. 109, n. 4, p. 544–549, 2004.

SIA, Y. T.; LAPOINTE, N.; et al. Beneficial effects of long-term use of the antioxidant probucol in heart failure in the rat. **Circulation**, v. 105, n. 21, p. 2549–2555, 2002.

SIA, Y. T.; PARKER, T. G.; LIU, P.; et al. Improved post-myocardial infarction survival with probucol in rats: Effects on left ventricular function, morphology, cardiac oxidative stress and cytokine expression. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 39, n. 1, p. 148–156, 2002.

SIA, Y. T.; PARKER, T. G.; TSOPORIS, J. N.; et al. Long-term effects of carvedilol on left ventricular function, remodeling, and expression of cardiac cytokines after large myocardial infarction in the rat. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 39, n. 1, p. 73–87, 2002.

SIERVULI, M. T. F. et al. Infarto do miocárdio: alterações morfológicas e breve abordagem da influência do exercício físico. **Rev Bras Cardiol**, v. 27, n. 5, p. 349–355, 2014.

SILVEIRA, R. C.; PROCIANOY, R. S. Ischemic brain damage in very low birth weight preterm newborn infants. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n. 1 suppl. 1, p. S23–S32, 2005.

SIMON, T. et al. Sex differences in the prognosis of congestive heart failure: results from the Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS II). **Circulation**, v. 103, n. 3, p. 375–380, 2001.

SOCHMAN, J. N-acetylcysteine in acute cardiology: 10 years later: What do we know and what would we like to know?! **Journal of the American College of Cardiology**, v. 39, n. 9, p. 1422–1428, 2002.

SOUZA, N. S. et al. Effects of autonomic balance and fluid and electrolyte changes on cardiac function in infarcted rats: A serial study of sexual dimorphism. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 43, n. 4, p. 476–483, 2016.

SPADARO, J. et al. Characterization of myocardial infarcts in the rat. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 104, n. 4, p. 179–183, 1980.

STEIN, P. K. et al. Heart rate variability: autonomic tone A measure of cardiac. **American heart journal**, v. 127, n. 5, p. 1376–1381, 1994.

SUN, Y. et al. Infarct scar as living tissue. **Basic research in cardiology**, v. 97, n. 5, p. 343–347, 2002.

SUTTON, M. G. S. J.; SHARPE, N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction. **Circulation**, v. 101, n. 25, p. 2981–2988, 2000.

SWYNGHEDAUW, B. Molecular Mechanisms of Myocardial Remodeling. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 1, p. 215–262, 1999.

TAMURA, T.; SAID, S.; GERDES, A. M. Gender-related differences in myocyte remodeling in progression to heart failure. **Hypertension**, v. 33, n. 2, p. 676–680, 1999.

TANAKA, N. et al. Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. **Circulation**, v. 94, n. 5, p. 1109–1117, 1996.

THAYER, J. F.; YAMAMOTO, S. S.; BROSSCHOT, J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. **International journal of cardiology**, v. 141, n. 2, p. 122–131, 2010.

TRINDADE, D. C. et al. Role of renin-angiotensin system in development of heart failure induced by myocardial infarction in rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, p. 251-259, 2007.

TSUJI, H. et al. Impact of reduced heart rate variability on risk for cardiac events. The Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 94, n. 11, p. 2850–2855, 1996.

VALENTINI, M.; PARATI, G. Variables influencing heart rate. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 52, n. 1, p. 11–19, 2009.

VALGIMIGLI, M. et al. Hydroxyl radical generation, levels of tumor necrosis factor- α , and progression to heart failure after acute myocardial infarction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 43, n. 11, p. 2000–2008, 2004.

VALKO, M. et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 266, n. 1–2, p. 37–56, 2004.

VANOLI, E. et al. Vagal stimulation and prevention of sudden death in conscious dogs with a healed myocardial infarction. **Circulation research**, v. 68, n. 5, p. 1471–1481, 1991.

VASAN, R. S. et al. Congestive heart failure in subjects with normal versus reduced left ventricular ejection fraction: prevalence and mortality in a population-based cohort. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 33, n. 7, p. 1948–1955, 1999.

WALLEN, W. J. et al. Gender-differences in myocardial adaptation to afterload in normotensive and hypertensive rats. **Hypertension**, v. 36, n. 5, p. 774–9, 2000.

WARREN, S. E. et al. Time course of left ventricular dilation after myocardial infarction: influence of infarct-related artery and success of coronary thrombolysis. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 11, n. 1, p. 12–19, 1988.

WHO, World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) fact sheet. Sep 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>> Acesso em 18 de janeiro de 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. **Journal of hypertension**, v. 21, n. 11, p. 1983–1992, 2003.

YOSHIYAMA, M. et al. Effects of cellular cardiomyoplasty on ventricular remodeling assessed by Doppler echocardiography and topographic immunohistochemistry. **Circulation Journal**, v. 68, n. 6, p. 580–586, 2004.

YU, X. J. et al. Interaction between AT1 receptor and NF- κ B in hypothalamic paraventricular nucleus contributes to oxidative stress and sympathoexcitation by modulating neurotransmitters in heart failure. **Cardiovascular toxicology**, v. 13, n. 4, p. 381–390, 2013.

YUSUF, S. et al. Beta blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomised trials. **Progress in Cardiovascular Disease**, v. 27, n. 5, p. 335–371, 1985.

ZAINO, E. C.; TABOR, S. H. Cardiac hypertrophy in acute myocardial infarction. **Circulation**, v. 28, n. 6, p. 1081–1083, 1963.

ZANZINGER, J.; CZACHURSKI, J. Chronic oxidative stress in the RVLM modulates sympathetic control of circulation in pigs. **Pflügers Archiv European Journal of Physiology**, v. 439, n. 4, p. 489–494, 2000.

ZHAO, W. et al. Cardiac oxidative stress and remodeling following infarction: role of NADPH oxidase. **Cardiovascular pathology: the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology**, v. 18, n. 3, p. 156–66, 2009.

ZHAO, W. et al. Temporal and spatial characteristics of apoptosis in the infarcted rat heart. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 325, n. 2, p. 605–611, 2004.

ZORNOFF, L. A. M.; PAIVA, S. A. R. DE; DUARTE, D. R.; et al. Remodelação ventricular postinfarto de miocárdio: conceitos e implicações clínicas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, n. 2, p. 134–143, 2008.

ZORNOFF, L. A. M.; PAIVA, S. A. R. DE; MINICUCCI, M. F.; et al. Infarto do miocárdio experimental em ratos: análise do modelo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, p. 434–440, 2009.

ZUCKER, I. H. et al. Regulation of central angiotensin type 1 receptors and sympathetic outflow in heart failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 297, n. 5, p. H1557–H1566, 2009.