

Descrição de um protocolo experimental para estudos cardiofisiológicos em camundongos

Description of a preparing and application electrode method for cardiophysiological studies in mice

Sarah Soares de Castro

Acadêmica do curso de graduação em Engenharia Biomédica
– Faculdade de Engenharia Elétrica – Universidade Federal de
Uberlândia. FEELT/UFU.
Uberlândia – MG [Brasil]
sarah_ufu@hotmail.com

Laise Oliveira Resende

Mestranda em Engenharia Biomédica – Faculdade de
Engenharia Elétrica – Universidade Federal de Uberlândia.
FEELT/UFU.
Uberlândia – MG [Brasil]
laiseresende@yahoo.com.br

Márcia Artiaga Colantoni

Acadêmica do curso de graduação em Engenharia Biomédica
– Faculdade de Engenharia Elétrica – Universidade Federal de
Uberlândia. FEELT/UFU.
Uberlândia – MG [Brasil]
marcia_colantoni@yahoo.com.br

Lívia Alves Martins

Acadêmica do curso de graduação em Fisioterapia – Faculdade
de Medicina – Universidade Federal
do Triângulo Mineiro. UFTM.
Uberaba – MG [Brasil]
livia_martins@msn.com

Aldo Rogelis Aquiles Rodrigues

Professor da Faculdade de Medicina – Universidade Federal do
Triângulo Mineiro. UFTM.
Uberaba – MG [Brasil]
aldo@dcb.uftm.edu.br

Valdo José Dias

Professor da Faculdade de Medicina – Universidade Federal do
Triângulo Mineiro. UFTM.
Uberaba – MG [Brasil]
valdo@mednet.com.br

João Batista Destro Filho

Professor da Faculdade de Engenharia Elétrica – Universidade
Federal de Uberlândia. FEELT/UFU.
Uberlândia – MG [Brasil]
jbdestrof@yahoo.com

O objetivo do artigo é descrever uma metodologia de preparo e aplicação de eletrodos no estudo cardiofisiológico em camundongos, visando relacionar os resultados obtidos por meio desses experimentos com os seres humanos por meio de fisiologia comparada. O estudo consistiu no monitoramento do estado cardiofisiológico de um camundongo, utilizando um eletrocardiógrafo durante a administração intravenosa subanestésica de quetamina. O resultado final foi obtido por análise espectral que possibilitou a visualização das mudanças ocorridas na atividade cardíaca do animal após injeção da droga. Com a análise dos resultados, a partir da redução de duração dos intervalos R-R (iRRs) e queda acentuada da componente de baixa frequência (LF) do sinal, foi observado um aumento da frequência cardíaca após pré-tratamento de atropina e posterior administração de quetamina.

Palavras-chave: Atropina. Camundongos. Eletrocardiograma. Quetamina.

This paper describes a preparing and application electrode method for cardiophysiological study performed in mice in order to relate the results obtained with these experiments to humans by means of comparative physiology. The study consisted of monitoring the state of mouse cardiophysiological parameters using an electrocardiograph during intravenous administration of subanesthetic ketamine. The final result was obtained by spectral analysis which outlined changes in cardiac activity of the animal after the drug injection, leading to the reduction of RR-interval duration and to the sharp fall in the low frequency (LF) component signal. This result points out that there was an increase in heart rate after pretreatment of atropine and subsequent administration of ketamine.

Key words: Atropine. Electrocardiogram. Ketamine. Mouse.

1 Introdução

Historicamente, uma parte considerável das pesquisas cardiovasculares foi realizada em animais de laboratório. Um grande número de modelos animais foi desenvolvido para imitar as enfermidades humanas e, assim, investigar os processos fisiopatológicos envolvidos. Frente a isso, é importante destacar que os camundongos são os vertebrados mais utilizados nas pesquisas científicas devido ao fato dos genomas de humanos e camundongos serem semelhantes. As duas espécies possuem 30 mil genes, dos quais apenas 300 são exclusivos de uma e de outra. Além disso, milhões de animais ainda são usados para a busca da cura de doenças e o desenvolvimento de novos produtos, vacinas, medicamentos ou cosméticos, nos quais os resultados possam ser aplicados em humanos, conforme Chorilli et al. (2007).

Em razão dessas características, o estudo cardiofisiológico em camundongos permite o acompanhamento de todas as etapas do processo que envolve o registro eletrocardiográfico, desde a preparação cirúrgica do animal até a análise dos dados obtidos com esse registro. Após este último registro, deve-se corrigi-lo para se fazer uma avaliação de seu tempo e frequência, que retornará dados estatísticos de extrema importância para comparação fisiológica.

No protocolo em questão, são analisados os possíveis efeitos do uso da quetamina, que é “[...] um fármaco capaz de dissociar o córtex cerebral, causando analgesia e ‘desligamento’, sem perda, porém, dos reflexos protetores [...]” (HATSCHBACH et al., 2005, p. 537).

A quetamina é largamente utilizada, em vários animais e em doses variadas, por sua ação anestésico-analgésica, e como sugerem Thurmon et al. (1996, p.183-209)

[...] a quetamina não deve ser aplicada como agente anestésico isolado, pois, apesar de possuir uma baixa analgesia visceral, possui uma boa analgesia somática e causa uma ação cataleptóide sugerindo a associação com outros produtos que antagonizem seus efeitos estimulantes simpáticos.

Dessa forma, empregando-se a quetamina juntamente com o midazolam ou diazepam e até mesmo o propranolol, são feitas manipulações seguras e duradouras, sem alterar os parâmetros fisiológicos da cobaia.

No entanto, no protocolo atual analisam-se apenas os efeitos de doses subanestésicas da quetamina no Sistema Nervoso Autônomo (SNA), que, além de pouco conhecidos, diferem dos efeitos da dose anestésica, segundo Dias et al. (2008).

Como a administração da quetamina durante o registro de Eletrocardiograma (ECG) pode trazer algumas reações colaterais indesejáveis, como “bradicardia e hipotensão, além de algumas arritmias nodais com aumento do tônus vagal em animais” (BLOOR et al., 1992, p. 690-697). Sheinin et al. (1987) recomendam a administração de pré-tratamento de atropina, que pode reverter os efeitos adversos causados anteriormente. A atropina pode ser injetada por via intramuscular ou intravenosa quando se requer uma ação mais rápida e de efeito fugaz, recomendando-se não utilizar doses muito elevadas por não possuir antagonista, de acordo com Massone (2003).

Para fazer a análise de resultados, o sinal captado pelo ECG é trabalhado computacionalmente a fim de obter a duração de cada iRR. Um esquema do sinal proveniente do ECG é mostrado na Figura 1, bem como a marcação dos iRRs, em que cada um deles corresponde a um batimento cardíaco. O traçado do sinal ECG é basicamente o mesmo para qualquer mamífero saudável.

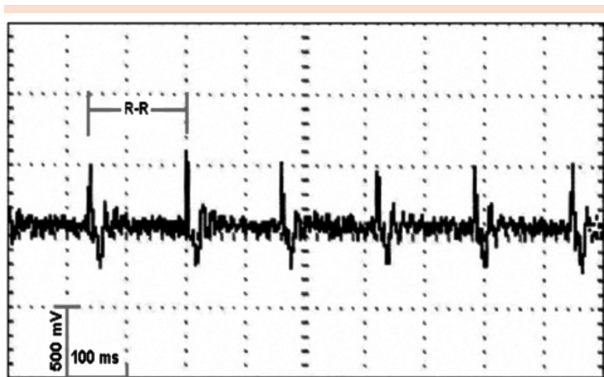


Figura 1: Sinal ECG e Intervalo R-R

Fonte: Colugnat et al. (2005).

No estudo apresentado neste artigo, com análise dos dados gerados, objetiva-se comprovar que doses subanestésicas de quetamina podem interferir no controle do SNA sobre os batimentos cardíacos. Assim, ao contrário do que é mostrado na literatura sobre os efeitos da quetamina, doses subanestésicas desse medicamento provocam um aumento da frequência cardíaca, observado pela redução de duração dos iRRs.

2 Materiais e métodos

Os animais utilizados no experimento foram camundongos em razão de sua semelhança fisiológica com os humanos e por serem prolíficos, ou seja, o fato de se reproduzirem em grande número influencia no fator econômico pelo baixo custo, além disso, destaca-se a facilidade de manuseio por seu pequeno porte.

O procedimento realizado está descrito, a seguir, e foi oficialmente aprovado pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

2.1 Montagem dos eletrodos

O eletrodo implantado subcutaneamente no camundongo promove a coleta de seu sinal eletrocardiográfico. Primeiramente, os dentes que for-

mam os eletrodos são cortados a cada três pontas. A seguir, cortam-se três tiras de fio isolado por poliestileno, com tamanhos diferentes entre si e desencapados nas pontas, para fazer a adesão das pontas em cada terminal do eletrodo. Para tanto, utilizam-se ferro de solda e pasta de solda, cuja função é facilitar a adesão dos dois metais. Os fios, do maior para o menor, são conectados aos terminais do eletrodo, conforme Figura 2.

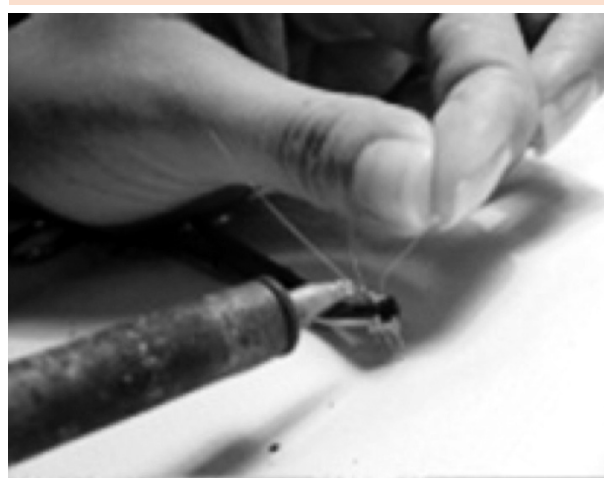


Figura 2: Montagem de um eletrodo

Fonte: Os autores.

Verifica-se o bom funcionamento do eletrodo, conectando seus terminais aos de um multímetro. Para isolar o encaixe dos terminais com os fios, colocam-se três gomas de borracha vedadas pelo calor do ferro de solda. Normalmente, são feitos dez eletrodos por vez.

2.2 Montagem das cânulas de extensão e/ou conectora e de difusão

Cânulas de extensão (ou conectoras) são utilizadas nas cânulas de difusão, as quais são inseridas por meio cirúrgico no camundongo para injeção de drogas durante o registro eletrocardiográfico.

As cânulas são montadas a partir de pequenos tubos dispostos em rolos. Para a cânula de ex-

tensão, cortam-se três tubos. Um com capacidade volumétrica de 37 μ l e 30 cm de comprimento, no qual será inserido um fio de comprimento maior, para evitar colabação. Outro tubo, de pequeno comprimento e de diâmetro maior que o anterior, será encaixado em uma das pontas da cânula (onde será injetada a droga). Por último, um terceiro tubo de diâmetro menor do que os outros dois anteriores será conectado a outra ponta, em que será acoplado com a cânula de difusão, como mostra a Figura 3.

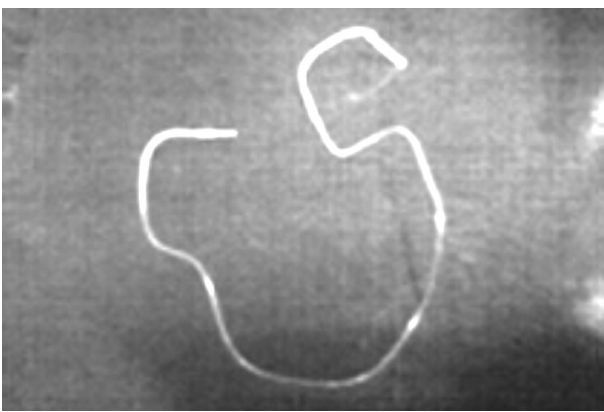


Figura 3: Cânula de extensão

Fonte: Os autores.

Para a cânula de difusão, corta-se em torno de oito centímetros do tubo, curvando-se uma das pontas com o calor do ferro de solda, como apresentado na Figura 4.



Figura 4: Cânula de difusão

Fonte: Os autores.

Na preparação dos dois tipos de cânulas, é necessário cuidado na hora de utilizar o ferro de solda para que não ocorra colabação das paredes do tubo, ocluindo o fio e inviabilizando seu uso.

2.3 Preparação das soluções

Prepara-se solução de quetamina (10 mg/kg) em dose subanestésica que será administrada no camundongo durante o ECG. Também há a preparação de atropina (1 mg/kg), que é administrada no animal durante o registro. Para preparação das drogas, elas devem ser diluídas em soro fisiológico, mas em quantidades de soluto maior que o necessário, mantendo-se a concentração necessária entre soluto e solvente, dada a dificuldade em preparar drogas com baixíssimas quantidades de solvente.

Normalmente, “[...] a quetamina causa bradicardia e a atropina é um bloqueador do sistema parassimpático e causa taquicardia [...]” (HAN, 2002, p. 283).

2.4 Procedimentos cirúrgicos

Na preparação do camundongo para realizar os registros em que as drogas serão administradas, o animal mais calmo é preferível em detrimento dos demais para que a aplicação da anestesia seja prática e seu efeito mais rápido. Em seguida, prepara-se a mesa para a cirurgia bem como o camundongo, que, após a aplicação do anestésico, é imobilizado numa pequena mesa, na qual será realizada a tricotomia da região a ser operada (Figura 5).

O corte é feito na região da veia jugular (lado direito), para localizar e isolar essa veia e, após uma pequena incisão, realizada com o auxílio do microscópio, insere-se nela a cânula de difusão, a qual é transpassada pela região torácica do animal com o auxílio de um trocáter até chegar à região posterior para que o camundongo não a roa. Em seguida, o corte na região da veia jugular é suturado, o eletrodo é colocado em seu dorso com cada terminal inserido sob sua pele. Finalmente, ele é



Figura 5: Preparação do camundongo para a cirurgia de implantação do eletrodo e da cânula de difusão

Fonte: Os autores.

colocado em um pequeno viveiro, sob uma lâmpada incandescente para aquecimento, ficando em observação durante dois dias.

Somente os animais que estejam calmos na fase de escolha de camundongos para procedimento cirúrgico são utilizados a fim de garantir um bom efeito do anestésico aplicado. Outro fator importante é a idade das cobaias. Os limites de idade são de dois a quatro meses de vida. Além disso, os animais utilizados devem ser necessariamente machos para não haver interferência do ciclo hormonal na análise dos efeitos das drogas administradas. Já as fêmeas são usadas apenas para treinamento cirúrgico e para reprodução.

2.5 Registro

Dois registros são realizados para controle das condições basais e pós-administração endovenosa de drogas que alteram o controle neural autonômico cardíaco. Entretanto, somente o segundo é processado computacionalmente.

São realizados dois registros com preparação semelhante, mudando-se unicamente o tempo de administração das drogas. O primeiro registro é realizado 24 horas após a cirurgia. Primeiramente, encaixa-se a cânula de extensão (ou conectora) na

de difusão, inserida no camundongo cirurgicamente. Logo após, coloca-se o animal na gaiola de Faraday e conecta-se o cabo do aparelho que irá medir o ECG no eletrodo inserido por meio cirúrgico (Figura 6). Ativa-se o programa CyberControl para escaneamento dos canais. Prepara-se o canal em que será medido o ECG, no *software* Windaq, e inicia-se o programa, ajustando-o até o início da leitura. Prepara-se a droga que será administrada (40 µl de quetamina) em 260µl de soro fisiológico. Inicia-se a contagem de tempo para a medição do sinal ECG, e após 10 minutos, injeta-se 30µl da solução preparada pela cânula conectora. Em seguida, injeta-se 40µl de solução salina para lavagem. O tempo de duração total do ECG é 40 minutos.

No segundo registro (realizado após 48 horas do procedimento cirúrgico), é injetado atropina e, posteriormente, quetamina.



Figura 6: Gaiola de Faraday, amplificador e conversor de sinal analógico/digital utilizados na captação do ECG do animal

Fonte: Os autores.

Durante o registro, caso haja algum problema no fio que é conectado ao eletrodo, sua qualidade pode ser afetada. Também é preciso que o animal esteja calmo e quieto para não haver inter-

ferências e ruídos no registro, dificultando assim, a visualização das ondas eletrocardiográficas.

Por essa razão, o ambiente no qual se faz o registro tem de ser silencioso, sendo mais indicado realizar o procedimento durante o período matutino, visto que o camundongo é um animal de hábitos noturnos e, conseqüentemente, no período da manhã estará cansado e mais propenso a dormir.

2.6 Correção do registro

Após a realização do registro, para se trabalhar computacionalmente com ele, no próprio *software* é feita sua cópia. Assim, o original fica armazenado no canal 1 do programa, enquanto a cópia pode ser armazenada em qualquer outro canal disponível (2, 3, 4... 100...), uma vez que esses canais podem ser infinitos. A partir da cópia do arquivo, é feita a marcação das ondas R (picos) ou das ondas S (vales).

Entretanto, o *software* não é totalmente eficaz para marcação automática de ondas, sendo preciso fazer correções manuais nos picos e/ou vales marcados pelo programa, inserindo ou apagando marcações que forem necessárias. Dependendo da qualidade do registro, por exemplo, se o sinal captado estiver muito ruidoso, torna-se impossível a identificação da onda R, inviabilizando sua análise.

A detecção automática dos picos da onda R é realizada para o cálculo das durações dos intervalos R-R, obtendo-se assim uma série temporal de intervalos R-R para a análise espectral dessa, ou seja, aplicação da Transformada discreta de Fourier.

A localização da onda R é obtida por meio da detecção do complexo QRS. O algoritmo que realiza essa detecção é baseado no trabalho desenvolvido por Hamilton (2002), resultante da combinação de estágios de filtragem do sinal com regras heurísticas para identificar esse complexo, conforme mostra a Figura 7.

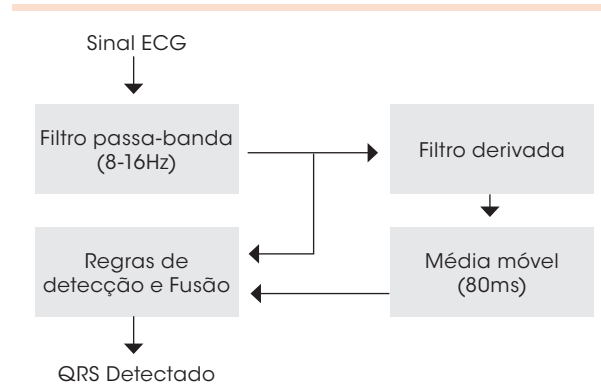


Figura 7: Diagrama de blocos da detecção de QRS

Fonte: Os autores.

O filtro passa-faixa é devidamente construído para eliminar as frequências que não compõem o complexo QRS. Já o filtro derivada é usado para atenuar mudanças lentas no sinal, reforçando assim as componentes de mais alta frequência, as quais estão normalmente presentes no complexo QRS. De outro lado, o cálculo da média móvel busca construir uma envoltória do sinal processado, facilitando a localização do QRS.

A detecção do pico do complexo QRS (onda R) acontece logo em seguida aos estágios de filtragem. Cada pico detectado define um batimento. O algoritmo de detecção, por meio da derivada do sinal, procura o pico dominante dentro de um raio temporal de 200 ms. Essa abordagem elimina múltiplas detecções de picos na vizinhança.

Como pós-processamento, são implementadas cinco regras de detecção (ZAGO; AMIGO; ANDREÃO, 2009), a saber: (i) quando ocorrer a detecção de um pico, verificar as condições do sinal ECG, caso o sinal não contenha declives positivos e negativos o pico deve ser eliminado; (ii) qualquer pico que ocorra no intervalo de 360 ms e tenha amplitude menor que a metade do último pico detectado é considerado uma onda T; (iii) se o pico é maior que um determinado limiar, considera-se o pico um QRS; (iv) se um pico não ocorrer em 1,5 R-R (R-R é média do tempo do intervalo

entre duas ondas R consecutivas, considerando as últimas oito ondas R detectadas) o limiar (calculado como a média dos últimos oito QRS detectados e multiplicado por um fator de 0,34) deve ser reduzido pela metade. Assim, após busca retroativa, o pico que estiver acima do limiar deve ser considerado QRS; (v) as regras de detecção de (i) a (iv) são aplicadas novamente para o sinal filtrado passa-banda somente. Os resultados das duas detecções são combinados, e apenas os picos detectados simultaneamente são considerados válidos. Esta última regra foi originalmente implementada neste trabalho, o que reduziu de maneira sensível o número de falsos positivos.

2.7 Análise espectral

O objetivo na análise espectral é detectar a variabilidade do sinal captado bem como determinar parâmetros relevantes para as seguintes análises: médias dos valores de iRR, variância, *Very Low Frequency* (VLF), *Low Frequency* (LF) e *High Frequency* (HF), a serem explicadas, a seguir.

Após a correção do registro utilizando-se o *software* Windaq, exporta-se a duração de cada iRR para o programa *Excel*, da Microsoft, e gera-se uma planilha contendo a duração de cada intervalo em segundos.

O *software* utilizado para a análise espectral é o LA24, sendo necessário converter o formato do arquivo que contém a planilha do *Excel* para o desse programa. Para isso, salva-se a planilha no *Excel* no formato "*.txt" e, posteriormente, utiliza-se o *software* UTIL para converter do formato ASCII para o LA, e enfim converter de LA para LA24. Essa conversão apresentará a planilha de dados do eletrocardiograma na extensão "t24.PRE" a partir do qual faz-se a análise de tempo e frequência.

Em seguida, abre-se o *software* LA24.EXE, que é acessado em ambiente DOS e possui diferentes métodos de análise espectral, a saber: "Análise

Espectral a partir de Séries de Fourier, Análise Espectral Autorregressiva, Análise Espectral Autorregressiva de Bivariáveis e por último, Análise de Tempo-Frequência" (TIKKANEN, 1999, p. 40).

O sinal básico a ser analisado compõe-se da sequência de intervalos R-R, medida em milissegundos. Inicialmente, constrói-se um histograma das amplitudes de duração dos intervalos R-R, a partir do qual se estima a média e a variância. Esta última descreve um conjunto de observações que, nesse caso, caracterizam os níveis de frequência cardíaca: se são muito baixos, altos, ou normais. Assim, tem-se que variância baixa caracteriza taquicardia; alta, bradicardia; e nula (ou insignificante), frequência cardíaca normal, como definidos por Tikkanen (1999, p. 37).

Em seguida, implementa-se a análise espectral da mesma sequência de intervalos R-R, baseada no conceito de densidade espectral de potência, explicado logo a seguir. Para tanto, faz-se necessário entender o significado da Análise por Séries de Fourier.

A Análise por Séries de Fourier consiste em decompor o sinal em senoides e cossenoides de modo a explicitar a frequência de maior variância presente no sinal. Um espectro consiste em mudar o eixo de análise do sinal, anteriormente no eixo do tempo, para o eixo da frequência, de modo a apresentar no eixo "Y", a Densidade Espectral de Potência, e no "X", a Frequência.

Já a Densidade Espectral de Potência é definida pela "[...] transformada de Fourier da função de autocorrelação de um processo estacionário [...]" (HAMPRECHT et al., 2001, p. 287-296), ou seja, descreve a distribuição da potência de um processo aleatório no domínio da frequência. Ao ser aplicada nos valores de iRR, obtêm-se informações sobre a frequência cardíaca. A seguir, são listadas as fórmulas (1) e (2) para o seu cálculo (HAMPRECHT et al., 2001):

$$R_x(Z) = \frac{1}{N-Z} \sum_{j=0}^{N-Z} x(j) \cdot x(j+Z); Z = 0,1,2, \dots, \infty \quad (1)$$

$$S_x(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} R_x(Z) e^{-j\omega Z} dZ \quad (2)$$

Em que:

$R_x(Z)$ = Autocorrelação da sequência de iRR;

$x(j)$ = j -ésimo iRR [ms];

N = Quantidade total de ciclos cardíacos presentes no ECG registrado;

ω = Frequência angular [rad/s];

$S_x(\omega)$ = Densidade espectral de potência da sequência de iRRs.

A partir do cálculo da densidade espectral de potência da sequência de intervalos R-R, devido ao fato do experimento envolver camundongos, separa-se o eixo de frequência nas seguintes bandas: VLH, menor que 0,1 Hz; LF, entre 0,1 Hz e 1 Hz; e HF, de 1 Hz a 5 Hz.

As componentes VLF, LF e HF são os sinais decompostos pela Série de Fourier que representam a normalidade do sinal. A falta ou a diminuição dessas componentes indicam um aumento na frequência do sinal analisado. Nos resultados finais, tem-se gráficos de espectros de iRR, Variância, VLF, LF e HF para cada uma das três atividades, além de um espectro da frequência cardíaca total do eletrocardiograma completo (JUNQUEIRA; SILVA; BARBONI, 1996).

A grande quantidade de passos para converter o arquivo bem como a manipulação de dados até obter-se o resultado final pode gerar muitos erros. Esses dados são gerados em um arquivo “*.rep” que é aberto no *Excel* e tem seus dados copiados para uma planilha com o nome de espectrotaco (molde que devolve os valores médios de cada dado fornecido pela análise). A partir dos valores de iRR calcula-se na planilha do *Excel*

a variância da frequência dos iRRs, médias das componentes VLF, LF, HF, de todo o registro, por meio da ferramenta “funções” disponível nesse programa. Esses dados serão novamente exportados para uma tabela em um *software* denominado *Origin*, no qual serão analisados todos os valores de todos os animais (média e variância do banco de dados), passos sugeridos por Tikkanen (1999, p. 65). As ferramentas utilizadas neste *software* são basicamente de construção gráfica de modo a possibilitar a melhor visualização dos dados processados no *Excel*.

Contudo, a maior dificuldade encontrada nessa forma de análise espectral é a presença de ruídos que aparecem em qualquer faixa de frequência, prejudicando a precisão do resultado final.

2.8 Características gerais do ECG de camundongos

Einthoven desenvolveu o ECG há 100 anos e a técnica continua a ter grande utilidade na identificação de cardiopatias, por ser simples e não invasiva com ampla aplicabilidade experimental, de acordo com Dubin (1996). A interpretação do ECG permanece muito empírica e é importante estabelecer o mecanismo relacionado entre o processo celular e o ECG. Em condições fisiológicas normais, “[...] a heterogeneidade do potencial de ação no miocárdio e sua correspondente corrente iônica determinam as ondas ou deflexões do ECG na despolarização e na repolarização [...]” (GIMA; RUDY, 2002, p. 889-896). Ratos e camundongos têm sido bons modelos para estudo do processo de remodelamento de alguns aspectos fisiopatológicos de insuficiência cardíaca, segundo Chorilli et al. (2007).

Os valores dos componentes do ECG em camundongos normais diferem principalmente na voltagem e na duração dos seus eventos. O ECG normal desses animais assemelha-se ao do homem com exceção das variáveis temporais. Entretanto,

certas diferenças importantes necessitam ser apontadas. As deflexões P, Q, R, S e T são semelhantes aos dois; porém, nos camundongos, o segmento ST é ausente e a onda T, normalmente positiva, acompanha em direção contínua a onda S. Em condições normais a onda Q é ausente ou rudimentar em D1 e ocasionalmente uma onda Q é vista em aVL. A onda R está presente em todas as derivações e S é observada em quase todas, conforme explicado por Rosen (2002).

O ECG em camundongos pode ser amplamente estudado pela facilidade em obter-se uma população homogênea seja em condições normais ou em patologias experimentais. A orientação anatômica do coração situa-se na “[...] direção ântero-posterior, da direita para a esquerda; a orientação do vetor médio do eixo elétrico do QRS no plano frontal varia de 30 a 60 graus [...]” (CHORILLI et al., 2007, p. 11-23). A diferença na massa ventricular de Ventrículo Esquerdo (VE) e Ventrículo Direito (VD) e a posição do coração em camundongos normais são responsáveis pela orientação espacial do QRS no plano frontal. Sambhi e White (1959) afirmam que o peso corporal também pode interferir na orientação espacial do complexo QRS, tanto no plano horizontal como no frontal.

2.9 Relação do SNA e aspectos cardiológicos

O Sistema Nervoso Simpático produz reações fisiológicas generalizadas para preparar a pessoa para “fugir” ou “lutar”, aumentando a frequência cardíaca e a pressão arterial, bem como o suprimento de sangue ao cérebro, músculos e coração, além de promover a vasoconstrição dos vasos sanguíneos (JUNQUEIRA; SILVA; BARBONI, 1996). Em contrapartida, o Sistema Nervoso Parassimpático produz efeitos localizados, em determinados órgãos, como a diminuição da frequência cardíaca. Esse sistema equilibra os

efeitos do Sistema Nervoso Simpático, mantendo o equilíbrio corporal, conforme Tabela 1, com características retiradas de Guyton et al. (1997).

Tabela 1: Efeitos simpáticos e parassimpáticos relacionados ao sistema cardiovascular

Estrutura	Efeitos Simpáticos	Efeitos Parassimpáticos
Sistema circulatório, frequência e força do batimento cardíaco	Aumentadas (taquicardia)	Diminuídas (bradicardia)
Vasos sanguíneos no músculo cardíaco	Dilatados	Contraídos
Pressão arterial	Aumentada	Diminuída

Fonte: Os autores.

3 Resultados e discussões

O eletrodo finalizado é mostrado na Figura 8.

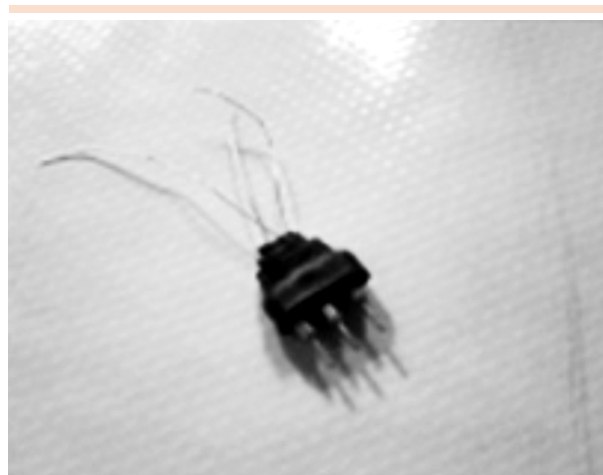


Figura 8: Eletrodo finalizado

Fonte: Os autores.

Todas as vezes que se conectam os fios ao eletrodo, é necessário verificar se ficaram bem encaixados. Isso se faz puxando cada fio separadamente; se uma tira se soltar – o que ocorre em 90% das ocasiões – é necessário conectá-la novamente.

A cânula de difusão final é mostrada na Figura 9.



Figura 9: Cânula de difusão final

Fonte: Os autores.

A seguir, na Figura 10, apresenta-se a cânula de difusão ligada à cânula conectora e à seringa.



Figura 10: Cânula de difusão e cânula conectora acopladas à seringa

Fonte: Os autores.

A partir dos números obtidos com a análise espectral de tempo e frequência, e posterior manipulação dos dados no *Excel*, é possível analisar os resultados de forma a visualizar possíveis valores de cada variável.

Analisando as alterações quanto à frequência cardíaca, pode-se observar que a administração endovenosa de quetamina em dose subanestésica (10 mg/kg), após o pré-tratamento com atropina, aumentou a frequência cardíaca.

Na Figura 11, observa-se a diminuição no valor da variância após a injeção de atropina, o que já era esperado visto que a atropina impede a ação inibitória do nervo vago sobre o coração. No entanto, após a injeção de quetamina, nota-se uma diminuição mais acentuada no valor da variância, ou seja, um aumento significativo na frequência cardíaca (taquicardia).

Esse resultado contraria o esperado, pois a quetamina é utilizada em conjunto com outras substâncias como droga anestésica; portanto, deveria diminuir a frequência cardíaca, conforme Hatschbach *et al.* (2005), de modo que, combinada sua ação com a da atropina, a frequência cardíaca tornar-se-ia normal, ou seja, o valor da variância ao administrar quetamina deveria ser próximo ao da variância no nível basal.

A Figura 12 expressa os níveis da componente LF que diminuem após a injeção de atropina, e tornam-se ainda menores após a injeção de atropina. Na Figura 13, constata-se o mesmo resultado para a componente HF.

Dias *et al.* (2008) afirma que a análise dos dados obtidos no modelo experimental sugere que a quetamina, em doses subanestésicas, tenha um efeito taquicárdico dependente do aumento da atividade modulatória do SNA Simpático, devido a reações similares àquelas da atropina.

Infelizmente, não se pode afirmar uma tendência de valores a cada variável em razão dos resultados apresentados nas Figuras 11 até 13 apresentarem uma grande incerteza.

A intenção do estudo de Dias *et al.* (2008) é construir um banco de dados de vários animais, e analisar os dados obtidos nesse modelo experimental para outros tipos de droga (por exemplo,

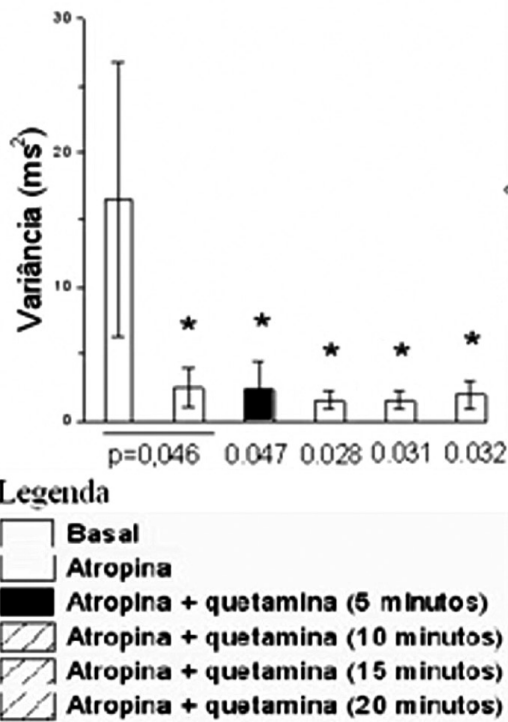


Figura 11: Redução da duração dos iRRs após a administração da atropina e quetamina
Fonte: Os autores.

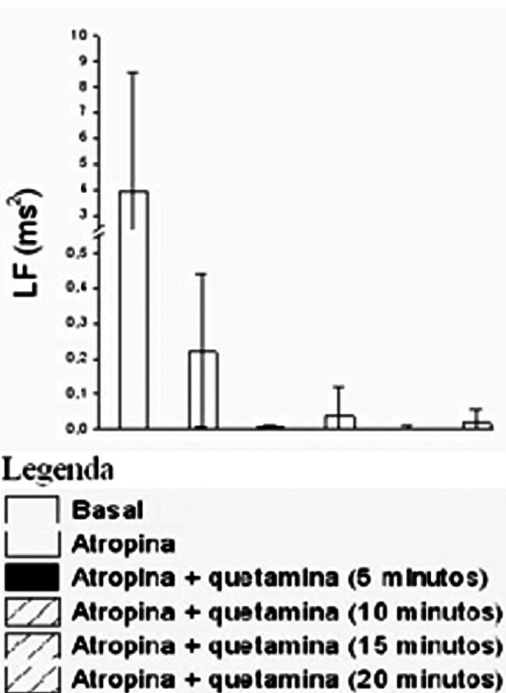


Figura 12: Redução da componente LF após a administração da atropina e da quetamina
Fonte: Os autores.

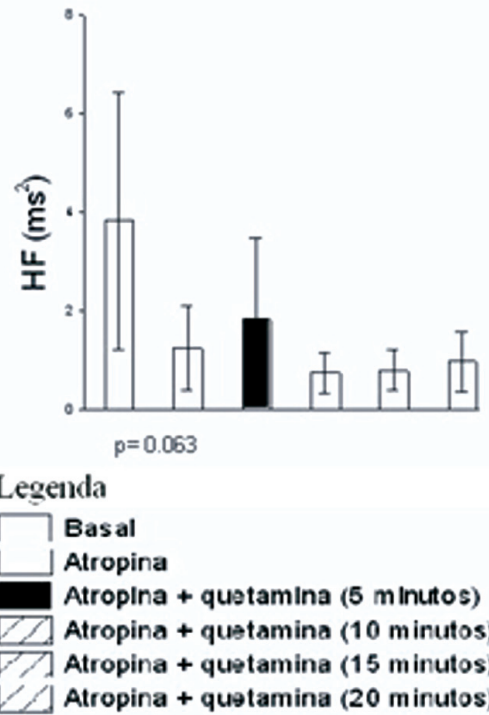


Figura 13: Redução da componente HF após administração da atropina e da quetamina
Fonte: Os autores.

o propranolol) que permitam descobrir se o efeito da quetamina, acelerando o ritmo cardíaco, depende do aumento da atividade modulatória do sistema nervoso autônomo simpático. Os resultados atuais demonstram que a administração de doses subanestésicas de quetamina combinada com um pré-tratamento de atropina, tenha efeito taquicárdico no controle autônomo cardíaco de camundongos. Isso contraria o que é exposto na literatura de Massone (2003) em que a quetamina é uma substância usada apenas para fins anestésicos, ou seja, com o objetivo de diminuir a frequência cardíaca.

4 Conclusão

O desenvolvimento deste protocolo possibilitou a avaliação de características diferentes daquelas habituais do fármaco quetamina, muito

utilizado com outras drogas (por exemplo, a xilazina) como anestésico. Uma dosagem pequena (subanestésica) da quetamina levou a reações contrárias às observadas no uso de ansiolítico.

A partir desses resultados, será feito um estudo comparativo do comportamento cardiofisiológico entre humanos e camundongos. Como sequência deste estudo, a atropina será substituída por propranolol –fármaco anti-hipertensivo indicado para o tratamento e prevenção do infarto do miocárdio, da angina e de arritmias cardíacas –, no intuito de verificar qual a atuação da quetamina em dose subanestésica.

Sabe-se que

O propranolol é um protótipo de betabloqueadores inespecíficos, ou seja, diminui o efluxo simpático (trata-se da propagação de sinal fora da cavidade nervosa, via neurotransmissores) por antagonizar a ação das catecolaminas nos receptores beta no sistema nervoso central e na periferia. (TAVARES; PLAVNIK, 1998, p. 93).

E, dessa forma, esse fármaco poderá interferir na ação da quetamina se essa estiver atuando sobre o sistema nervoso autônomo simpático.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos integrantes do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e ao órgão responsável pelo financiamento de bolsas, Programa Institucional de Bolsas de Graduação da Universidade Federal de Uberlândia (PIBEG/UFU).

Referências

- BLOOR, B. C. et al. Hemodynamic and sedative effects of dexmedetomidina in dog. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*, Bethesda, MD, v. 263, p. 690-697, 1992.
- CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, Karachi, Pasquitão, v. 28, n.1, p. 11-23, 2007.
- COLUGNAT, D. B. et al. Avaliação de parâmetros cardíacos em animais com epilepsia: possível causa de morte súbita, 2005. *Arquivos de Neuropsiquiatria*. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-282X2005000600023&script=sci_arttext>. Acesso em: 27 mar. 2010.
- DIAS, C. M.; MARTINS, L. A.; DIAS, V. J.; RODRIGUES, A. R. Análise do efeito da quetamina sobre o controle neural autônomo cardíaco. Resumo publicado na XXIII REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FeSBE), 2008, Águas de Lindóia, SP.
- DUBIN, M. D. *Interpretação Rápida do ECG*. 3. ed. Rio de Janeiro: Ed. de Publicações Científicas, 1996. p. 295.
- GIMA, K.; RUDY, Y. Ionic current basis of electrocardiography waveforms: a model study. *Circulation Research*, 2002. p. 889-896.
- GUYTON, A. C; HALL, J. E. *Tratado de fisiologia médica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 585.
- HAMILTON, P. Open Source ECG Analysis. *Computers in Cardiology*, v. 29, p. 101-104, 2002.
- HAMPRECHT, F. A. et al. Fibrillation power, an alternative method of ECG spectral analysis for prediction of countershock success in a porcine model of ventricular fibrillation. *Resuscitation*, Elsevier, Amsterdã, v. 50, n. 3, p. 287-296, 2001.
- HAN, J. et al. Ketamine abolishes ischemic preconditioning through inhibition of KATP channels in rabbit hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, Maryland, USA, p. 283, H13-H21, 2002.
- HATSCHBACH, E.; MASSONE, F.; BECHARA, J. N.; BALIEIRO, J. C. C.; BARREIRO, R. H. Avaliação paramétrica do cloridrato de dexmedetomidina em cães pré-tratados ou não pela atropina e tratados ou não pela quetamina. *ARS Veterinária*, Jaboticabal, SP, v. 21, n. 1, p. 22-29-537, 2005.
- JUNQUEIRA Jr, L. F.; SILVA, P. R.; BARBONI, A. R. Padrões normais do balanço autonômico do coração, caracterizados pela análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, Rio de Janeiro – RJ, v. 66, p. 318, 1996.

MASSONE, F. *Anestesiologia veterinária: farmacologia e técnicas*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 326.

ROSEN, M. R. The Eletrocardiogram 100 Years Later – Electrical Insights Into Molecular Messages. *Circulation*, 2002. p. 2173-2179.

SAMBHI, M; WHITE, F.E. The eletrocardiogram of the normal and hypertensive rat. *Circulation Research*, 1959. p. 7-129-134.

SHEININ, M. et al. Sedative and cardiovascular effects of medetomidine, a novel selective alpha2 adrenoreceptor agonist, in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, Grã- Betanha, v. 4, p. 443-451, 1987.

TAVARES, A.; PLAVNIK, F. L. Inibidores do sistema simpático. *HiperAtivo*, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 93, 1998.

THURMON, J.C. et al. Preanesthetics and anesthetic adjuncts. In: THURMON, J.C. et al. (eds). *Lumb e Jones veterinary anesthesia*. Lippincot, Baltimore: Willians & Wilkins, 3. ed., cap. 8, p. 183-209, 1996.

TIKKANEN, P. *Characterization and application of analysis methods for ECG and time interval variability data*. Oulu University Library, Finlândia, Oulu: Oulun Yliopisto, 1999. p. 37-40-65.

ZAGO, G. T., AMIGO, B. N., ANDREÃO, R. V. *Sistema a base de regras para a detecção de episódios isquêmicos*. In: IX Simpósio Brasileiro de Automação Inteligente – SBAI, Brasília, DF, 2009. (artigo n. 55829, 5 páginas).

Recebido em 27 ago. 2010 / aprovado em 4 mar. 2011

Para referenciar este texto

CASTRO, S. S. et al. Descrição de um protocolo experimental para estudos cardiofisiológicos em camundongos. *Exacta*, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 89-101, 2011.

