

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA

Amanda Rosanna Alves Barboza

**Análise da variabilidade da frequência cardíaca e pressão
arterial, em ratos, durante a anestesia por ketamina e xilazina, uretana
ou isoflurano**

Ribeirão Preto

2022

Amanda Rosanna Alves Barboza

Análise da variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial, em ratos, durante a anestesia por ketamina e xilazina, uretana ou isoflurano

Versão Corrigida

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia

Orientador: Prof. Dr. Rubens Fazan Jr.

Ribeirão Preto

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Barboza, Amanda Rosanna Alves

Análise da variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial, em ratos, durante a anestesia por ketamina e xilazina, uretana ou isoflurano/ Amanda Rosanna Alves Barboza; orientador: Rubens Fazan Jr. Ribeirão Preto, 2022.

73f.:il

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2022.

Versão original.

1. Anestesia. 2. Variabilidade da frequência cardíaca (HRV). 3. Variabilidade da pressão arterial (BPV). 4. ketamina+xilazina (KX). 5. uretana (URE). 6. isoflurano (ISO). 7. Rato.

Nome: BARBOZA, Amanda Rosanna Alves

Título: Análise da variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial, em ratos, durante a anestesia por ketamina e xilazina, uretana ou isoflurano

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Aprovado em 30/08/2022.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Rubens Fazan Jr.

Instituição Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Vitor Engracia Valenti

Instituição Faculdade de Filosofia e Ciências, Câmpus de Marília, UNESP.

Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Jysron Guilherme Klamt

Instituição Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

Julgamento: Aprovada

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (nº134634/2018-7).

Aos meus pais que, com muito amor, confiança e incansável presença, me apoiaram ao longo do período de elaboração desse trabalho.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a Deus e a Jesus pela oportunidade de realizar meu trabalho de mestrado. Também, pela força em todos os momentos, principalmente, naqueles em que me faltaram fé.

Meus mais sinceros agradecimentos a toda minha família, em especial, aos meus pais, que sempre com muito amor e dedicação, estiveram do meu lado. Vocês são um amparo muito grande nos momentos em que eu me sinto perdida.

Minha sincera gratidão ao meu orientador Prof. Rubens Fazan Jr pela ajuda, ensinamentos e pelas conversas, que muitas vezes soavam mais como um conselho do que como somente uma conversa. Agradeço, especialmente, pela oportunidade de intercâmbio. Junto comigo, o senhor esperou até a hora em que minha ida fosse possível.

A todos os meus amigos do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular da FMRP/USP, presentes ou que já deixaram o laboratório. De todo o meu coração, muito obrigada pelo prazer da convivência e amizade. Também meu sincero reconhecimento ao Prof. Helio Cesar Salgado e aos técnicos, em especial, ao Carlos Alberto A. da Silva (“Betão”) e Jaci A. Castania.

A todos os meus amigos do Departamento de Fisiologia da FMRP/USP, que me fazem sentir parte do grupo, transformando horas de estresse em momentos de companheirismo. A todos os funcionários do Departamento de Fisiologia, em especial aos meus amigos da secretaria, Cláudia, Elisa e Fernandinho.

Aos professores Luiz Carlos C. Navegantes, antigo coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia, e Ricardo M. X. Leão, atual coordenador.

À *University of Bradford*, pela oportunidade de 6 meses de treinamento e pesquisa. Essa chance foi muito importante para mim, tanto profissionalmente quanto pessoalmente.

Meus sinceros agradecimentos ao meu tutor na *University of Bradford*, Prof. Jurgen Muller. Meus sinceros agradecimentos por acreditar em mim, pela paciência de me ensinar os experimentos, de me atender e por me fazer sentir parte do time.

Aos meus amigos do laboratório da *School of Pharmacy and Medical Sciences* e do *Institute of Cancer Research*, que tornavam o meu dia-a-dia na Universidade ainda mais feliz. Agradeço aos meus amigos de fora do laboratório por toda cumplicidade e, também, aos meus amigos de fora da Universidade. Muito obrigada pelos momentos incríveis, por me fazerem sentir parte da cidade e por essa amizade que eu levarei comigo para a vida inteira.

Finalmente, agradeço à Universidade de São Paulo, minha casa há quase 10 anos, e às entidades CNPq e CAPES pelo apoio financeiro que possibilitou a realização deste trabalho.

*“There are only two ways to live your life. One is as though nothing is a miracle.
The other is as though everything is a miracle”.*

Albert Einstein

Resumo

BARBOZA, Amanda Rosanna Alves. **Análise da variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial, em ratos, durante a anestesia por ketamina e xilazina, uretana ou isoflurano.** 2022. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós-graduação em Fisiologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Anestesia provoca alterações nos parâmetros cardiovasculares, o que pode afetar, marcadamente, dados coletados em animais anestesiados. Nós avaliamos as medidas de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC), assim como índices de variabilidade da PA (BPV) e FC (HRV) em ratos acordados e anestesiados com ketamina+xilazina (KX), uretana (URE), ou isoflurano (ISO). Os animais (270-320g) foram submetidos à cateterização da artéria femoral e, após 48 h, tiveram a PA registrada enquanto acordados e com livre movimentação. Em seguida, foram anestesiados com KX (n=7), URE (n=7) ou ISO (n=10) com manutenção dos registros, durante a anestesia, por mais 30 min (protocolo:132/2017). KX, consideravelmente, aumentou a PA (118 ± 4 para 144 ± 4 mmHg) e o intervalo de pulso (IP: 156 ± 3 para 187 ± 3 ms). URE não afetou a PA, mas, notavelmente, diminuiu o IP (156 ± 4 para 128 ± 4 ms). ISO atenuou a PA (123 ± 2 para 106 ± 2 mmHg), enquanto manteve o IP. Praticamente, todos os agentes anestésicos causaram grande redução na HRV e na BPV. A potência do espectro do IP foi diminuída na banda de alta frequência (modulação vagal) por todos os anestésicos, porém, na banda de baixa frequência (modulação simpática), a potência do espectro do IP foi reduzida, somente, por KX ou URE. A dinâmica simbólica das séries de IP foi alterada por todos os anestésicos, afetando a modulação autonômica cardiovascular. Ademais, a entropia das mesmas séries foi, marcadamente, deprimida por todos os agentes anestésicos nas escalas 7-20, mas, apenas, por KX e ISO nas escalas 1-6. Todos os anestésicos diminuíram a análise da flutuação destendenciada nas janelas curtas (5-15) e aumentaram a medida fractal nas janelas longas (100-1000), caracterizando perda da complexidade do sistema. O índice de fragmentação da FC (% de pontos de inflexão) não foi afetado por KX ou URE, mas foi bem reduzido por ISO. A medida de BPV total foi diminuída somente por KX ou URE. A análise espectral, assim como a dinâmica simbólica e a

entropia multiescala das séries de valores de PA sistólica mostraram um padrão similar ao das séries de IP. O presente estudo reforça a importância de se conhecer a influência dos anestésicos na função cardiovascular. Além disso, acreditamos que ISO é o agente que menos interfere, enquanto KX é o que mais deprime os parâmetros hemodinâmicos, de variabilidade e complexidade do sistema cardiovascular em ratos.

Palavras-chave: 1. Anestesia. 2. Pressão arterial. 3. Variabilidade da pressão arterial. 4. Variabilidade da frequência cardíaca. 5. Ratos. 6. ketamina+xilazina. 7. uretana. 8. isoflurano. 9. Intervalo de pulso. 10. Anestésicos.

Abstract

BARBOZA, Amanda Rosanna Alves. **Heart rate and blood pressure variability in rats anesthetized with ketamine/xylazine, urethane or isoflurane.** 2022. 73p. Dissertation (Msc. - Post-Graduate Programme in Physiology) - Ribeirao Preto Medical School, University of Sao Paulo, Ribeirao Preto, 2022.

Anesthesia remarkably affects cardiovascular function which can deeply affect data collected from anesthetized animals. We evaluated blood pressure (BP) and heart rate (HR) as well as indexes of BP variability (BPV) and HR variability (HRV) in awake rats and during anesthesia with ketamine+xylazine (KX), urethane (URE) or isoflurane (ISO). The animals (270-320g) underwent femoral artery catheterization and after 48 h had their BP recorded while awake and with free movement. Following this, they were anesthetized with KX (n=7), URE (n=7) or ISO (n=10) and the recordings were maintained, during anesthesia, for more 30 min (protocol: 132/2017). KX considerably increased BP (118 ± 4 to 144 ± 4 mmHg) and pulse interval (PI: 156 ± 3 to 187 ± 3 ms). URE did not affect BP, but decreased PI (156 ± 4 to 128 ± 4 ms). ISO attenuated the BP (123 ± 2 to 106 ± 2 mmHg), while did not affect PI. Practically all anesthetic agents caused a large reduction in HRV and in BPV. PI spectrum power was decreased in the high frequency band (vagal modulation) by all anesthetics. However, in the low frequency band (sympathetic modulation), the power of PI spectrum was reduced only by KX and URE. Symbolic dynamics of PI series were altered by all anesthetics, affecting the cardiovascular autonomic modulation. Besides, entropy in these series was markedly depressed by all anesthetic agents over scales 7 to 20, but only by KX and ISO over scales 1 to 6. All anesthetics decreased the detrended fluctuation analysis on short windows (5-15) and increased the fractal measurement on long windows (100-1000), identifying loss of complexity. The index of HR fragmentation (% inflection points) was not affected by KX and URE but was well reduced by ISO. The overall BPV was reduced only by KX and URE. Spectral analysis, as well as symbolic dynamics and multiscale entropy of systolic BP series showed a pattern similar to that seen in PI series. The present study reinforces the importance of knowing the influence of anesthetics on cardiovascular function. Moreover, we believe that ISO is the agent that interferes the

least, while KX is the one that most depresses hemodynamic parameters, variability and complexity of the cardiovascular system in rats.

Keywords: 1. Anesthesia. 2. Blood pressure. 3. Blood pressure variability. 4. Heart rate variability. 5. Rats 6. ketamine+xylazine. 7. urethane. 8. isoflurane. 9. Pulse interval. 10. Anesthetics.

Lista de Figuras

- Figura 1.** Pintura “*First Operation Under Ether*”.
- Figura 2.** Imagem representativa da ação geral dos agentes anestésicos em neurônios pré-sinápticos e pós-sinápticos.
- Figura 3.** Imagem representativa do experimento realizado por Stephen Hales.
- Figura 4.** Representação esquemática do controle cardiovascular.
- Figura 5.** Representação esquemática do conceito de HRV.
- Figura 6.** Representação esquemática do controle da FC no curto prazo.
- Figura 7.** Imagem representativa da análise espectral.
- Figura 8.** Imagem representativa da análise da BPV.
- Figura 9.** Captura de tela da correção dos artefatos no programa PyBios.
- Figura 10.** Imagem representativa da avaliação da HRV pela análise simbólica.
- Figura 11.** Imagem representativa do comportamento irregular das flutuações.
- Figura 12.** Imagem representativa da construção de uma série escalonada para avaliação da HRV pela MSE.
- Figura 13.** Imagem representativa da propriedade autossimilar.
- Figura 14.** Imagem representativa do mapeamento da DFA para avaliação da HRV.
- Figura 15.** Imagem representativa do padrão de reversão nas séries temporais.
- Figura 16.** Valores médios do tempo de indução da anestesia.
- Figura 17.** Traçados representativos individuais da PA e FC.
- Figura 18.** Valores médios de PA sistólica e IP.
- Figura 19.** Valores médios do SDNN, RMSSD e SD (domínio do tempo).
- Figura 20.** Valores médios da PSD na faixa de LF e HF (análise espectral).
- Figura 21.** Valores médios da porcentagem de ocorrência das famílias 0V e 2UV.
- Figura 22.** Entropia amostral nas escalas de 1 a 20.
- Figura 23.** Valores médios do espectro dos expoentes de escala da DFA nas janelas curtas e longas.
- Figura 24.** Valores médios da porcentagem do PIP e dos grupos de palavras W_0 , W_1 , W_2 e W_3 (HRF).

Lista de Abreviaturas

0V: sequência que varia na mesma faixa de quantização.

1V: sequência com 1 variação.

2LV: sequência com 2 variações na mesma direção.

2UV: sequência com 2 variações em direções diferentes.

ACh: acetilcolina.

ACORD: acordado.

ANEST: anestesiado.

BPV: variabilidade da pressão arterial (*Blood Pressure Variability*).

DAC: doença arterial coronariana.

DFA: análise da flutuação destendenciada (*Detrended Fluctuation Analysis*).

ECG: eletrocardiograma.

EPM: erro padrão da média.

FC: frequência cardíaca.

FFT: Transformada Rápida de Fourier (*Fourier Fast Transform*).

GABA: ácido gama-aminobutírico.

H: *Hard*.

HF: alta frequência (*High Frequency*).

HRF: fragmentação da frequência cardíaca (*Heart Rate Fragmentation*).

HRV: variabilidade da frequência cardíaca (*Heart Rate Variability*).

Intervalos RR: intervalos entre sucessivas ondas R do eletrocardiograma.

IP: intervalos de pulso.

ISO: isoflurano.

KX: ketamina+xilazina.

LF: baixa frequência (*Low Frequency*).

M: *Mixed*.

MSE: entropia multiescala (*Multiscale Entropy*).

nACh: receptor colinérgico nicotínico.

NMDA: N-metil D-Aspartato.

NS: não significativo.

nu: unidade normalizada (*Normalized Unit*).

PA: pressão arterial.

PIP: porcentagem de pontos de inflexão.

PSD: densidade da potência espectral (*Power Spectral Density*).

RMSSD: *root mean square of successive differences*.

RR: média dos valores de intervalos RR.

RSA: arritmia sinusal respiratória (*Respiratory Sinus Arrhythmia*).

S: *Soft*.

SampEn: entropia amostral.

SD: desvio padrão (*Standard Deviation*).

SDNN: desvio padrão entre batimentos normais (*standard deviation normal to normal*).

SNA: sistema nervoso autônomo.

SNC: sistema nervoso central.

SNP: sistema nervoso parassimpático.

SNS: sistema nervoso simpático.

URE: uretana.

VLF: muito baixa frequência (*Very Low Frequency*).

W: palavra (*Word*).

W₀: palavras sem ponto de inflexão.

W₁: palavras com 1 ponto de inflexão.

W₂: palavras com 2 pontos de inflexão.

W₃: palavras com 3 pontos de inflexão.

Lista de Símbolos

m: Tamanho da Sequência Padrão.

N/t: Média de Pontos Consecutivos.

N: Números de Pontos.

n: *Scaling Range*.

r: Tolerância.

α : Expoente de Escala.

t: Números de Escalas.

Índice

1. Introdução	1
1.1 Anestesia Geral	4
1.2 Variabilidade da Frequência Cardíaca (HRV) e Pressão Arterial (BPV).....	7
1.2.1 Ferramentas de Análise da Variabilidade: Métodos Lineares	12
1.2.2 Ferramentas de Análise da Variabilidade: Métodos Não-Lineares.....	16
1.3 Hipótese e Objetivo	18
2. Material e Métodos	18
2.1 Animais.....	19
2.2 Procedimento Cirúrgico	19
2.3 Protocolo Experimental	19
2.4 Análise de Dados	20
2.5 Análise Estatística	30
3. Resultados e Discussão	30
3.1 Tempo de Indução da Anestesia	34
3.2 Parâmetros Hemodinâmicos: PA e FC	35
3.3 HRV e BPV no Domínio do Tempo	43
3.4 Análise Espectral (IP e PA sistólica)	46
3.5 Análise Simbólica	50
3.6 Entropia Multiescala	54
3.7 Análise de Flutuações Destendenciadas.....	58
3.8 Fragmentação da Frequência Cardíaca	61
Sumário e Conclusão.....	66
Referências Bibliográficas	68

Introdução

A história da descoberta da anestesia é muito interessante e antiga, pois remete às primeiras civilizações. Em 4000 a.C., os sumerianos já possuíam o conhecimento sobre o ópio. Alguns anos após, os babilônios começaram a promover o alívio da dor de dente com ervas e, os chineses, a tratar diversos incômodos com a técnica da acupuntura. Contudo, foi a partir do começo do século XIX que a prática anestésica, tanto em animais quanto em humanos começou a receber atenção (WOOD LIBRARY MUSEUM, 2016).

Entre 1800 e 1824, os cientistas britânicos Humphry Davy e Henry Hickman foram os primeiros a descrever o uso do gás óxido nitroso em animais (STEVENSON, 1963; THURMON; SHORT, 2007), porém, este só foi utilizado em humanos em 1844, quando Gardner Q. Colton, *showman* e médico americano, com a ajuda de um comerciante local, Samuel Cooley, como cobaia, submeteu este ao efeito do gás, o que, inesperadamente, fez com que o jovem corresse em direção à bancas de madeira dispostas no local e machucasse suas pernas, porém sem noticiar dor. Nessa apresentação, estava o dentista Horace Wells, que ao assistir o ocorrido, percebeu que o óxido nitroso ou “gás hilariante”, como foi chamado, poderia ser utilizado em práticas médicas.

Na manhã seguinte, Wells se voluntariou para uma extração dental sob efeito do gás, a fim de verificar sua propriedade anestésica. Com o sucesso da cirurgia, o dentista decidiu ir para Boston, Massachusetts, para demonstrar a eficácia do gás para outros profissionais da saúde. Assim, junto com seu aluno William Morton, promoveu a extração dentária de um voluntário sob influência do novo anestésico, mas ele não contava com a reação do jovem, que chorou durante a manobra e parecia sentir muita dor. Com isso, a maioria dos expectadores considerou a cirurgia uma enganação, comprometendo as ideias de Wells e resultando na sua volta para Hartford, Connecticut, sua cidade natal (HARIDAS, 2013).

Mesmo com este episódio, William Morton não desistiu da sua busca por um

agente anestésico efetivo, e, então, em outubro de 1846, fez história sendo o primeiro a publicar a ação anestésica do éter para cirurgia. Apesar dos efeitos deste já terem sido estudados e provados, em 1842, pelo químico William Clarke e pelo médico Crawford W. Long, Morton liderou a retirada de um cisto no pescoço do jovem Edward Gilbert Abbott, que estava sob efeito do líquido volátil. A cirurgia foi concluída e, a partir desse dia, conhecido como “*Ether’s Day*”, vários cientistas aceitaram a ação anestésica do éter e seu uso foi difundido (Figura 1).

Além disso, em novembro do mesmo ano, Oliver Wendell Holmes, médico americano da época, enviou uma carta para William Morton, sugerindo, pela primeira vez, os termos “anestésico” e “anestesia”, assim como a primeira definição: insensibilidade, principalmente, ao toque (WOOD LIBRARY MUSEUM, 2016).



Figura 1. Pintura “*First Operation Under Ether*”, por Robert C. Hinckley, retratando a primeira demonstração pública do uso do éter, como anestésico, pelo dentista William Morton, no paciente Gilbert Abbot. WOOD LIBRARY MUSEUM, 2016. Cortesia da Boston Medical Library em Francis A. Countway Library of Medicine; HARIDAS, 2016.

Ainda após essa grande descoberta, a procura por outros agentes anestésicos continuou e, então, em 1847, foi observado o efeito anestésico do clorofórmio pelo fisiologista Marie Jean Pierre Flourens, em cães (THURMON; SHORT, 2007), e pelo médico James Young Simpson, em humanos (SMITHCORS, 1957), utilizando o anestésico em diferentes práticas cirúrgicas.

Dessa forma, a droga, rapidamente, se tornou popular. No entanto, apresentava algumas dificuldades e promovia risco de mortalidade, o que resultou em outros estudos realizados por diversos cientistas, no final do século XIX, através da indução do reagente cloral hidratado em animais e humanos (JONES, 2002) e da cocaína, pela primeira vez utilizada em animais por Penhale (STEVENSON, 1963).

Contudo, mesmo com os avanços nas descobertas de novos agentes, cujos efeitos anestésicos auxiliavam cirurgias em geral, o começo do século XX foi marcado pelo desprezo à prática anestésica veterinária devido ao conservadorismo dos profissionais de saúde da época (MERILLAT, 1915).

Então, foi a partir da década de 30 que novos estudos surgiram descrevendo o uso de outros agentes anestésicos, como os barbitúricos pentobarbital e tiopental (STEVENSON, 1963; JONES, 2002), sendo usados, também, em humanos, além de novas vias de administração, como a injetável e inalatória, que se tornaram rotineiras durante as práticas cirúrgicas em pequenos animais (CARTER; STORY, 2013). Assim, até o final do século XX, inúmeros agentes farmacológicos para anestesia de animais e humanos surgiram, sendo alguns dos mais relevantes a lidocaína (WOOD LIBRARY MUSEUM, 2016), como anestésico local, a ketamina, descrita pela primeira vez na década de 60 (WINTERS et al., 1972) e o isoflurano (ISO), em 1981 (CAMPAGNA et al., 2003).

Desse período em diante, a anestesia experimental moderna tem sido, extensivamente, estudada e, até os dias de hoje, os efeitos ocasionados pelos agentes anestésicos no sistema nervoso continuam sendo assunto de intensa investigação.

1.1 Anestesia Geral

A palavra “anestesia” vem do termo grego “*anaisthisía*”, que significa a perda de sensação parcial ou integral do corpo (TRANQUILLI; GRIMM, 2015). Como os diferentes efeitos de cada anestésico dependem de vários fatores como a área cerebral em que esse atua (ALKIRE et al., 2008), o sítio de ligação (MILLER, 2002), a concentração utilizada (SON, 2010), a via de administração e a espécie submetida (TRANQUILLI; GRIMM, 2015), a melhor definição para anestesia geral, como sugerido em vários trabalhos, é a coleção de padrões comportamentais, entre eles sedação, imobilização, analgesia (CROWDER; EVERS, 2011), atenuação das respostas reflexas (FLECKNELL, 2009), assim como inconsciência, amnesia (ALKIRE et al., 2008) e hipnose (SON, 2010).

Assim, por haver uma diversidade de efeitos, estudos iniciados há mais de um século começaram a buscar os possíveis mecanismos de ação dos agentes anestésicos.

No início do século passado, por possível influência de estudos feitos por Claude Bernard (PEROUANSKY, 2012), Hans Meyer e Charles Ernest Overton publicaram seus clássicos estudos “*Theorie der Alkoholnarkose*” e “*Studien über die Narkose*”, sugerindo que quanto maior a solubilidade de gases anestésicos em um meio hidrofóbico, maior seria a sua capacidade de promover anestesia geral (MEYER, 1899; OVERTON, 1901), por “penetrar” facilmente a membrana neuronal. Essa observação serviu de base para diversas outras investigações importantes, as quais demonstraram que o alvo dos agentes anestésicos seria muito mais específico do que antes imaginado (FRANKS; LIEB, 1994).

A partir disso, surgiram evidências de que os anestésicos atuariam competindo com ligantes endógenos por sítios em receptores específicos (FRANKS; LIEB, 1984). Durante as últimas décadas, vários trabalhos têm investigado a importância dos neurotransmissores, receptores ionotrópicos e canais iônicos dependentes de voltagem como potenciais alvos dos anestésicos gerais (SPENCER et al., 1996; ARHEM et al., 2003; HEMMINGGS et al., 2005; SON, 2010; DAMIAN; HERLICH, 2015; ARMSTRONG et al., 2018).

As teorias mais modernas propõem que, em concentrações clínicas, esses

agentes podem influenciar, aproximadamente, 30 tipos de canais iônicos (CAMPAGNA et al., 2003; RUDOLPH; ANTKOWIAK, 2004), localizados em neurônios espalhados por todo sistema nervoso central (SNC). Nesses, os anestésicos gerais podem atuar, geralmente, de duas formas: estimulando a neurotransmissão inibitória e/ou deprimindo a neurotransmissão excitatória (HEMMINGS Jr, 2009), o que contribui para os perfis comportamentais observados durante a anestesia (ALKIRE et al., 2008; PEROUANSKY, 2010; IQBAL et al., 2019).

A partir disso, um dos mecanismos de ação propostos, atualmente, sugere que os agentes anestésicos gerais podem agir tanto inibindo a liberação dos neurotransmissores excitatórios glutamato ou ACh pelo neurônio pré-sináptico, quanto, diretamente, no neurônio pós-sináptico, em canais iônicos dependentes de voltagem, principalmente os de Na^+ (HEMMINGS Jr, 2009) e Ca^{2+} , e em receptores ionotrópicos, como NMDA ou nACh. Bloqueando os receptores ou influenciando a abertura dos canais, os anestésicos, como a ketamina, inibem a despolarização da membrana neuronal (PEROUANSKY; HEMMINGS Jr, 2003; HEMMINGS Jr et al., 2005).

Além disso, esses agentes podem estimular a liberação dos neurotransmissores inibitórios GABA ou glicina pelo neurônio pré-sináptico, os quais se ligam, respectivamente, em receptores ionotrópicos GABAérgicos ou glicinérgicos pós-sinápticos, permitindo a entrada de íons cloro, o que promove a hiperpolarização da célula e, assim, o potencial inibitório pós-sináptico (PEROUANSKY; HEMMINGS Jr, 2003; HEMMINGS Jr et al., 2005). A propósito, os receptores GABAérgicos do tipo A (GABA_A) são um importante alvo dos anestésicos inalatórios voláteis, como o isoflurano, e também dos intravenosos, como os barbitúricos (NICOLL et al., 1975; GAGE; ROBERTSON, 1985; JONES; HARRISON, 1993; ZIMMERMAN et al., 1994).

Ainda, os anestésicos gerais podem potencializar a abertura de canais de K^+ pós-sinápticos (KAMATCHI et al., 1999; NISHIKAWA; MACIVER, 2001; URBAN, 2002; OUYANG et al., 2003; FRANKS; HONORE, 2004), em particular, os canais de K^+ com dois poros (K_{2p}), resultando no efluxo desses íons (DAMIAN; HERLICH, 2015) e, portanto, também na redução da excitabilidade da membrana dos

neurônios (Figura 2).

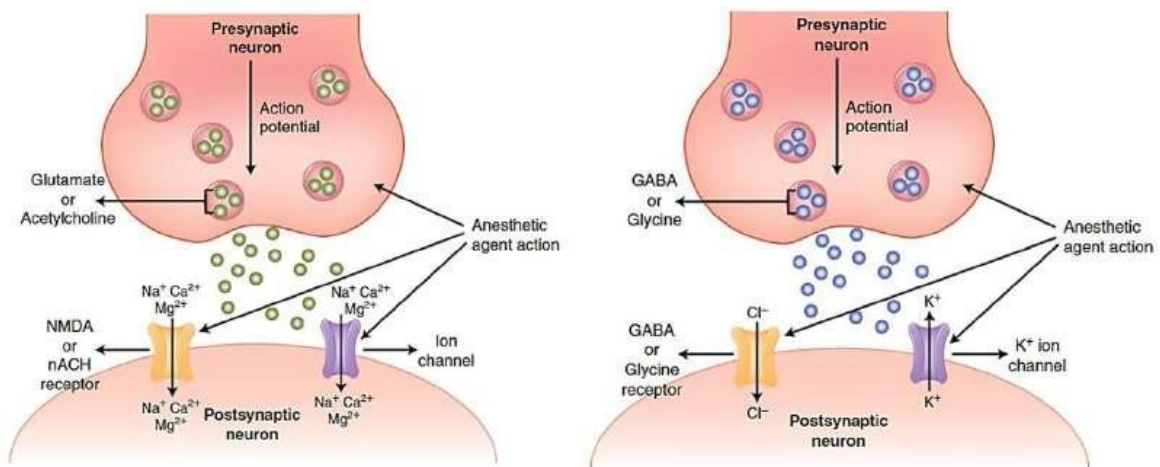


Figura 2. Imagem representativa da ação geral dos agentes anestésicos em neurônios pré-sinápticos e pós-sinápticos. À esquerda: inibição da neurotransmissão excitatória. À direita: estimulação da neurotransmissão inibitória. ACh: acetilcolina; NMDA: N-metil D-Aspartato; nACh: receptor colinérgico nicotínico; GABA: ácido gama-aminobutírico. DAMIAN; HERLICH, 2015.

Diante desse fino repertório de proteínas-alvo, diversas abordagens genéticas e neuroanatômicas têm demonstrado que os efeitos da anestesia geral, causados por cada agente anestésico, são resultados da interação com sítios específicos em diferentes partes do sistema nervoso (SON, 2010; CROWDER; EVERS, 2011).

Portanto, de forma geral, cada anestésico pode causar diferentes efeitos nos parâmetros cardiovasculares. Assim, a partir de estudos como os de Gleb Von Anrep et al. (1936), que propuseram, elegantemente, que tanto mecanismos centrais quanto periféricos influenciavam na duração dos intervalos cardíacos (intervalos RR), batimento a batimento, alguns pesquisadores começaram a estudar, especificamente, as variações periódicas na frequência cardíaca (FC) e pressão arterial (PA), inclusive durante a anestesia.

1.2 Variabilidade da Frequência Cardíaca (HRV) e Pressão Arterial (BPV)

A percepção de que há variações na duração entre sucessivos intervalos RR, momento a momento, é muito antiga (BILLMAN, 2011; SHAFFER et al., 2014). Entretanto, foi apenas com o surgimento de instrumentos de medida mais refinados, no começo do século XVIII, que avaliações mais seguras sobre a FC e PA puderam ser realizadas, como as de John Floyer, físico inglês, que identificou a relação entre o pulso arterial e as variações da respiração (FLOYER, 1707, 1710).

Em 1733, através de um experimento muito elegante, realizado pelo reverendo Stephen Hales (Figura 3), foi descrito o papel da respiração em provocar variações na FC e PA (HALES, 1733). A partir disso, por meio de experimentos em um cão, Karl Ludwig registou esse fenômeno, hoje conhecido como arritmia sinusal respiratória (RSA, do inglês: *Respiratory Sinus Arrhythmia*) (LUDWIG, 1847).



Figura 3. Ilustração do experimento de Stephen Hales, foi inserido uma coluna de vidro na artéria carótida de uma égua, permitindo observar que o sangue se elevava a mais de 2 m acima do animal e que, a altura do sangue oscilava de acordo com os batimentos cardíacos. HOFF et al., 1965; WISNIAK, 2012; TYRRELL, 2019.

A partir disso, ficou estabelecido o conceito de que FC e PA não são parâmetros estáticos, mas, sim, variáveis. O estudo de Donders (1868) trouxe a informação de que a integridade do é essencial para a RSA e, portanto, afeta a variabilidade da FC (HRV, do inglês: *Heart Rate Variability*). Já estudos focados na variabilidade da PA (BPV, do inglês: *Blood Pressure Variability*) aconteceriam mais tarde, como o de Guyton e Harris (1951), demonstrando a sincronização entre as ondas vasomotoras e a regulação simpática.

Porém, foi no final da década de 60 e início dos anos 70, através da combinação do eletrocardiograma (ECG) com o aprimoramento das técnicas de processamento de sinais, como o computador, que o avanço nos estudos da regulação neural autonômica e sua influência nas flutuações da FC e PA, ao longo do tempo, ocorreu (KATONA et al., 1970; HYNDMAN et al., 1971; SAYERS, 1973; CHESS et al., 1975; HYNDMAN; GREGORY, 1975; PEÑÁZ et al., 1978). A partir de então, muitos estudos metodológicos demonstraram que as flutuações na FC são resultado de uma comunicação complexa de fatores (FLEISHER, 1996).

A dinâmica entre as divisões simpática e parassimpática do sistema nervoso autônomo (SNA) é um dos pontos-chave mais importantes para o ajuste do sistema cardiovascular (APPEL et al., 1989; OLSHANSKY et al., 2008; DAMPNEY, 2016; SHAFFER; GINSBERG, 2017). Geralmente, quando uma divisão é estimulada, a outra é inibida. O barorreflexo é um exemplo disso. Assim, o balanço autonômico é regulado, de forma precisa, por diversos mecanismos, como o de *feedback* negativo, e também pela integração central das informações (Figura 4), o que promove o controle do sistema cardiovascular (MALLIANI, 1982; BISHOP et al., 1983; MALLIANI et al., 1986).

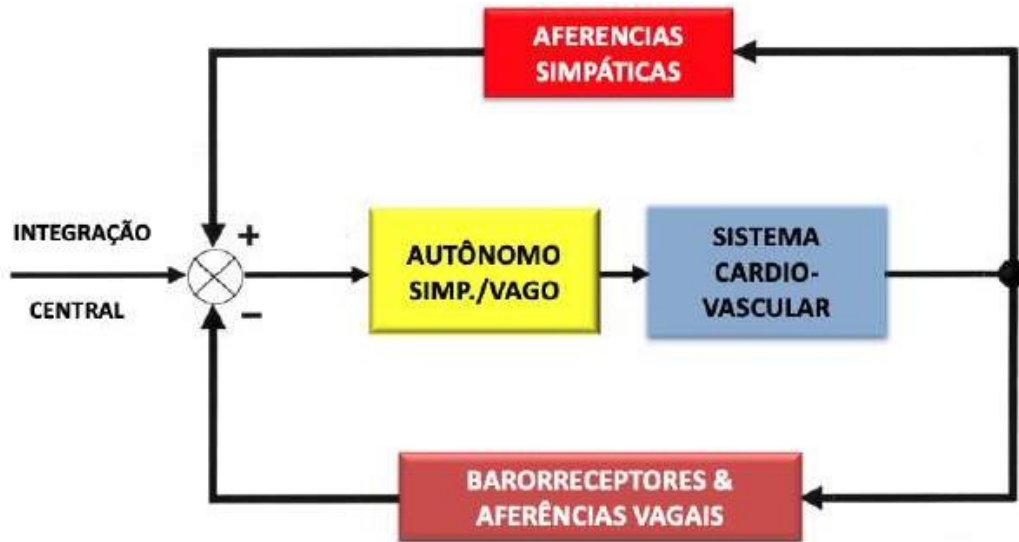


Figura 4. Representação esquemática do controle cardiovascular pela integração dos sinais oriundos das aferências vagais e simpáticas e pelo mecanismo de *feedback*, resultando no balanço simpatovagal e em uma regulação harmônica da função cardiovascular. MALLIANI et al., 1991.

Entretanto, o controle neural cardiovascular pelo SNA é feito, também, por muitas outras variáveis fisiológicas, como os hormônios; o metabolismo (ERNST, 2017); a termorregulação (DAMPNEY, 2016); o próprio disparo do nó sinoatrial (BERNARDI et al., 1990), o ciclo circadiano; o sistema renina-angiotensina (AKSELROD et al., 1985; MALLIANI et al., 1991) influenciando as flutuações da FC, à longo prazo; a respiração; os mecanismos de baro- e quimiorreflexo; além do tônus vascular (SHAFFER; GINSBERG, 2017) e da presença de fatores ambientais. Essa regulação proporciona capacidade de flexibilidade e adaptação fisiológica do organismo às diversas alterações impostas pelo ambiente (BEAUCHAINE, 2001; BERNTSON et al., 2008). Então, é importante que a FC seja variável.

Existe até uma relação muito elegante, quando se trata de HRV, que mostra que o coração saudável não funciona como um metrônomo (instrumento utilizado em teoria musical para marcar o tempo de um compasso) (SHAFFER; GINSBERG, 2017), pois a duração entre sucessivos intervalos RR (ou FC instantânea) exhibe certa variabilidade natural no tempo (Figura 5), como é possível observar através

de um sinal obtido por ECG, batimento a batimento (SHAFFER et al., 2014).

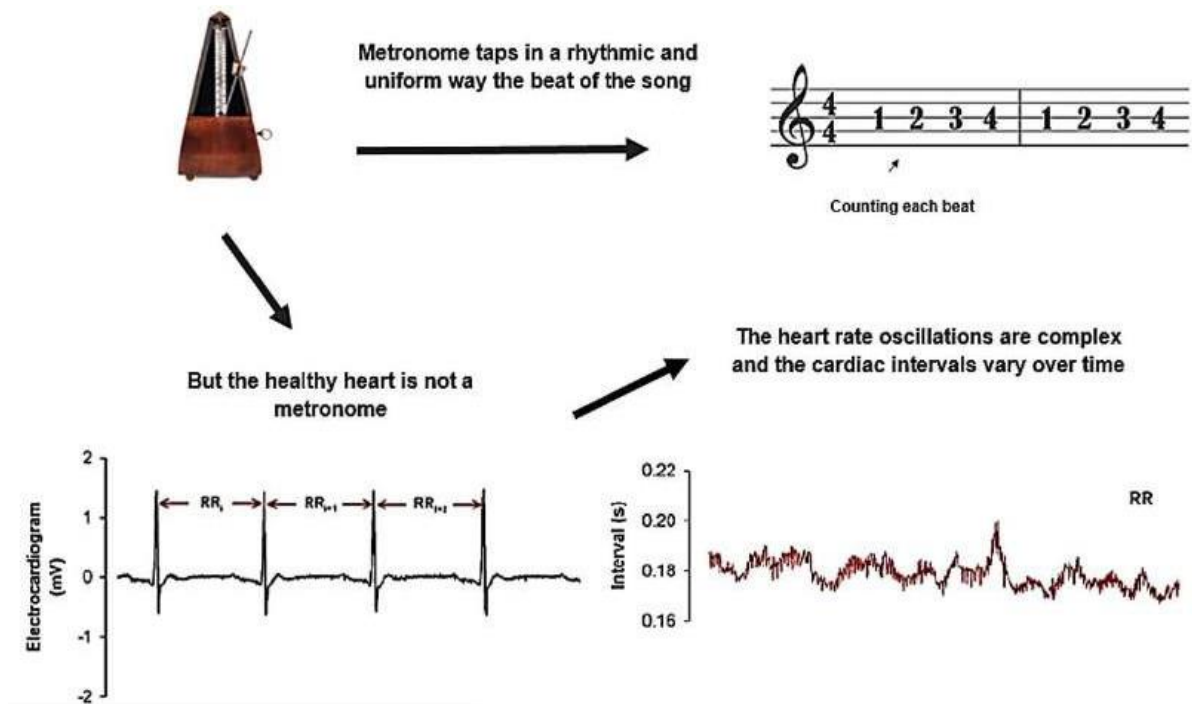


Figura 5. Representação esquemática do conceito de HRV. A duração dos intervalos RR sucessivos não é a mesma, pois varia no tempo, batimento a batimento. Na imagem, a figura do metrônomo, da pauta musical com a contagem de dois compassos e da variabilidade entre sucessivos valores de intervalos RR derivados de um sinal de ECG. Compilação realizada pelo próprio autor. Adaptado de DIAS et al., 2016. Baseado em SHAFFER et al., 2014.

O padrão da HRV guarda forte relação com padrões oscilatórios dos diversos mecanismos que regulam a atividade cardíaca. Esse sinais são integrados em centros de comando e as respostas ajustadas em frequências diferentes, de acordo com a modulação autonômica, influenciando o perfil de variabilidade. A modulação pelo simpático (SNS) exibe um período de variação rítmica em torno de 10 s. Essa regulação natural do simpático leva à oscilações da PA conhecidas como ondas de Mayer, assim nomeadas em tributo ao fisiologista alemão que as descreveu, Siegmund Mayer (ROSENBLUETH; SIMEONE, 1934, CASTIGLIONI et al., 2007).

Além disso, também promove flutuações a cada 10 s (0,1 Hz) na HRV.

Já a modulação pelo parassimpático (SNP), através do vago, apresenta uma frequência de oscilação maior (Figura 6), levando à variações da FC associada ao ritmo respiratório, ou seja, a RSA (MALLIANI et al., 1991; TASK FORCE, 1996).

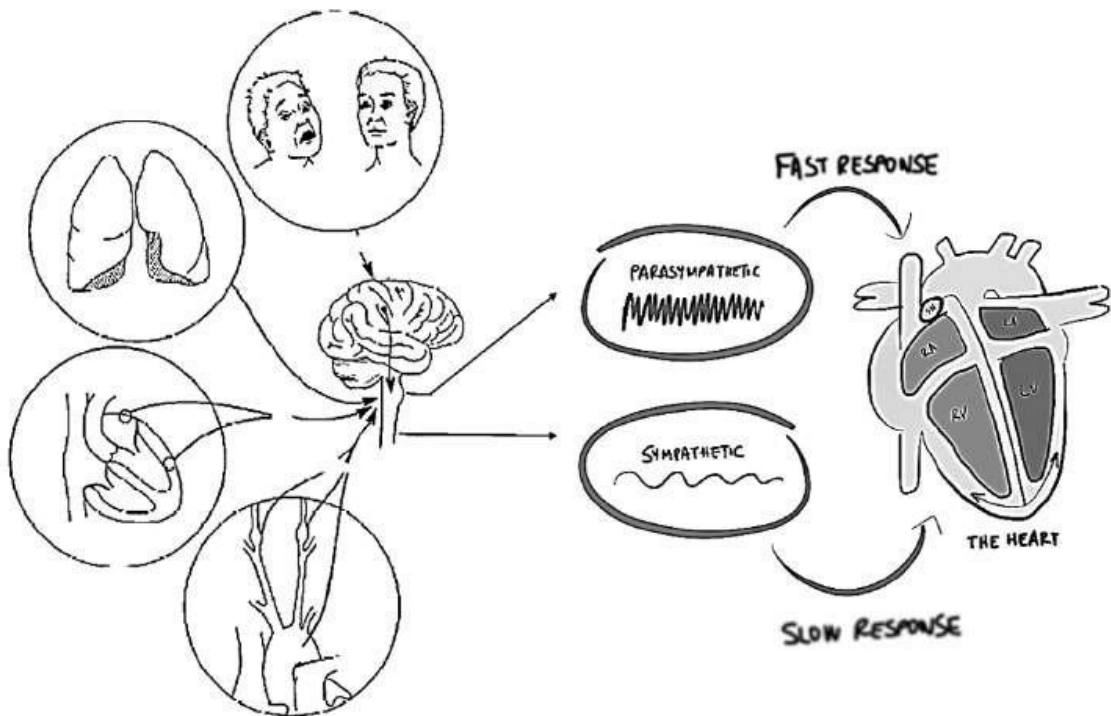


Figura 6. Representação esquemática do controle da FC no curto prazo. As oscilações provenientes de mecanismos regulatórios, como reflexos cardiopulmonares e até as emoções são integradas em centros de comando e ajustados em respostas que oscilam em frequências e períodos diferentes, de acordo com a divisão simpática e/ou parassimpática, modulando a FC e influenciando o padrão de variabilidade. SAUL, 1990.

Então, considerando a grande importância da modulação neural autonômica nos parâmetros cardiovasculares, o estudo da HRV fornece valiosas informações, representando uma importante ferramenta em estudos que envolvem o controle cardiovascular.

O primeiro estudo de relevância clínica da HRV aconteceu apenas na metade do século XX, quando Hon e Lee (1965) demonstraram que alterações na HRV de fetos prediziam condições de estresse fetal. Desde então, o estudo da HRV tem se ganhado cada vez mais importância e tem sido realizado em portadores de diversas doenças, como o diabetes (EWING et al., 1985); a insuficiência cardíaca (SAUL et al., 1988) e a hipertensão arterial. Hoje, está bem estabelecido, então, que os índices de HRV fornecem informações importantes sobre a modulação autonômica cardiovascular e o risco cardíaco. Esses são classificados em métodos lineares ou não-lineares.

1.2.1 Ferramentas de Análise da Variabilidade: Métodos Lineares

O domínio do tempo, para análise da HRV, permite extrair características matemáticas tanto das séries de valores de intervalos RR como de intervalos de pulso (IP) (FAZAN Jr; SALGADO, 2017).

Existem várias medidas estatísticas para a avaliação da HRV no domínio do tempo (TASK FORCE, 1996), porém as mais utilizadas são:

- a) RR (ms): Média dos valores de intervalos RR;
- b) SDNN ou *Standard Deviation Normal to Normal* (ms): Desvio padrão (SD) de RR normais, isto é, os batimentos não são ectópicos (originados em outro local diferente do nó sinoatrial);
- c) RMSSD ou *Root Mean Square of Successive Differences* (ms): Raiz quadrada da média das diferenças do quadrado de intervalos RR consecutivos.

Os índices de HRV no domínio do tempo são importantes ferramentas para quantificar a variabilidade total da FC e guardam forte relação com a modulação autonômica cardíaca. São bastante usados tanto em nível clínico como experimental, sendo inclusive preditores de mortalidade em doenças como o infarto do miocárdio (KLEIGER et al., 1989). Entretanto, esses índices não fornecem informações robustas sobre a modulação autonômica sob o sistema cardiovascular (SHAFFER et al., 2014; FAZAN Jr; SALGADO, 2017).

Para esse intuito, os índices no domínio da frequência são mais apropriados, baseando-se no reconhecimento e quantificação de ritmos contidos nas séries temporais, cujas faixas de frequências representam a modulação simpática ou parassimpática sob o sistema cardiovascular (AKSELROD et al., 1981; POMERANZ et al., 1985; PAGANI et al., 1986).

A técnica mais conhecida e, comumente, utilizada para avaliação da variabilidade cardiovascular no domínio da frequência é a análise espectral. O estudo dos espectros nas séries de IP e PA consiste em calcular a potência das oscilações (PSD: do inglês *Power Spectral Density*) desses parâmetros em faixas distintas de frequência (FAZAN Jr; SALGADO, 2017, SHAFFER; GINSBERG, 2017). O método mais usual para cálculo espectral é baseado na Transformada Rápida de Fourier (FFT: do inglês *Fourier Fast Transform*), um algoritmo matemático simples, rápido e, amplamente, disponível (PICHON et al., 2006).

Uma comparação muito interessante feita por Bracewell (1989) para melhor compreensão da FFT foi com o processo de decomposição de ondas sonoras em faixas de frequências diferentes, o qual acontece no pavilhão auditivo. De forma similar, o algoritmo matemático “decompõe” o sinal em vários componentes fundamentais distintos (Figura 7). Em humanos, as faixas de interesse para análise da HRV são as de (TASK FORCE, 1996):

- a) Frequências muito lentas (VLF: do inglês *Very Low Frequency*): < 0,05 Hz;
- b) Frequências lentas (LF: do inglês *Low Frequency*): 0,05 a 0,15 Hz;
- c) Frequências rápidas (HF: do inglês *High Frequency*): 0,15 a 0,25 Hz.

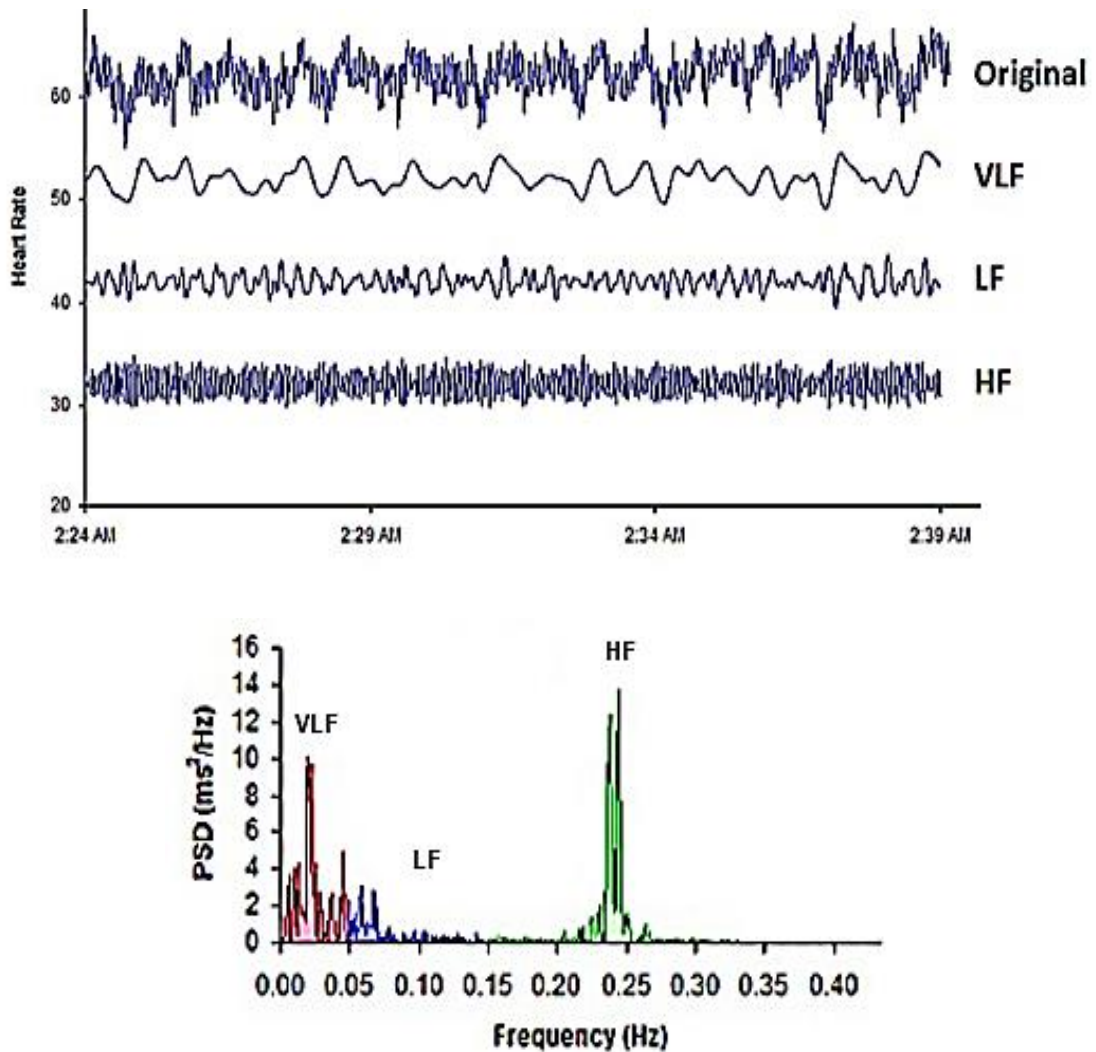


Figura 7. Imagem representativa das diferentes frequências de oscilação em séries de intervalo RR e também da potência do espectro em cada faixa de frequência determinada. Acima: Imagem de um registro de 15 minutos de um indivíduo saudável durante o repouso. O padrão superior representa os valores de FC instantânea, enquanto os ritmos inferiores, derivados da onda original e identificados por meio da FFT, operam em função de diferentes frequências, ao longo do tempo. Abaixo: Imagem do espectro do sinal destacado, por cores, em bandas de frequências diferentes. SHAFFER; GINSBERG, 2017.

Vários estudos muito interessantes demonstram os ritmos oscilatórios da HRV em animais, como o estudo de Kuwahara et al. (1994), no qual constatam que

ratos saudáveis compartilham o padrão de HRV que apresenta flutuações em duas principais faixas de frequência, LF (0,04 - 1,0 Hz) e HF (1,0 - 3,0 Hz).

Uma vez identificados os elementos oscilatórios da FC, a forma mais “adequada” de avaliação da modulação autonômica cardiovascular é a apresentação da PSD da HRV na faixa de LF em unidade normalizada (nu: do inglês, *normalized unit*), que expressa, principalmente, a modulação simpática; e na faixa de HF em unidade absoluta (ms^2 ou s^2), pois essa expressa, somente, a modulação parassimpática (PORTA et al., 2007b).

Então, conhecendo essas medidas, vários estudos começaram a utilizar a análise espectral da HRV durante a influência de agentes anestésicos a fim de observar seus efeitos na modulação autonômica cardiovascular, assim como acessar a profundidade da anestesia (FLEISHER, 1996), tal como o trabalho de Donchin et al. (1985), pelo qual demonstraram a perda da potência total da HRV de pacientes submetidos à combinação de ISO e óxido nítrico, sendo, gradualmente, restaurada durante a recuperação da anestesia.

Nesse mesmo sentido, Latson et al. (1992) examinaram os efeitos da anestesia por tiopental sódico, etomidato ou sufentanil em pacientes sujeitos às cirurgias menores (estudo 1) ou cardíacas (estudo 2). A partir dessa investigação, puderam notar, no estudo 1, que o agente anestésico tiopental foi o que mais deprimiu a HRV total, quando comparado com o hipnótico etomidato, além de observarem uma redução da potência espectral relativa na faixa de HF durante a anestesia pelo barbitúrico, pois é conhecido pelo seu efeito vagolítico. No entanto, embora também reduzindo a HRV total, o uso do sufentanil, no estudo 2, promoveu um significativo aumento da potência espectral na banda de HF, expressa em valores normalizados, assumindo o efeito vagotônico do opióide.

Outro exemplo é o estudo de Zickmann et al. (1996), que apontou mudanças na HRV de pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, durante a indução da anestesia pela combinação de fentanil e midazolam, em diferentes doses e velocidades de aplicação, mostrando a redução da potência espectral na faixa LF em, praticamente, todos os regimes de administração. Nesse trabalho também é apresentado a queda da HRV total de um paciente que recebeu a maior dosagem

de anestésico, sendo aquela observada pela redução do RMSSD e da potência espectral em cada faixa de frequência.

Agora, para a análise da BPV, que é muito parecida com a da HRV, os valores de PA (geralmente sistólica) são extraídos do sinal de PA pulsátil e plotados em séries temporais (Figura 8), o que permite a avaliação pelas diferentes ferramentas de análise.

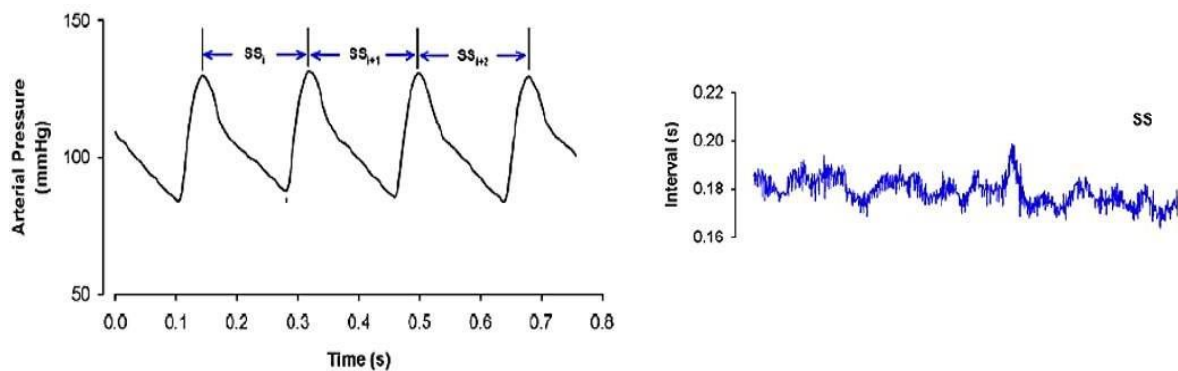


Figura 8. Imagem representativa de um sinal de PA pulsátil (esquerda). A partir desse, pode ser construída uma série de valores sucessivos de PA sistólica, que variam ao longo do tempo (direita), para análise da BPV. DIAS et al., 2016.

Nesse contexto, o trabalho de Ogawa et al. (2006) é muito interessante, pois mostra a PSD da BPV em pacientes antes e durante a anestesia por anestésicos voláteis (combinação de sevoflurano e N_2O) ou intravenosos (combinação de propofol e fentanil). Os pesquisadores reportaram significativa queda do componente LF da BPV durante a anestesia, principalmente, por agentes anestésicos voláteis, enquanto HF não foi alterado, significativamente, em ambos os regimes.

1.2.2 Ferramentas de Análise da Variabilidade: Métodos Não-Lineares

A variabilidade de parâmetros cardiovasculares também é bastante estudada por métodos que avaliam dinâmicas não-lineares da PA e FC. Esses

consideram que as séries temporais não apresentam características matemáticas que seguem as propriedades da linearidade (FAZAN Jr; SALGADO, 2017), pois aquelas são complexas e exibem várias informações, originadas das interações entre diversos sistemas (ACHARYA et al., 2006; SILVA, 2017). Isso resulta em flexibilidade perante situações incertas (BECKERS et al., 2006) e imprevisíveis (STEIN; REDDY, 2005), como, por exemplo, antes de eventos cardiovasculares (GUZZETTI et al., 2005) ou durante a coativação das duas divisões do SNA.

Existem várias ferramentas de análise pelo método não-linear, entre elas a análise simbólica, descrita por Porta et al. (2001), que visa quantificar ritmos lentos e rápidos relacionados com a modulação autonômica sob o sistema cardiovascular (PORTA et al., 2007b; FAZAN Jr; SALGADO, 2017). Já a entropia, que apresenta diversas formas de avaliação (SEELY; MACKLEM, 2004), tem como objetivo mostrar o grau de complexidade do sistema através da imprevisibilidade (ou irregularidade) dos padrões de flutuações presentes nas séries temporais (PORTA et al., 2001; SHAFFER; GINSBERG, 2017).

A análise da flutuação destendenciada (DFA: do inglês *Detrended Fluctuation Analysis*) é uma medida fractal. Fractais são estruturas que se repetem, no tempo e espaço, apresentando propriedades similares as da estrutura original em qualquer escala considerada (IVANOV et al., 1999). Dessa forma, essa análise baseia-se na avaliação do comportamento e do grau de autossimilaridade (ou auto afinidade) das flutuações em diferentes janelas temporais (HARDSTONE et al., 2012; SILVA, 2017).

E, por fim, a fragmentação da FC (HRF: do inglês *Heart Rate Fragmentation*), recentemente, descrita, é um tipo de análise simbólica que aponta, através de uma série de métricas, as mudanças abruptas nas séries temporais de IP. Portanto, essa análise quantifica o padrão de aceleração e desaceleração, isto é, o quão fragmentado está o sinal da FC, batimento a batimento (COSTA et al., 2017a,b).

Então, considerando como um todo as informações aqui apresentadas, certamente, as respostas em um modelo experimental anestesiado são diferentes das observadas enquanto acordado (VLAHAKOS et al., 1985; KANNAN et al., 1989; HEGARTY et al., 1995; BENCZE et al., 2013). Contudo, muitos procedimentos in

vivo necessitam de intervenção anestésica (KRAUS, 1980; MAGGI; MELI, 1986; SHIMOKAWA et al., 1998; KRINKE, 2000; LOGIER et al., 2010), sendo os dados coletados na vigência da anestesia suscetíveis à alterações impostas por esse estado, dificultando sua interpretação (MALJCK et al., 1961; MAUCK et al., 1961; JANSSEN et al., 2004; FUJIWARA et al., 2007).

Hipótese e Objetivo

Portanto, nossa hipótese foi a de que diferentes anestésicos diminuam a HRV, BPV e a complexidade do sistema cardiovascular de ratos de formas diferentes. A partir dela, nosso objetivo geral foi avaliar os efeitos da combinação de ketamina+xilazina (KX), uretana (URE) ou isoflurano (ISO) na variabilidade dos parâmetros hemodinâmicos de ratos, através de ferramentas clássicas e modernas, não invasivas, de análise da HRV e BPV.

Material e Métodos

O presente estudo resulta da análise de registros de PA, previamente, realizados por nós, durante meu Trabalho de Conclusão de Curso. Os experimentos que originaram os registros de PA avaliados seguiram os protocolos, as normas e os princípios éticos de experimentação com animais de laboratório estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto,

Universidade de São Paulo (Nº de Permissão 132/2017).

2.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar jovens (n=30; 270 a 320g) provenientes do Biotério Central da Prefeitura do Campus da Universidade de São Paulo, em Ribeirão Preto. Estes animais foram mantidos, em grupos de 5, em microisoladores fechados (Alesco, Monte Mor, SP) e acondicionados em estantes com circulação de ar filtrado no Biotério de Ratos do Prédio Central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Estes também continham água e ração ad libitum em ambiente com temperatura e umidade controlada, e ciclo claro-escuro de 12 h.

2.2 Procedimento Cirúrgico

Todos os ratos foram submetidos à cirurgia de cateterização da artéria femoral esquerda, como apresentado por Jespersen et al. (2012), e que, de forma sucinta, consistiu em realizar uma incisão na região inguinal do rato, sob anestesia por KX (50 e 10 mg/kg, i.p., Agener®, Brasil), visando expor a artéria femoral para que um cateter de polietileno, previamente preenchido com solução salina isotônica, fosse introduzido em seu interior para acesso direto da PA. No final do procedimento, o cateter foi selado por um *plug* e transpassado, por via subcutânea, até o dorso do pescoço. Os ratos receberam o analgésico cloridrato de tramadol (2 mg/kg, s.c., Agener®, Brasil) e foi aguardado um período de 48 h para recuperação cirúrgica antes da coleta de dados.

2.3 Protocolo Experimental

Para avaliação dos efeitos dos 3 diferentes agentes anestésicos na PA e FC, os animais foram divididos em 3 grupos experimentais (n=10).

Após 2 dias da cirurgia, os ratos foram levados ao laboratório de registros e o cateter arterial foi conectado a um transdutor de pressão (ADInstruments, Sydney, AU) acoplado a um amplificador de sinal (Bridge Amp FE221, ADInstruments, Bella

Vista, Australia). A partir desse, o sinal foi amostrado (2 kHz) através de um sistema de registro analógico-digital (PowerLab 4/40, ADInstruments, Sydney, AU).

Depois de um período de adaptação ao ambiente do laboratório, foi registrada a PAbasal dos ratos, durante 30 min, com os mesmos acordados e com livre movimentação. Então, sob registro contínuo da PA, os ratos foram anestesiados com KX (50 e 10 mg/kg, respectivamente, i.p.), URE (1 g/kg, i.p.) ou ISO (3-5% para indução e 1% para manutenção da anestesia em ar enriquecido com oxigênio), dependendo do grupo. Para anestesia inalatória com ISO, o registro precisou ser, momentaneamente, interrompido para que os animais fossem colocados numa câmara de indução anestésica. Mas, assim que o estado anestésico fosse alcançado, o registro hemodinâmico era reestabelecido. O nível da anestesia foi avaliado a partir do teste de pinçamento da pata.

Seguido da administração de cada agente, o registro da PA pulsátil permaneceu, continuamente, por mais 30 min. Por fim, após o término do experimento, os ratos foram eutanasiados por sobredose de KX.

2.4 Análise de Dados

O tempo de indução da anestesia para cada animal, isto é, o período de transição do estado acordado para o estado de inconsciência com ausência de resposta ao pinçamento da pata, quando o animal está pronto para ser operado, foi anotado.

Para o estudo da HRV e BPV, foram selecionados os trechos de 30 min que antecederam a manipulação do animal e administração do anestésico, representando o estado acordado; e de 30 min após o tempo de indução, representando o estado anestesiado. Vale a pena ressaltar que para evitar o registro da PA com o animal estressado, os 10 primeiros minutos foram desconsiderados.

Após essa determinação, os valores de IP e PA sistólica foram extraídos por meio do programa computacional *Blood Pressure Module for LabChart* (ADInstruments, Dunedin, NZ), exportados e plotados em séries temporais de IP e PA sistólica, respectivamente. As séries geradas foram, cuidadosamente,

inspeccionadas e os valores espúrios das mesmas, oriundos de artefatos de registro, batimentos prematuros e/ou ectópicos, foram corrigidos com o auxílio do programa computacional PyBios, desenvolvido em nosso laboratório (SILVA et al., 2020).

Esses valores espúrios das séries temporais foram corrigidos de modo semi-automático. O cálculo da linha de base da série foi calculado por meio de uma média móvel de tamanho μ . Limites (superior e inferior) foram definidos a cada ponto da série como a linha de base $\pm \tau$ (fator de tolerância). Valores fora da faixa de tolerância foram corrigidos por interpolação linear. Salientamos que a taxa de correção de valores não excedeu 5% dos valores originais, como recomendada na literatura (SALO et al., 2001).

A Figura 9 mostra uma captura de tela da janela utilizada para a correção dos artefatos, ilustrando a correção da série temporal (SILVA et al., 2020). Na janela, é possível visualizar quantas amostras serão interpoladas.

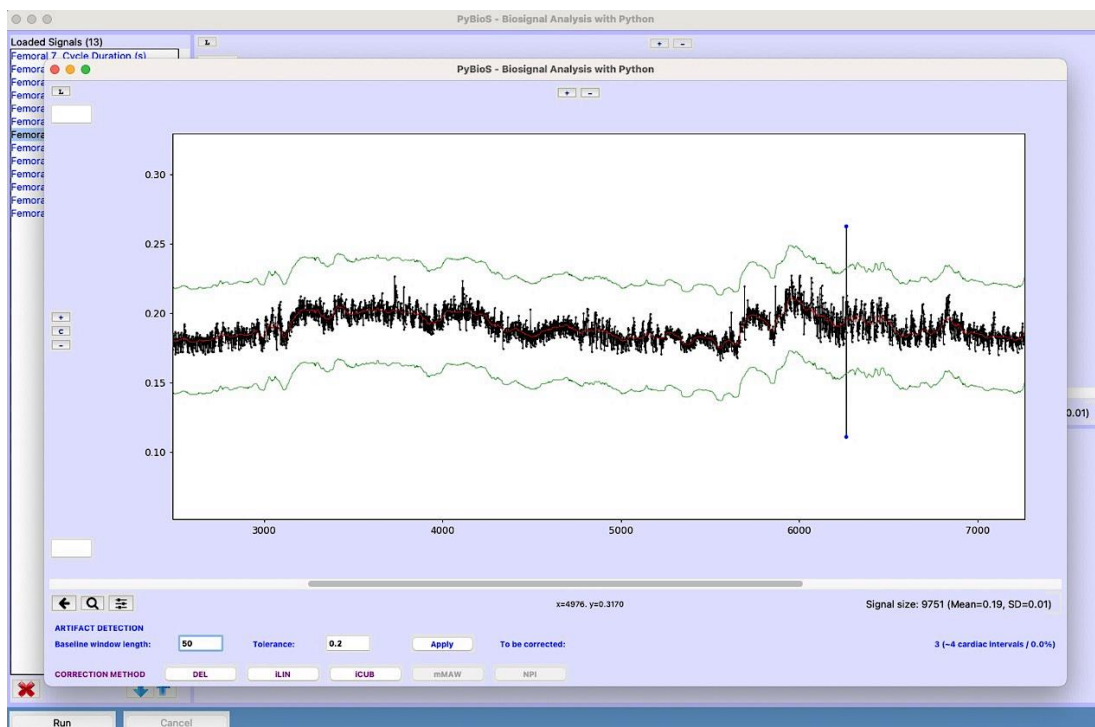


Figura 9. Tela da correção dos artefatos no programa PyBios. O gráfico mostra o sinal original (em preto), a curva da linha de base (em vermelho) e os dois limites de tolerância (em verde). Os pontos do sinal original qualificados para correção

estão destacados em azul. A curva da linha de base foi calculada por meio de uma média móvel com o tamanho da janela definido pelo usuário. Os dois limites de tolerância são definidos como a curva da linha de base deslocada para cima e para baixo em uma porcentagem também definida pelo usuário.

Assim, por meio das séries temporais divididas em (1) antes e (2) durante a anestesia, ambas com 30 min de duração, e corrigidas, foi realizada a análise dos índices de HRV e BPV também por meio do programa computacional PyBios.

No domínio do tempo, foram calculados, para a HRV, os parâmetros SDNN e RMSSD do IP (ms), enquanto para a análise da BPV foi considerado apenas o SD dos valores médios de PA sistólica (mmHg). Para o cálculo dessas medidas, as séries de 30 min foram segmentadas em janelas com comprimento igual a 500 valores com sobreposição de 50% entre os segmentos.

No domínio da frequência, foi utilizada a análise espectral como forma de avaliação da potência dos espectros referentes às oscilações na HRV e na BPV. Os valores sucessivos de IP e de PA sistólica foram reamostrados em 10 Hz por interpolação cúbica do tipo spline e segmentados a cada 512 valores com sobreposição de 50%. Após janelamento do tipo Hanning, os segmentos tiveram a potência dos seus espectros calculados por FFTe integrados nas bandas de LF (0,2 a 0,8 Hz) ou HF (0,8 a 3 Hz). Para análise da HRV, foram consideradas as potências dos espectros da FC na faixa de LF (nu) e também na faixa de HF (ms^2). Já a potência do espectro da PA foi considerada apenas na faixa de LF (mmHg^2).

Na análise simbólica, os valores das séries temporais de IP e PA sistólica foram convertidos em sequências de símbolos. Para isso, os valores das séries, segmentados a cada 500 pontos e com sobreposição de 50%, foram divididos em 6 faixas homogêneas a partir dos valores máximo e mínimo de cada segmento. Em seguida, os valores foram simbolizados pela faixa em que se localizavam. Então, sequências de 3 símbolos foram analisadas; classificadas em 4 famílias: 0V (variações que não mudam de faixa), 1V (1 variação), 2LV (2 variações na mesma direção) ou 2UV (2 variações em direções diferentes) (Figura 10), de acordo com o número de variações de símbolos; e quantificadas, considerando a porcentagem de ocorrência de cada uma (PORTA et al., 2001; GUZZETTI et al., 2005; SILVA, 2017).

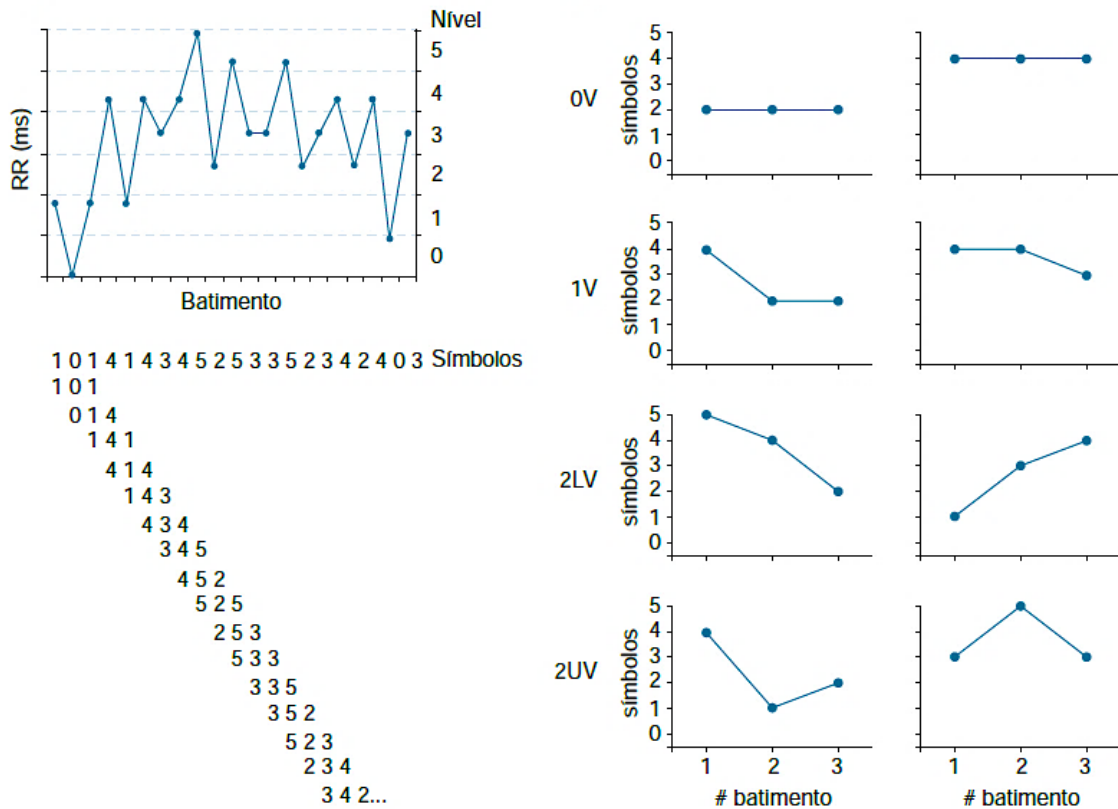


Figura 10. Imagem representativa da avaliação da HRV pela análise simbólica. A série original de intervalos RR é convertida em símbolos, sequenciados de acordo com o nível em que os valores estão situados. A partir disso, sequências de 3 símbolos são agrupadas em famílias (0V, 1V, 2LV ou 2UV) e quantificadas com base na taxa de ocorrência de cada um, sendo correlacionadas com eventos de interesse. SILVA, 2017. Adaptado de PORTA et al., 2001; GUZZETTI et al., 2005.

Quando olhamos para as sequências da família 0V, nota-se um padrão de símbolos que não varia fora de uma faixa de valores determinada, durante um período de 3 batimentos cardíacos, e, portanto, associado às oscilações lentas presentes na FC ou na PA. Por outro lado, quando olhamos para as sequências do tipo 2UV, percebe-se um padrão simbólico que varia muito, isto é, fora de uma faixa de quantização determinada, representando as flutuações rápidas no sinal de FC. Assim, essa quantificação permite relacionar a presença de cada família com a modulação autonômica cardiovascular (SILVA, 2017; SILVA et al., 2017).

A entropia multiescala (MSE: do inglês *Multiscale Entropy*), um importante

framework para o estudo da HRV e BPV, se relaciona, perfeitamente, com o conceito de “complexidade”, que, nesse contexto, está relacionado ao comportamento irregular das séries temporais, ou seja, quanto mais imprevisíveis são as flutuações, isto é, não seguem um padrão que se repete, mais complexo é o sinal (Figura 11). Essa imprevisibilidade, resultado da influência de diversos fatores sob o sistema cardiovascular, como aspectos fisiológicos e/ou patológicos (CASTIGLIONI et al., 2019), é detectada a partir do estudo da entropia em diferentes escalas temporais, o que fornece o grau de informação do sistema.

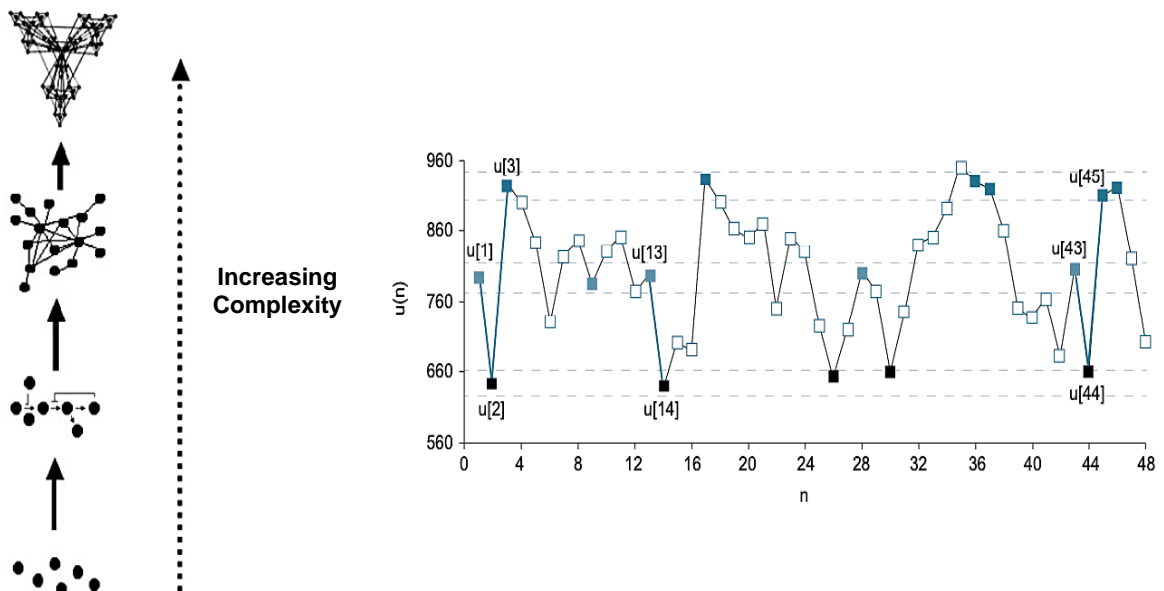


Figura 11. Imagem representativa do comportamento irregular das flutuações contidas na série temporal, sendo o padrão mais imprevisível o maior grau de complexidade, que está relacionado com o grau de informação do sistema e, portanto, a entropia. A análise pela MSE busca por padrões de sequências que se repetem (marcados em azul) na série temporal, os quais são mais previsíveis. Compilação do autor. SHARMA, 2009, adaptado de OLTVAI; BARABASI, 2002; SILVA, 2017, adaptado de COSTA et al., 2017.

Para isso, são formadas séries (“y”) em cada escala temporal, isto é, séries escalonadas (Figura 12), através da média de pontos consecutivos (N/τ), sem

sobreposição, considerando o número de escalas (τ), previamente, definido, e o número de pontos (N) na série. A escala 1 é a própria entropia, na escala 2 é feita a média de 2 pontos, na escala 3, feita a média de 3 pontos, e assim por diante. Dessa forma, é feito o cálculo da entropia em cada escala e, assim, investigada a complexidade do sistema.

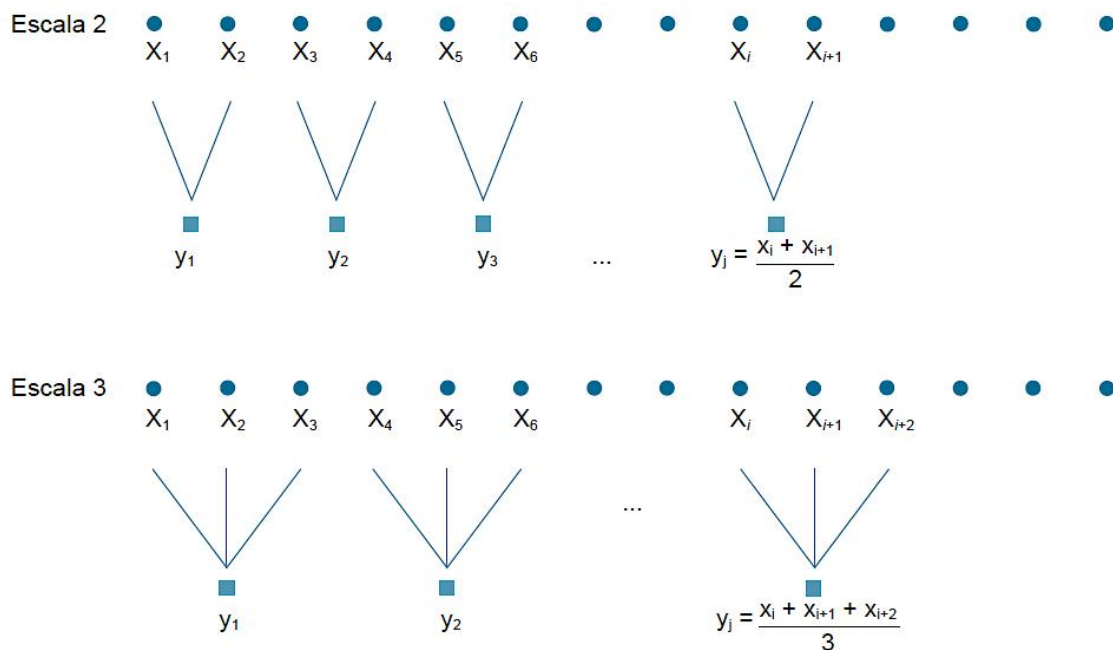


Figura 12. Imagem representativa da construção de uma série escalonada para avaliação da HRV pela MSE. Séries são construídas em diferentes escalas (τ). Em cada uma delas, uma série “y” é gerada a partir da média de pontos consecutivos (N) em função da escala em questão (N/τ), sem sobreposição. A figura demonstra o exemplo para $\tau=2$ e $\tau=3$, sendo “x” a série original e “y” a serie resultante. SILVA, 2017. Adaptado de COSTA et al., 2005.

No presente estudo foram geradas curvas de entropia em função da escala temporal ($\tau=20$). É interessante, inclusive, avaliar a MSE através da sua média em determinados intervalos de escala. Portanto, a complexidade do sistema também foi analisada em grupos de escalas de 1 a 6 e 7 a 20.

Já a avaliação pela DFA foi pela primeira vez descrita por Ary Goldberger

(1991; 1996), que discorreu, de uma forma muito elegante, o comportamento autossimilar de vários sistemas biológicos, tanto de forma estatística quanto de forma temporal. Isso significa que a estrutura apresenta padrões que, quando comparados em diferentes escalas, são similares aos da escala maior, isto é, à estrutura original (GOLDBERGER, 1996; GOLDBERGER et al., 2002). Isso é bem interessante, pois não só várias estruturas fisiológicas funcionam dessa forma (ABBOUD et al., 1991; WEIBEL, 1991; BASSINGTHWAIGHTE et al., 1994; GOLDBERGER, 1997), como a rede vascular (WEST et al., 1997; CASTIGLIONI et al., 2017) e neuronal, a ramificação de alguns feixes de condução elétrica no coração e a árvore traqueobrônquica (GOLDBERGER et al., 2002), mas como isso é visto na própria natureza, como no padrão das nervuras das folhas e na estrutura dos flocos de neve (Figura 13).

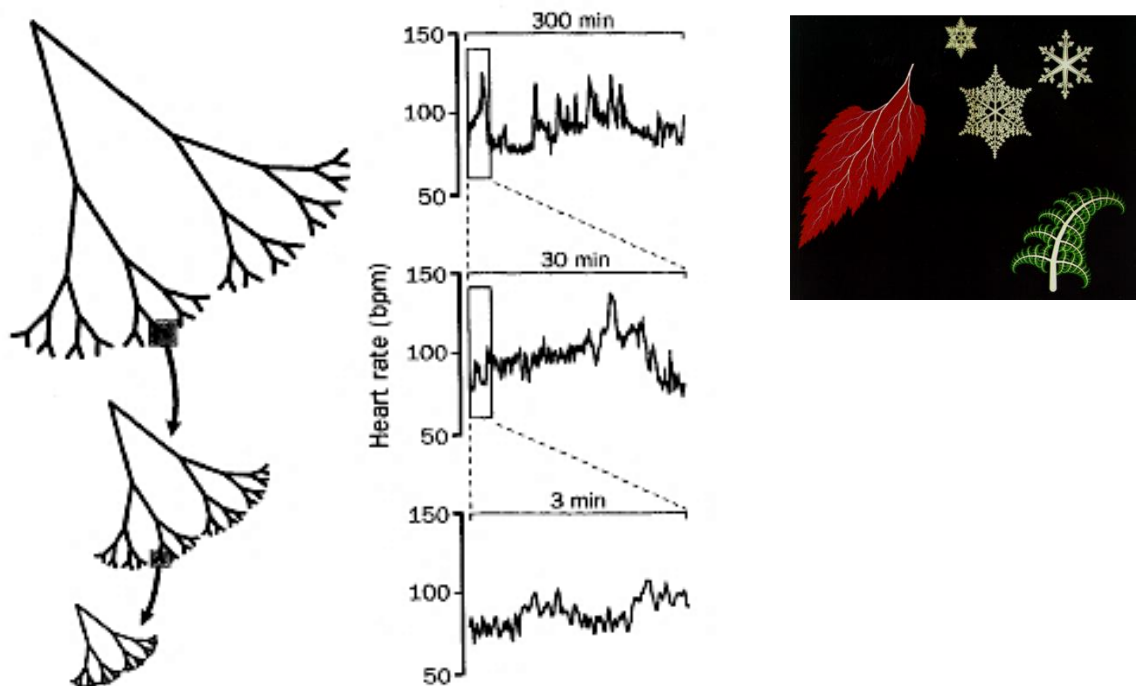


Figura 13. Imagem representativa da propriedade autossimilar, relacionada à dinâmica fractal, quando a estrutura da escala menor é similar à estrutura da escala maior. Essa característica é comum na natureza, ocorrendo tanto no sinal de FC quanto nas nervuras das folhas e até na estrutura dos flocos de neve. OPPENHEIMER, 1986; GOLDBERGER, 1996.

Essa característica autossimilar está relacionada com a dinâmica fractal e as

flutuações presentes nessa dinâmica são representadas por meio de uma equação que segue uma lei de potência (EKE et al., 2002; SILVA, 2017) e, por isso, apresenta um expoente, denominado α , que reflete o grau de correlação das flutuações entre as diferentes janelas temporais.

Como o índice fractal pode ser avaliado em diferentes janelas temporais, o expoente α é chamado de expoente de escala e se for analisado nas em janelas curtas, geralmente, é conhecido como expoente de curto alcance. Se for analisado em janelas longas, normalmente, é conhecido como expoente de longo alcance.

Por ser um método recente, a literatura ainda é limitada, porém, observou-se que as séries de IP em indivíduos saudáveis possuem estrutura fractal com expoente bem próximo de 1.0. Neste valor, a relação de escala entre as flutuações da FC e o tamanho do intervalo de tempo considerado é, exatamente, de 1 para 1. Portanto, essa condição é, usualmente, entendida como a máxima estrutura fractal da série. Qualquer desvio deste valor (maior ou menor que 1), pode ser considerado como perda de estrutura fractal (SILVA, 2017).

Para a avaliação, o *software* calculou a série acumulada pelo processo chamado de mapeamento da DFA (Figura 14), o qual facilita a visualização da dinâmica fractal da série. Logo após, essa foi fragmentada em janelas de tamanho "n", sem sobreposição, onde, em cada uma, uma reta segue a tendência dos valores, que depende da série acumulada e da série original. A partir da diferença entre a reta de tendência e a série acumulada, foi formada a série acumulada destendenciada, na qual aplica-se a raiz quadrática média para obter as informações sobre o grau de correlação das flutuações da série entre cada janela (SILVA et al., 2015).

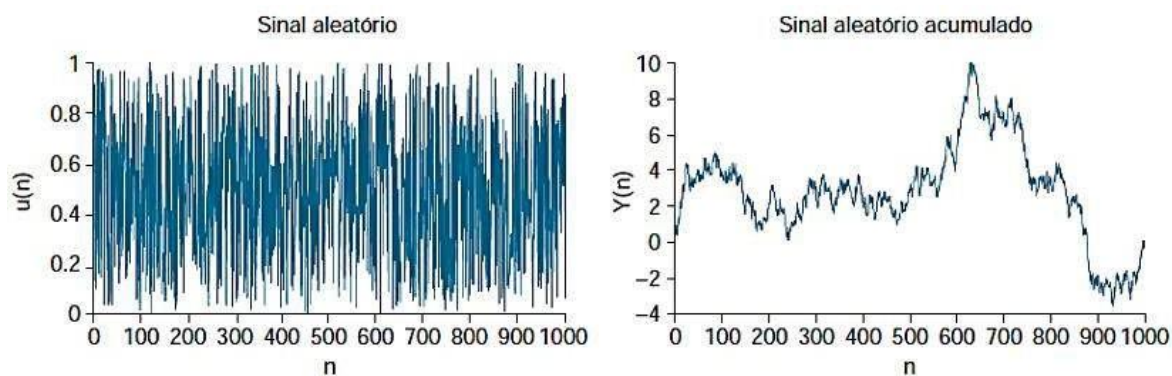


Figura 14. Imagem representativa do mapeamento da DFA para avaliação da HRV. O sinal original é transformado em uma série acumulada, onde é possível observar as propriedades fractais da série. Após o mapeamento, essa é destendenciada para revelar o grau de correlação das flutuações entre janelas de tamanho “n”. SILVA, 2017.

Para a análise da HRV através dessa ferramenta, alguns estudos sugerem que a série tenha, pelo menos, 8.000 pontos (PENG et al., 2000), porém não existe um número de janelas padronizado (SILVA, 2017). Portanto, foram utilizadas séries contendo mais que 8.000 pontos e *scaling range* $(n)=5-15$ e $100-1000$ para análise da DFA em séries de IP, apenas.

Por fim, o último método de avaliação da HRV realizado no nosso estudo foi a análise da HRF. Descrita por Costa et al. (2017a), essa abordagem visa identificar variações abruptas de aceleração e desaceleração (ou vice-versa) entre os intervalos RR ou IP consecutivos, batimento a batimento, as quais formam um perfil de reversão (transição entre aceleração e desaceleração na FC) no sinal de FC (COSTA et al., 2017b; COSTA et al., 2018).

Essa reversão forma pontos de inflexão na série temporal, o que corresponde à HRF. De acordo com Costa et al. (2017a) e Costa e Goldberger (2019), matematicamente, quanto maior o número de pontos de inflexão, mais fragmentada a série está e, portanto, tem um padrão menos fluente.

Além disso, um outro ponto importante é a frequência em que as transições

acontecem. Embora os ritmos oscilatórios rápidos estejam relacionados à modulação parassimpática sob o coração (ANGELONE; COULTER, 1964; HIRSCH; BISHOP, 1981), os padrões de reversão acontecem em um ritmo ainda mais rápido que os associados à RSA (MAKIKALLIO et al., 1999; DOMITROVICH; STEIN, 2002; STEIN, 2002; WIKLUND et al., 2008; COSTA et al., 2017a, b; COSTA et al., 2018; COSTA; GOLDBERGER, 2019).

Dessa forma, como essas mudanças ultrarrápidas na FC não estão ligadas à modulação vagal cardíaca natural, são chamadas de anormais ou erráticas (COSTA et al., 2017a) e esses ritmos são, claramente, observados durante certas condições. Costa et al. (2018), um dos grupos mais ativos nessa área, mostrou o aumento de ritmos fragmentados no sinal de FC em pacientes com doença arterial coronariana quando comparado com o de indivíduos saudáveis (Figura 15).

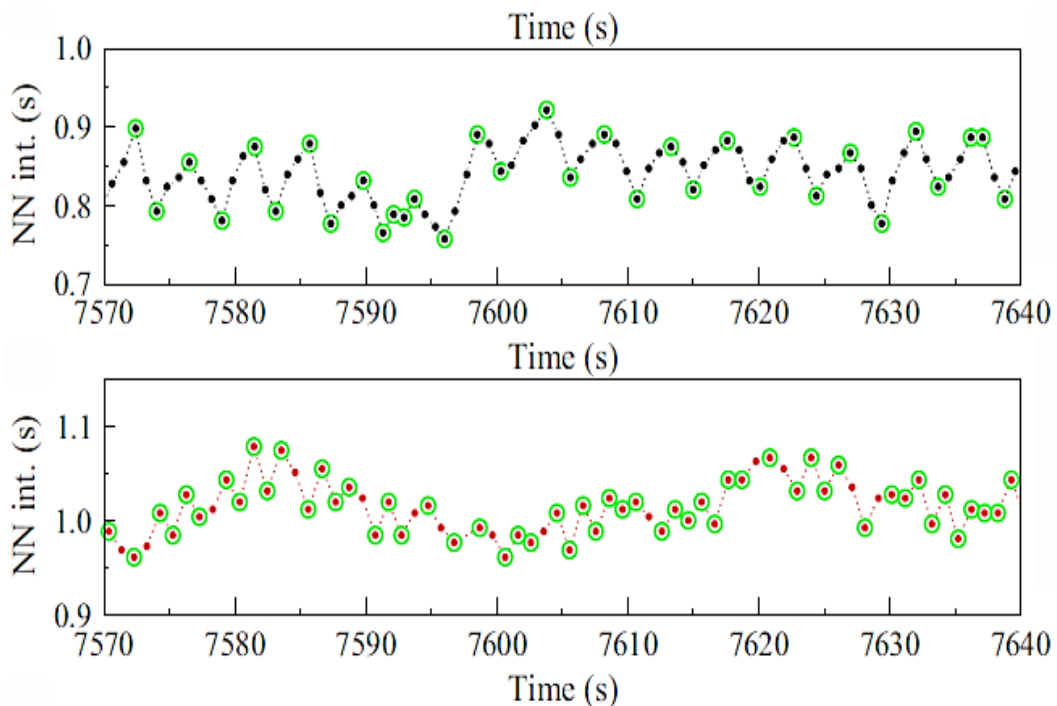


Figura 15. Imagem representativa do padrão de reversão nas séries temporais de um indivíduo saudável durante o sono (acima) e de um paciente com doença arterial coronariana (abaixo), cujo sinal de FC é muito mais fragmentado quando comparado com o primeiro. COSTA et al., 2018.

Para essa análise, cujo processo também é uma análise simbólica, o

software mapeou as mudanças de aceleração e desaceleração na série de IP, sendo esses valores transformados em símbolos (ou palavras) e agrupados em sequências com 4 palavras (*W: word*). Se a sequência apresenta 1 ponto de inflexão, ela pertence ao grupo W1, se apresenta 2 pontos de inflexão, ao grupo W2 e 3 pontos de inflexão, ao W3. Quando não há transição de um símbolo para outro, ou seja, não existe ponto de inflexão, a sequência pertence ao grupo W0. Após essa categorização dos grupos de palavras, foi obtida a porcentagem de ocorrência de cada grupo (COSTA et al., 2017 a,b).

2.5 Análise Estatística

Para a análise estatística tanto dos valores médios de IP e PA sistólica quanto dos métodos utilizados para a avaliação da HRV e BPV, foi utilizado o teste T para amostras pareadas, visando comparar as diferenças entre as condições antes e depois, isto é, estado “acordado” e “anestesiado” dentro de cada grupo (KX, URE ou ISO). Quando a distribuição dos valores não era considerada normal, aplicou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon. Foi considerada significância estatística quando $p < 0,05$. Os dados são expressos como média \pm erro padrão da média.

Resultados e Discussão

A anestesia geral é um estado que envolve grandes perturbações hemodinâmicas (DUKE; TROSKY, 1980; OHSUMI et al., 1989; GALLETLY et al., 1994; KOMATSU et al., 1995; ZICKMANN et al., 1996; HUANG et al., 1997; AKINE et al., 2001; FUJIWARA et al., 2007). Assim, mesmo que combinados com outros agentes farmacológicos para minimizar esse impacto, os anestésicos, certamente, afetam o controle do sistema cardiovascular (WELLINGTON et al., 2013).

No nosso trabalho, nós padronizamos, segundo Flecknell et al. (2015) e

Flecknell e Thomas (2015), as doses utilizadas para cada agente anestésico estudado, assim como a via de administração e o trecho considerado para análise, já que, geralmente, o estado de anestesia provocado por KX tem duração de, aproximadamente, 30 min.

Frequentemente, a aplicação de KX, em ratos, é feita através de uma única injeção intraperitoneal (*in bolus*). No entanto, como outros investigadores (VAN PELT, 1977; GREEN, 1981, 1982; SMITH, 1993; FLECKNELL, 1996), nós notamos que a profundidade da anestesia é, de certa forma, variável entre os animais do grupo, podendo acontecer de uma dose não ser suficiente para atingir o estado anestésico cirúrgico em alguns ratos.

Quando o estado anestesiado não era alcançado após a fase de indução, verificado através da ausência do reflexo de retirada da pata perante estímulo nocivo, era aplicada uma dose adicional menor (~1/2 da dose inicial). Vários fatores podem contribuir para essa variabilidade individual, entre eles fatores metabólicos, ambientais, idade e sexo dos animais (STRUCK et al., 2011).

Também consideramos o período de 48 h após a cirurgia para registro direto da PA como margem de recuperação completa dos efeitos de KX, mesmo que encontrado, em alguns estudos com condições semelhantes, recuperação dos parâmetros hemodinâmicos entre 100 a 210 min após a administração desse anestésico (PICOLLO et al., 2012; KUMAR; CLOVER, 2015).

O modelo experimental selecionado foi o rato, um dos animais mais utilizados para pesquisa em vários laboratórios mundo a fora, pois fornece diversas vantagens, entre elas o fácil manuseio e acesso à diversos índices biológicos (KRAUS, 1980; KRINKE, 2000; FLECKNELL et al., 2015).

E, por fim, a escolha dos agentes anestésicos se deve ao fato de serem, regularmente, utilizados em vários procedimentos cirúrgicos, tanto na prática clínica quanto na pesquisa experimental (MAGGI; MELI, 1986; ALBRECHT et al., 2014; REDFORS et al., 2014; KUMAR; CLOVER, 2015).

A ketamina é bem conhecida por ser um agente anestésico antagonista, não competitivo, do receptor ionotrópico NMDA (ANIS et al., 1983), com uma ampla

gama de efeitos, entre eles, catalepsia (rigidez muscular), analgesia, amnésia, imobilidade (AZIZ; MARTIN, 1978; BRANSON, 2001; PLUMB, 2005, 2011), hipnose (em doses menores) (SUMITRA et al., 2004; REDFORS et al., 2014; DAMIAN; HERLICH, 2015), inconsciência (em doses maiores) (SLEIGH et al., 2014) e, também, efeitos cardioexcitatórios (BARRIGON et al., 1982).

Levando isso em conta, a ketamina é, geralmente, um anestésico adjunto, usado em combinação com outros agentes farmacológicos, principalmente, os agonistas de receptores α_2 adrenérgicos, como a detomidina, medetomidina, xilazina (SCHWARTZ; CLARK, 1998) e clonidina (GREENE; THURMON, 1988), característicos por proporcionarem vários efeitos, entre eles, sedação, analgesia (DE SARRO et al., 1987) e notável relaxamento muscular (WIXSON, 1997; BUITRAGO et al., 2008; BARLETTA et al., 2011), além de diminuir as alterações cardiovasculares adversas causadas pela ketamina (MOENS; FARGETTON, 1990).

Portanto, a combinação KX é, frequentemente, escolhida, principalmente, em experimentos com roedores (BUIRAGO et al., 2008). É muito utilizada para cirurgias (SMILER et al., 1990) e para estudo da função cardíaca em pequeno animais, através de ecocardiografia (PLANTE et al., 2006), pois gera um estado de anestesia, moderadamente, profundo e seguro (GAERTNER et al., 2008).

A anestesia por URE é bastante duradoura (MAGGI; MELI, 1986), já sendo observado um efeito de mais de 8 h de duração (LINCOLN et al., 1973). Essa é uma das razões pela qual esse anestésico é, na maioria das vezes, escolhido para procedimentos laboratoriais de longa duração (FIELD et al., 1993), onde os dados são coletados sob efeito da anestesia.

Também, além de ser um potente relaxante muscular, o anestésico URE, segundo alguns trabalhos realizados em ratos, parece preservar, em doses cirúrgicas, a neurotransmissão em algumas estruturas subcorticais (ANGEL; UNWIN, 1970) e apresentar um menor efeito depressor na atividade cerebral, quando comparado com outros anestésicos (LINCOLN, 1969). Ademais, dependendo da via de administração, URE parece não apresentar grande influência no sistema cardiovascular (GONSENHAUSER et al., 1985; CLEMENT et al., 2008;

FLECKNELL; THOMAS, 2015; GIROUX et al., 2015).

Logo, alguns estudos consideram sensata a escolha por URE em experimentos agudos ou crônicos (EL-MAS; ABDEL-RAHMAN, 1997; WANGER et al., 2013), quando o objetivo é investigar tanto respostas autonômicas reflexas (SOLLMAN, 1949; BARNES; ELTHERINGTON, 1964; STROBEL; WOLLMAN, 1969; SEVERS et al., 1981) quanto a liberação de neurotransmissores, em particular, o GABA (MAGGI; MELI, 1986).

Entretanto, é recomendado ao pesquisador o uso de instrumentos de proteção durante o manuseio do anestésico, assim como não permitir a recuperação do animal de experimentação sob efeito de URE, pois esse apresenta propriedades carcinogênicas (FLECKNELL; THOMAS, 2015).

Já os agentes inalatórios, em concentrações anestésicas, são muito conhecidos por atuarem na neurotransmissão inibitória mediada por glicina e, especialmente, por GABA. Para isso, eles agem de várias formas como, por exemplo, potencializando a abertura dos receptores pós-sinápticos GABAérgicos (FRANKS, 2008; KOPP LUGLI et al., 2009), permitindo a entrada de íons Cl^- na célula (efeito hiperpolarizante). Assim, interferem na excitabilidade neuronal (JONES et al., 1992; JONES; HARRISON, 1993; UHRIG et al., 2014) e provocam efeitos como neurodepressão (FRANKS, 2006, 2008) e inconsciência (BAI et al., 1999), característicos da ação dos anestésicos gerais.

Um dos mais conhecidos é o ISO (CHUNG et al., 2013), anestésico volátil da família dos halogenados, muito bem documentado na literatura e, comumente, escolhido em diversas práticas cirúrgicas, tanto em humanos como em animais (FLECKNELL, 2009). Isso se deve as suas diversas vantagens (BERG-JOHNSEN; LANGMOEN, 1992), como o fácil ajuste do nível da anestesia (GARGIULO et al., 2012), além da rápida indução e recuperação da mesma (TSUKAMOTO et al., 2016). Aliás, como é eliminado do organismo sem passar pelo processo de biotransformação (FLECKNELL; THOMAS, 2015), ISO é uma boa opção para estudos metabólicos e toxicológicos (EGER, 1981).

Assim, apesar do efeito depressor, dose-dependente, dos anestésicos inalatórios no sistema cardiovascular (FLECKNELL, 2009; FLECKNELL et al.,

2015), eles parecem interferir menos que alguns agentes injetáveis.

Diante disso, a escolha do anestésico geral é um importante fator a ser considerado, pois esse afeta, sobremaneira, o sistema nervoso, alterando a modulação dos parâmetros hemodinâmicos (DONCHIN et al., 1985; LATSON et al., 1992; HOWELL et al., 1995; ZICKMANN et al., 1996; NAKATSUKA et al., 2002).

A avaliação da HRV e da BPV é uma ferramenta segura e não-invasiva para acessar a regulação autonômica cardiovascular (AKSELROD et al., 1981; MALLIANI et al., 1991; VAN RAVENSWAALL ARTS et al., 1993; LOGIER et al., 2016) em diversas condições, como, por exemplo, durante a anestesia. Porém, a experiência sobre a modulação autonômica durante esse estado ainda é limitada quando se trata de animais, e em especial, de roedores.

Nesse sentido, nosso trabalho tem a intenção de contribuir para o estudo dos efeitos de 3 agentes anestésicos (KX, URE ou ISO) na regulação autonômica cardiovascular, em ratos, através da análise da HRV e BPV por meio de ferramentas lineares tradicionais (domínio do tempo e análise espectral) e não-lineares (análise simbólica, MSE, DFA e HRF), pois essas informações estão em falta na literatura, principalmente, em relação aos métodos não-lineares, propostos recentemente.

3.1 Tempo de Indução da Anestesia

A figura 16 representa os valores médios do tempo de indução da anestesia por cada agente anestésico estudado (KX, URE ou ISO). Podemos notar que ISO é o que apresenta menor tempo para indução anestésica. Em seguida, observou-se URE e, por último, KX, com o maior tempo de indução.

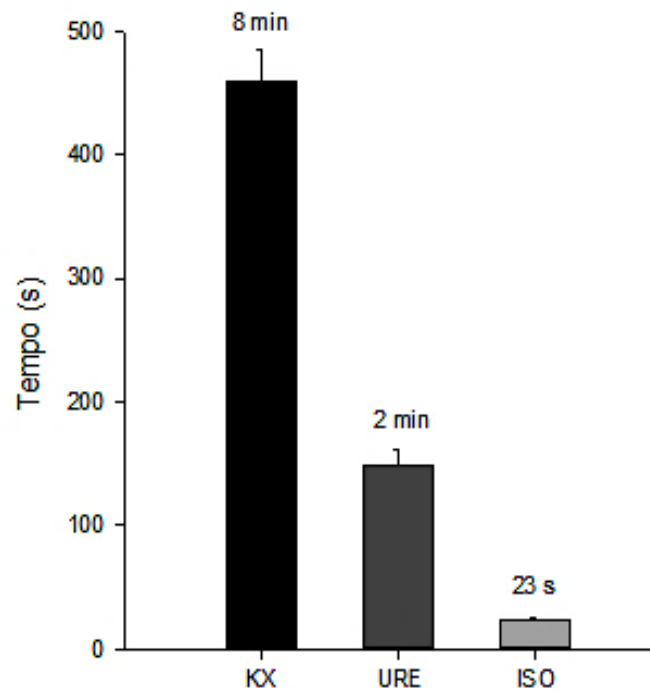


Figura 16. Valores médios do tempo de indução (s) da anestesia pelos agentes anestésicos KX, URE ou ISO. KX: ketamina+xilazina, URE: uretana, ISO: isoflurano.

No que diz respeito a ISO, é bastante conhecido o seu rápido tempo de indução, além de um curto e seguro período de recuperação da anestesia (SUCKOW et al., 2005). Quanto à URE, sua rápida indução anestésica, quando administrado pela rota intraperitoneal, também foi citada no trabalho de Maggi e Meli (1986). Já o estudo de Picollo et al. (2012) demonstrou que, após a administração de KX em ratos Wistar, também por via intraperitoneal, o estado anestesiado foi atingido somente por volta de 10 min. Esse tempo é próximo do encontrado por Kumar e Clover (2015), que observaram um período de, aproximadamente, 6 min, com uma dose de anestésico um pouco maior e em ratos da linhagem Fisher.

3.2 Parâmetros Hemodinâmicos: PA e FC

Os traçados representativos da Figura 17 representam os efeitos nos

parâmetros hemodinâmicos PA (mmHg) e FC (bpm), causados pela anestesia por KX, URE ou ISO. Cada traçado equivale ao registro de um rato de cada grupo.

O primeiro trecho visualizado são os 30 min antes da aplicação do anestésico. A flecha sinaliza o momento da manipulação do animal e administração da anestesia. O trecho seguinte representa o momento de indução e manutenção da anestesia até o final do experimento. Destaca-se que, para indução de ISO, o registro foi interrompido em razão do deslocamento do animal até a câmara anestésica para indução da anestesia, momento representado pela lacuna.

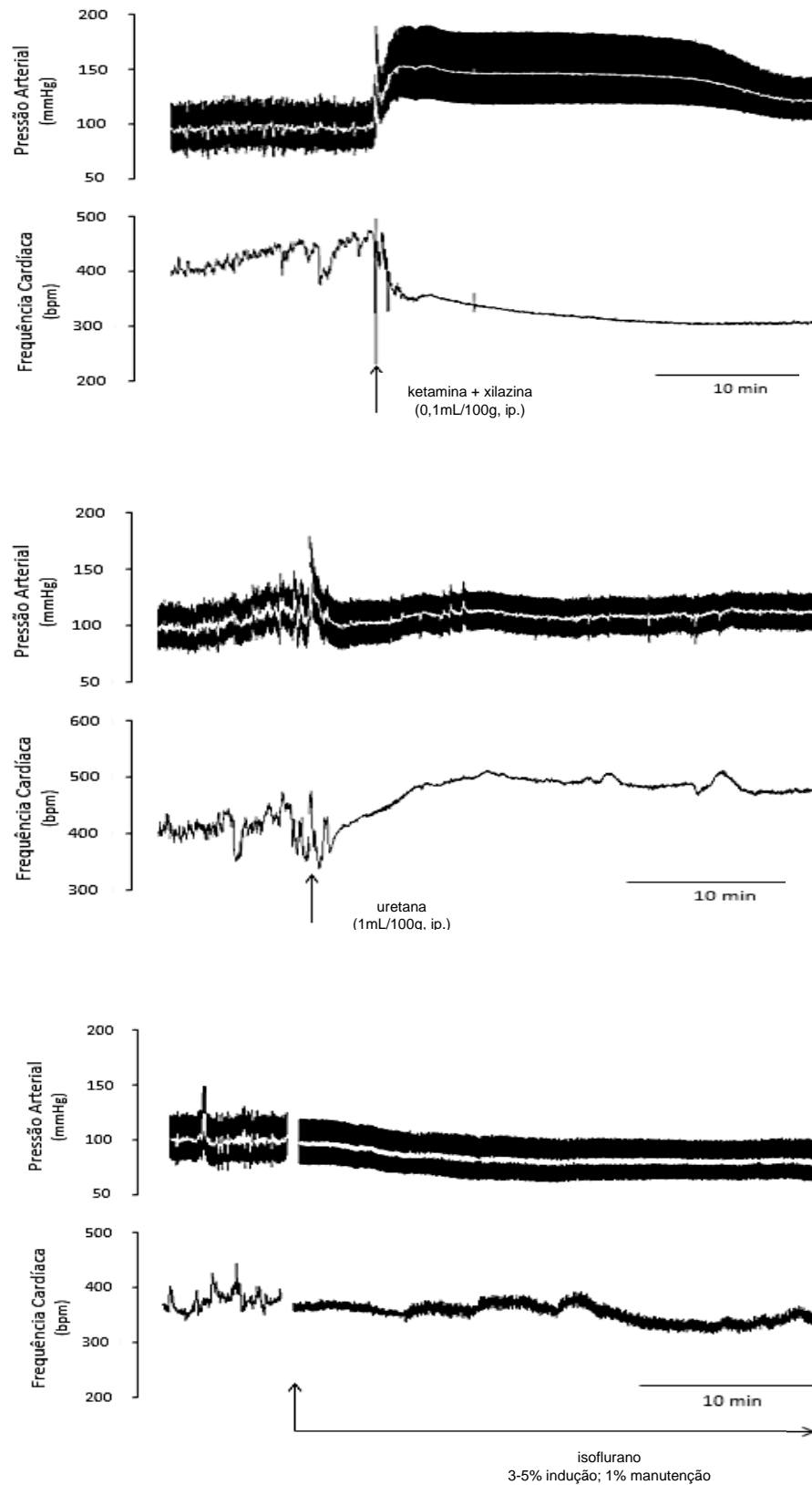


Figura 17. Traçados representativos da PA e FC, em ratos, antes (acordados - 30 min) e após a anestesia por KX (acima), URE (centro) ou ISO (abaixo).

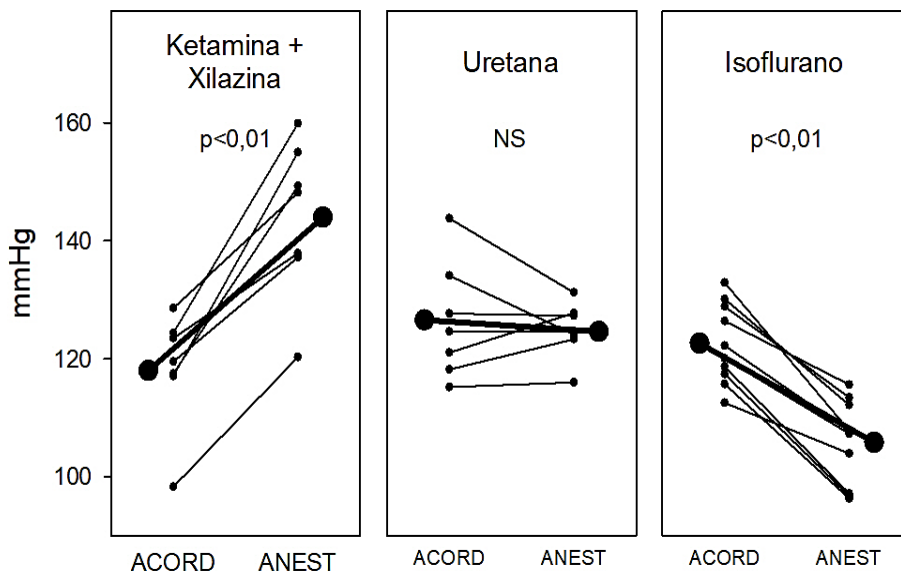
A Figura 18 mostra os valores médios de PA sistólica (mmHg) e IP (ms), do estado “acordado” para o “anestesiado”. Vale ressaltar aqui que optamos por apresentar os resultados dessa maneira, pois notamos uma considerável variabilidade nas respostas entre indivíduos do mesmo grupo anestésico. Ou seja, consideramos importante apresentar os resultados individuais, além dos valores médios por grupo.

Podemos observar que a anestesia por KX levou a uma marcante hipertensão e bradicardia prolongada (aumento do IP).

Durante a anestesia por URE os valores de PA não foram alterados, porém foi verificada uma taquicardia duradoura (queda nos valores de IP).

Por fim, sob anestesia geral por ISO, ocorreu uma leve hipotensão sem alteração dos valores de FC até o final do experimento.

Pressão Arterial Sistólica



Intervalo de Pulso

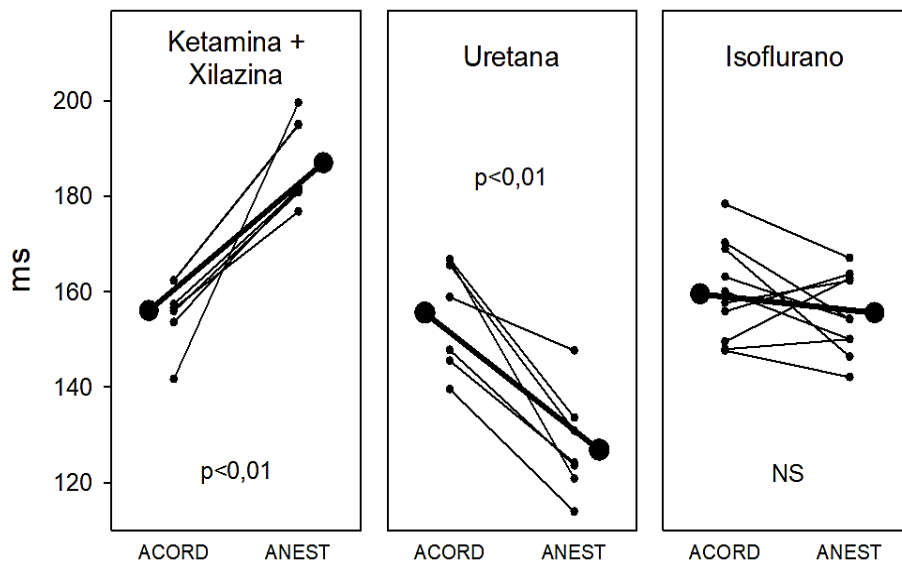


Figura 18. Valores individuais (linhas finas) e médios (linhas grossas) de PA sistólica (mmHg) e IP (ms) antes (ACORD) e durante (ANEST) a anestesia por KX, URE e ISSO em ratos. NS: não significativo. Valor de p: comparação acordado vs anestesiado.

A ketamina é um agente anestésico conhecido por atuar estimulando o sistema cardiovascular (BARRIGON et al., 1982). Nesse sentido, entre diversas sugestões de mecanismos por trás do seu efeito, existem as mudanças na sensibilidade à peptídeos vasoconstritores endógenos (GRATTON et al., 1995), aumento da liberação de catecolaminas (VIRTUE et al., 1967) e de renina (TANAKA; PETTINGER, 1974), além da atenuação do barorreflexo (DOWDY; KAYA, 1968; McGRATH et al., 1975).

Ademais, já é certo que a ketamina atua, em especial, promovendo o aumento do simpático (TRABER; WILSON, 1969; SCHWARTZ; HORWITZ, 1975). Assim, quando usada sozinha em diversas espécies, pode proporcionar hipertensão e aumento da função cardíaca (DOMINO et al., 1965; McCARTHY et al., 1965).

Então, para controlar os efeitos excitatórios da ketamina no sistema circulatório, esse anestésico é combinado, na prática experimental, geralmente, com a xilazina, também conhecida por atuar no SNA, porém diminuindo a regulação simpática (ANTONACCIO et al., 1973). Dessa forma, mesmo visto um inicial e rápido aumento da PA durante anestesia por xilazina em alguns estudos, notou-se um efeito de hipotensão prolongada logo em seguida, em conjunto com uma bradicardia e queda da função cardíaca (KRONEBERG et al., 1967; CLARK; HALL, 1969).

Outros autores também demonstraram que a combinação desses dois agentes anestésicos permeia o equilíbrio entre a estimulação e depressão do sistema cardiovascular (SUMITRA et al. 2004). Levando isso em conta, podemos sugerir, de acordo com Rand et al. (1996), que o aumento da regulação vagal resultante do efeito da xilazina pode ser uma das razões para a queda da FC observada no nosso trabalho, após a administração de KX. Já em relação à PA, parece que o efeito excitatório provocado pela ketamina foi predominante.

Além disso, sabe-se que durante o estado de anestesia, os reflexos autonômicos, entre eles o barorreflexo, são, marcadamente, atenuados (BENCZE et al., 2013). Entretanto, mesmo que não tenhamos analisado medidas relacionadas ao barorreflexo, não descartamos a ideia de que parte da resposta

bradicárdica induzida por essa anestesia possa ter participação, em um certo nível, desse mecanismo de controle.

No entanto, é importante destacar aqui que mesmo com o retorno da PA aos valores basais nos últimos minutos do registro, a FC permaneceu baixa. Tendo isso em vista, gostaríamos de explorar, propriamente, o comportamento do barorreflexo durante a anestesia por KX em trabalhos futuros, pois, embora seja uma questão discutida, o conhecimento concreto dos efeitos dessa combinação anestésica sob esse mecanismo reflexo ainda é limitado.

O anestésico URE é conhecido por não influenciar, acentuadamente, as respostas reflexas cardiovasculares (ALBRECHT; DAVIDOWA, 1989; DRINGENBERG; VANDERWOLF, 1995). Por outro lado, Carruba et al. (1987), assim como Maggi e Meli (1986), descrevem que esse anestésico está associado à elevados níveis circulatórios de adrenalina e noradrenalina decorrente, possivelmente, de uma ativação do simpático, o que nos permite pensar que o aumento acentuado da FC observado durante a anestesia por URE pode ser em razão desses efeitos.

Outros fatores importantes que devem ser considerados são a via de administração e a dose utilizada, pois conferem importante efeito no sistema nervoso e, por conseguinte, nos parâmetros cardiovasculares. Em relação ao anestésico URE, a via intraperitoneal é, comumente, escolhida para proporcionar um nível confiável de sedação cirúrgica, sendo a dose 1,2-1,5 g/kg uma das mais usadas em ratos (MORONI et al., 1981; HAMSTRA et al., 1984). Um estudo realizado por Armstrong et al. (1982) mostrou que em várias espécies, como o rato, este intervalo de dose promove ativação do simpático, resultando no aumento de catecolaminas.

No entanto, Altura e Weinberg (1979) também observaram que durante anestesia por URE, em altas doses, pode ocorrer uma inibição parcial na permeabilidade da membrana vascular, o que interfere, de forma negativa, na contração vascular derivada da mobilidade de Ca^{2+} , resultando em hipotensão.

Nosso estudo é o primeiro a demonstrar que a taquicardia induzida por URE não é acompanhada por alterações na PA. Futuros estudos são necessários para

avaliar os possíveis mecanismos envolvidos, como por exemplo, testar a hipótese de que esse agente anestésico aumenta a regulação simpática, elevando a FC, enquanto atua nos receptores endoteliais, controlando o tônus vascular e mantendo a PA.

Por fim, ISO é conhecido por ser um agente vasodilatador e capaz de influenciar a PA (ALBRECHT et al., 2014). No nosso estudo foi observado um estado de hipotensão leve, ao contrário dos dados encontrados por Eger (1984) e Erhardt et al. (2012), que sugeriram que a redução da resistência vascular provocada pelo anestésico poderia ocasionar hipotensão severa.

O efeito vasodilatador de ISO é bem documentado (KAZAMA; IKEDA, 1988). Alguns pesquisadores têm atribuído esse resultado à diversos fatores, como a sua ação inibitória sobre a mobilidade de Ca^{2+} nas artérias de resistência (AKATA et al., 2003) ou a sua capacidade de hiperpolarização das células em vasos de resistência e condutância (STEKIEL et al., 2001).

Quanto à FC, nós não observamos mudanças, diferente do que foi demonstrado por Plante et al. (2006), que observaram alteração do débito cardíaco, acompanhada por um pequeno aumento da FC durante a anestesia por ISO quando comparado com os efeitos causados pela anestesia por KX em ratos Wistar saudáveis. Esses autores concluem que esses agentes anestésicos possam apresentar uma forma singular de influenciar na mobilidade de Ca^{2+} nos cardiomiócitos, por exemplo, e, assim, alterar a função miocárdica nesses animais.

Portanto, de acordo com os trabalhos analisados, ISO é um agente vasodilatador, que, geralmente, propicia leve hipotensão. No entanto, assim como no estudo citado, Albrecht et al. (2014) demonstraram um pequeno quadro de taquicardia, possivelmente, devido, entre outros motivos, à ação vasodilatadora do anestésico. Porém, no nosso trabalho, a FC não foi alterada durante os 30 minutos analisados, o que nos permite pensar que ISO afeta pouco os parâmetros cardiovasculares sendo, talvez, o anestésico mais adequado para estudos hemodinâmicos sob anestesia.

3.3 HRV e BPV no Domínio do Tempo

A Figura 19 mostra os valores médios dos índices de HRV e BPV no domínio do tempo, do estado “acordado” para o “anestesiado”. São apresentadas as medidas SDNN e RMSSD, do IP e, SD, dos valores de PA sistólica.

Podemos observar que durante a anestesia por qualquer dos 3 agentes anestésicos utilizados, o SDNN é, marcadamente, menor. Os valores de RMSSD também são menores sob anestesia por KX, URE ou ISO. A variabilidade total da PA foi bastante reduzida pela anestesia por KX ou por URE, mas não por ISO.

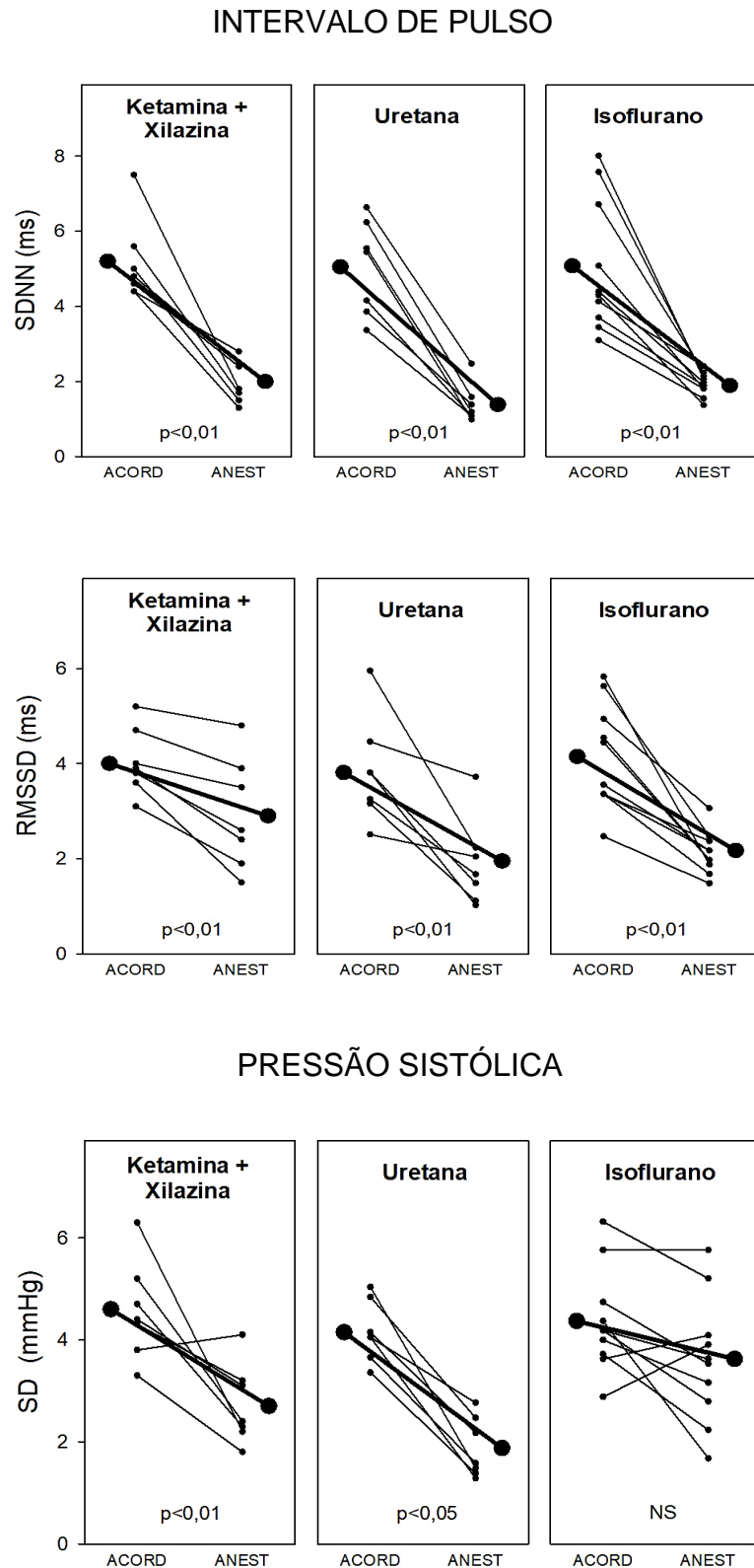


Figura 19. Valores individuais (linhas finas) e médios (linhas grossas) do SDNN e RMSSD do IP (acima e centro) e do SD da PA sistólica (abaixo) antes (ACORD) e durante (ANEST) a anestesia por KX, URE ou ISO em ratos. NS: não significativo. Valor de p: comparação acordado vs anestesiado.

Considerado um dos métodos mais utilizados para análise da HRV e BPV, desde a década de 60 (BILLMAN, 2011), os principais índices de variabilidade no domínio do tempo são parâmetros estatísticos das séries temporais, como o SD dos valores de IP (neste caso chamado de SDNN) e da PA sistólica (KLEIGER et al., 1987; ERNST, 2017) e o RMSSD (BERNTSON et al., 2005), calculado apenas nas séries de IP. Ainda que sejam medidas simples de serem obtidas, oferecem interpretações fisiológicas muito relevantes.

O SDNN e o SD são índices de variabilidade total (VAN RAVENSWAALL ARTS et al., 1993; TASK FORCE, 1996; SCHIPKE et al., 1999) da FC e da PA, respectivamente, e refletem, de forma geral, todos os fatores que contribuem para as oscilações nesses sinais dentro da janela temporal estudada. (SHAFFER et al., 2014). O SDNN avaliado em janelas temporais curtas (5 a 15 min em humanos) mostra forte correlação com a modulação autonômica do coração (TASK FORCE, 1996), sendo este reduzido em diversas condições clínicas que há disautonomia, como o diabetes, hipertensão arterial, insuficiência cardíaca, entre outras.

O RMSSD é conhecido por representar a modulação parassimpática cardíaca (EWING et al., 1984; KLEIGER et al., 1992; PORGES; BYRNE, 1992; TASK FORCE, 1996; ZICKMANN et al., 1996; BERNTSON et al., 2005).

- Portanto:

- a) Todos os agentes anestésicos avaliados diminuíram a variabilidade total da FC e da PA, com exceção de ISO, que não alterou o SD da PA sistólica. Isso sugere uma grande influência da anestesia na diminuição da modulação, principalmente, autonômica do sistema cardiovascular;
- b) Quanto às diferenças entre sucessivos valores de IP (RMSSD), os 3 agentes anestésicos atenuaram esse parâmetro, o que permite sugerir, de uma forma geral, que a modulação vagal sob o coração foi deprimida, praticamente, da mesma forma, durante a anestesia por KX, URE ou ISO.

Considerando como um todo, nossos resultados mostram que, praticamente todos os agentes anestésicos reduziram a variabilidade total do sistema cardiovascular. Além disso, todos diminuíram a modulação vagal sob o

coração.

3.4 Análise Espectral (IP e PA sistólica)

A Figura 20 mostra os valores médios da PSD da HRV nas faixas de LF (nu) e HF (ms^2) frequência, bem como da PSD da BPV na faixa de LF (mmHg^2), do estado “acordado” para o “anestesiado”.

Podemos observar que durante a anestesia por KX ou URE, mas não por ISO, o espectro do IP em LF é bastante reduzido. Mas, é digno de nota que, embora a média dos valores da PSD da HRV na faixa LF não tenha sofrido alteração pela anestesia por ISO, quando são observados os valores individuais notamos uma grande variabilidade na resposta entre os ratos do grupo. Na banda de HF, o espectro do IP foi reduzido pelos 3 agentes anestésicos estudados. A PSD da BPV na faixa de LF apresentou o mesmo comportamento que a da HRV, ou seja, uma queda dos valores durante anestesia por KX ou URE e uma grande dispersão das respostas individuais durante a anestesia por ISO, de modo que a média do grupo não se alterou com esse efeito.

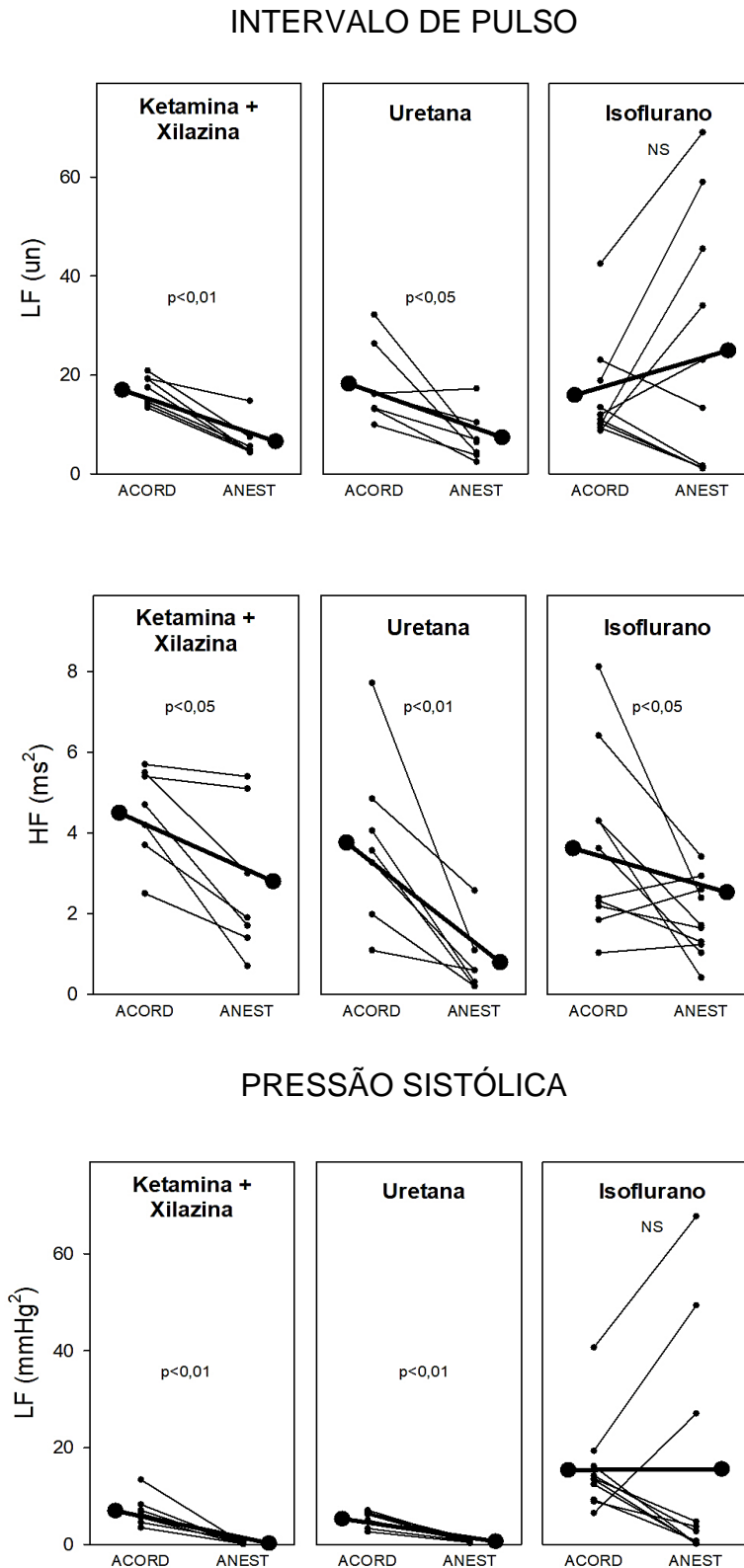


Figura 20. Valores individuais (linhas finas) e médios (linhas grossas) da potência do espectro da HRV nas faixas de LF (nu) e HF (ms²) (acima e centro) e da BPV na faixa de LF (mmHg²) (abaixo), antes (ACORD) e durante (ANEST) a anestesia com KX, URE ou ISO. NS: não significativo. P: comparação acordado vs anestesiado.

Desde o trabalho de Akselrod et al. (1981), a análise das oscilações rítmicas na FC através do domínio da frequência, em especial pela análise espectral, tem sido muito utilizada como uma importante ferramenta linear de avaliação da modulação autonômica sob o coração (PORTA et al., 2007a). A partir disso, diversos estudos associam a amplitude dos componentes senoidais dos espectros em determinadas faixas de frequência, especificamente, à modulação do simpático e/ou do parassimpático sob o sistema cardiovascular.

A PSD quantificada na banda de LF guarda íntima relação com uma oscilação intrínseca da PA, também chamada de ondas de Mayer, que ocorre a cada 10 s (0,1Hz), em seres humanos adultos (ROSENBLUETH; SIMEONE, 1934; AKSELROD et al., 1985; COOKE et al., 1999; FURLAN et al., 2000; KAMIYA et al., 2005, SHAFFER et al., 2014) e a cada 2,5 s (0,4Hz), em ratos (BROWN et al., 1994; BERTRAM et al., 2000).

Dessa forma, a faixa de LF reflete, principalmente, as flutuações lentas nela contidas, associadas, especialmente, à modulação simpática cardiovascular (CERUTTI et al., 1991; BROWN et al., 1994; ZICKMANN et al., 1996; JULIEN, 2006; YOSHIMOTO et al., 2011), principalmente, quando se refere à potência do espectro da PA nessa faixa de frequência. Ou seja, está bem correlacionada com a modulação simpática sob os vasos, possivelmente, devido a precária inervação parassimpática na rede vascular, exibindo, assim, baixa interferência da modulação vagal (PARATI et al., 1995).

No entanto, tem sido descrito que, durante ocasiões em que a frequência respiratória é lenta, ritmos oscilatórios originários da modulação parassimpática podem permear a potência espectral da HRV na faixa de LF (AHMED et al., 1982; TILLER et al., 1996; LEHRER et al., 2003), o que torna a interpretação fisiológica um pouco mais complexa (AKSELROD, 1981; RANDALL et al., 1991; FAZAN Jr; SALGADO, 2017).

Contudo, é bem aceito que a potência dos espectros da HRV e da BPV em LF é, em especial, um indicador da modulação simpática sob o coração e vasos (ZICKMANN et al., 1996). Em situações nas quais a regulação simpática é aumentada, como no teste de inclinação ortostática (*tilt-test*), as flutuações rítmicas

na faixa de LF são predominantes (TASK FORCE, 1996). Nesse mesmo sentido, Porta et al. (2007a) demonstraram que, quando representado de forma normalizada, esse componente é um ótimo parâmetro para avaliação, principalmente, da modulação simpática sob o coração.

Por outro lado, a potência das flutuações rápidas no espectro da FC (na faixa de HF) estão associadas aos efeitos da respiração na FC através do vago (NAKATSUKA et al., 2002). As oscilações ocorrem na frequência da atividade respiratória, sendo o pico do espectro encontrado próximo a 0,3 Hz, em humanos (FLEISHER, 1996), e entre 1 e 2 Hz, em ratos (HARKNESS; WAGNER, 1993).

Assim, a faixa de HF é chamada de *respiratory band* (SHAFFER et al., 2014), onde as oscilações correspondem, exclusivamente, à modulação parassimpática cardíaca (AKSELROD et al., 1981; AKSELROD et al., 1985; KANAYA et al., 2003; FAZAN Jr; SALGADO, 2017). Essa relação pode ser notada pela redução das oscilações rítmicas na faixa de HF em condições em que a regulação parassimpática está diminuída, como durante a apneia do sono (NAKATSUKA et al., 2002).

- Portanto:

- a) Os agentes anestésicos KX ou URE diminuíram a potência dos ritmos oscilatórios lentos tanto da FC quanto da PA. Isso indica que esses agentes anestésicos reduziram a modulação simpática tanto para o coração quanto para os vasos. Entretanto, o ISO foi o único anestésico que, embora pareça não alterar a potência espectral nessa faixa de frequência, obteve, dentro do grupo, tanto aumento como diminuição desse componente na análise da HRV e da BPV, o que não permite, apenas com estes dados, afirmar qual o efeito de ISO sob a modulação simpática cardiovascular;
- b) Por outro lado, todos os agentes anestésicos diminuíram a potência dos ritmos oscilatórios da FC na banda de HF, sugerindo que a modulação parassimpática cardíaca, isto é, a regulação vagal sob a FC, foi reduzida durante a anestesia por KX, URE ou ISO.

Vale a pena lembrar que todos os agentes anestésicos também reduziram a

variável RMSSD, medida do domínio do tempo que, como HF, está associada à modulação vagal sob o coração. No entanto, a correlação entre esses dois parâmetros ainda não é um consenso (MINWANG; HUANG, 2012). Enquanto Gil et al. (2010) propuseram que o RMSSD não pode ser comparado com HF, alguns trabalhos sugeriram que essas duas medidas podem ser melhor correlacionadas em condições mais específicas (BERNTSON et al., 2005; MINWANG; HUANG, 2012), como durante o repouso em posição supina (BALOCCHI et al., 2006).

Além disso, é importante destacar que a apresentação dos índices LF (nu) e HF (ms^2) permite a visualização da dinâmica autonômica, já que LF também reflete a modulação cardíaca pelo componente vagal e HF representa a modulação parassimpática somente. Em outros termos, um índice complementa o outro (PORTA et al., 2007b).

Considerando como um todo, nossos resultados mostram que os agentes anestésicos diminuíram a modulação parassimpática sob o coração. No entanto, apenas KX ou URE possuem um efeito atenuador claro da modulação simpática sob o sistema cardiovascular.

3.5 Análise Simbólica

A Figura 21 mostra os valores médios dos índices da análise simbólica, proposta por Porta et al. (2001), do estado “acordado” para o “anestesiado”.

Podemos observar que todos os agentes anestésicos reduziram, marcadamente, a taxa de ocorrência da família 0V nas séries de PA sistólica. Já nas séries de IP, durante a anestesia por ISO, não houve alteração significativa na ocorrência de sequências do tipo 0V, ao contrário da anestesia por KX ou URE, que, notavelmente, diminuiu a taxa de incidência dessa família.

Quanto à taxa de ocorrência de sequências do tipo 2UV nas séries de IP, URE foi o único agente anestésico que não alterou a taxa de incidência dessa família. Esta, por outro lado, foi bem reduzida durante a anestesia por ISO e aumentada por KX.

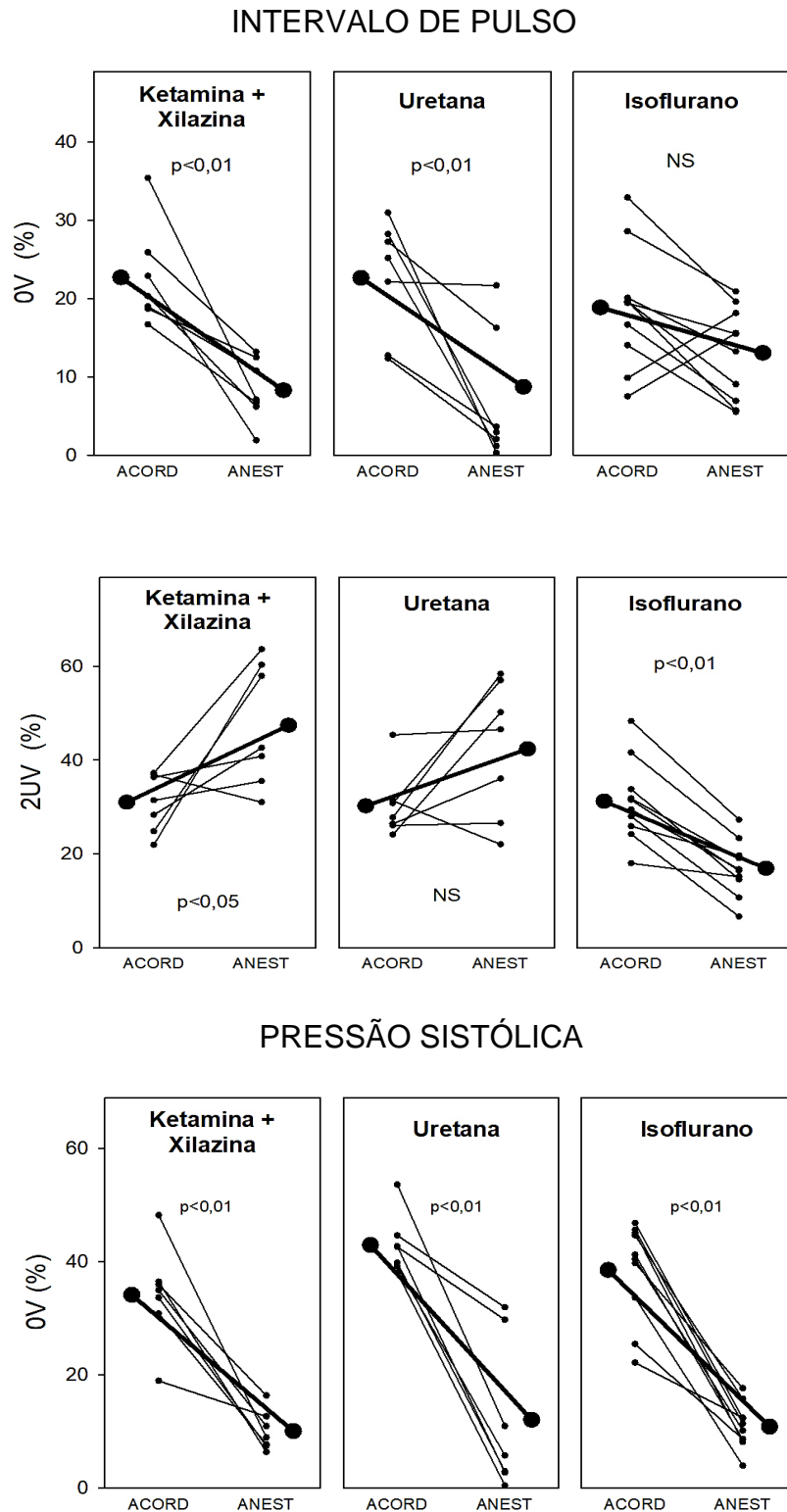


Figura 21. Valores individuais (linhas finas) e médios (linhas grossas) da ocorrência (%) das famílias 0V e 2UV de IP (acima e centro) e da família 0V da PA sistólica (abaixo), antes (ACORD) e durante (ANEST) a anestesia por KX, URE ou ISO. NS: não significativo. P: comparação acordado vs anestesiado.

Desde a primeira vez que foi proposta, por Porta et al. (2001), a análise da dinâmica simbólica tem sido utilizada em diversos trabalhos (Porta et al., 2007b; Tobaldini et al., 2009) com a intenção de superar limitações de outros métodos de estudo e obter mais informações sobre a modulação autonômica cardiovascular em diferentes condições, como durante interferências farmacológicas, ou prever eventos cardiovasculares, como arritmias mais graves (GUZZETTI et al., 2005).

Por ser uma abordagem não-linear, a análise simbólica considera que as flutuações, que influenciam os sinais cardiovasculares, sejam originadas de diferentes mecanismos fisiológicos que conversam entre si, tornando o sistema complexo, não homogêneo e imprevisível (GOLDBERGER, 1991, 1996).

Perante situações instáveis e de baixa variabilidade, como no nosso estudo devido à intervenção anestésica, a investigação da HRV e BPV pelos métodos tradicionais fornece informações limitadas em relação à modulação autonômica cardiovascular. Nesse contexto, os métodos não-lineares são uma forma de complementar a leitura dos resultados obtidos (MALLIANI et al., 1991; VOSS et al., 1996; WESSEL et al., 2000; MAESTRI et al., 2007; CYSARZ et al., 2013).

Para isso, estudos sugerem algumas interpretações fisiológicas relacionadas com a taxa de ocorrência das famílias, às quais permitem identificar a proporção de diversas flutuações rítmicas na FC e PA durante todo o período analisado (GUZZETTI et al., 2005; SILVA, 2017).

Baseado no estudo de Porta et al. (2007b), quando realizado o *tilt-test* para avaliar a regulação neural cardiovascular, pôde-se perceber que a porcentagem de incidência dos índices simbólicos 0V e 2UV se correlacionavam muito bem com os ritmos oscilatórios simpáticos e parassimpáticos, respectivamente.

Isso visto que, como as sequências 0V apresentam símbolos (correspondentes aos valores de IP ou PA sistólica) que não variam fora de uma faixa de valores determinada, durante 3 batimentos cardíacos, esse padrão simbólico representa as flutuações lentas ou de baixa frequência presentes na FC ou na PA, associadas à modulação simpática sob o sistema cardiovascular.

Já as sequências 2UV apresentam símbolos que variam fora de uma faixa

de quantização determinada, durante 3 batimentos cardíacos, isto é, são sequências que oscilam bastante nesse período, sendo, assim, um padrão simbólico que representa as flutuações rápidas ou de alta frequência na FC, relacionadas à modulação parassimpática cardíaca (SILVA, 2017; SILVA et al., 2017).

Conseqüentemente, pode-se sugerir que quanto maior o número de sequências do tipo 0V, maior é a modulação simpática cardiovascular. Do mesmo modo, é possível dizer que quanto maior o número de sequências da família 2UV, maior é a modulação vagal cardíaca (PORTA et al., 2007b; TOBALDINI et al., 2009).

- Portanto:

a) Todos os agentes anestésicos estudados reduziram, expressivamente, a taxa de ocorrência da família 0V nas séries de PA sistólica, indicando diminuição das oscilações de baixa frequência associadas à modulação simpática sob a PA. Pensando em uma possível associação com os resultados observados na análise espectral da BPV, KX ou URE apresentam comportamentos parecidos e, portanto, em sintonia nas duas abordagens, já que a potência espectral na faixa de LF também está relacionada com a regulação simpática sob os vasos;

Nas séries de IP, a anestesia por KX ou URE também reduziu a incidência de sequências do tipo 0V. Entretanto, ISO foi o único agente anestésico a manter essa medida, o que implica na conservação das oscilações lentas da FC e, assim, na preservação da regulação simpática sob a FC;

b) A proporção das sequências do tipo 2UV foi diferente dependendo do agente anestésico estudado. O único anestésico que manteve as flutuações de ritmo rápido nas séries de IP, provenientes da modulação vagal sob o coração, foi URE, enquanto a anestesia por ISO provocou uma diminuição e por KX um aumento da regulação parassimpática sob a FC.

Quando comparado com a análise espectral, ISO foi o único agente anestésico que reduziu tanto a porcentagem de ocorrência de sequência do tipo 2UV quanto a PSD na faixa de HF, ambos índices da modulação parassimpática, enquanto a correspondência não acontece para KX, que apresentou

comportamentos opostos quando considerados os dois parâmetros.

Considerando como um todo, nossos resultados mostram que os agentes anestésicos KX ou URE atenuaram os ritmos lentos tanto da HRV quanto da BPV, os quais derivam da modulação simpática sob o sistema cardiovascular. Já a anestesia por ISO diminuiu os ritmos rápidos da HRV, enquanto que a anestesia por URE parece ter preservado essas oscilações, associadas à modulação vagal sob o coração.

3.6 Entropia Multiescala

As Figuras 22 A e B mostram as curvas de entropia amostral nos estados “acordado” e “anestesiado”, variando ao longo das escalas 1-20 nas séries de IP (HRV) e PA sistólica (BPV). Já os gráficos de linha representam os valores médios da entropia amostral, do estado “acordado” para o “anestesiado”, variando ao longo das escalas curtas (1-6) e longas (7-20) nas séries de IP (HRV) e de PA sistólica (BPV).

Quando olhamos para intervalos específicos, notamos que a anestesia por KX ou URE (essa de uma forma um pouco mais suave em relação àquela) reduziu a entropia nas escalas de 1-6, sendo a anestesia por ISO a única que não alterou essa medida nas escalas curtas das séries de IP.

Considerando as séries de valores de PA sistólica, a entropia nas escalas de 1-6 é deprimida, especialmente, pela anestesia por KX e, de uma forma mais leve, por ISO, sendo a anestesia por URE a única que manteve essa medida nas escalas curtas.

Em relação à entropia nos intervalos de 7-20, todos os agentes anestésicos diminuíram essa medida nas séries de IP, assim como nas de PA sistólica, o que é visto, principalmente, durante a anestesia induzida por KX.

INTERVALO DE PULSO

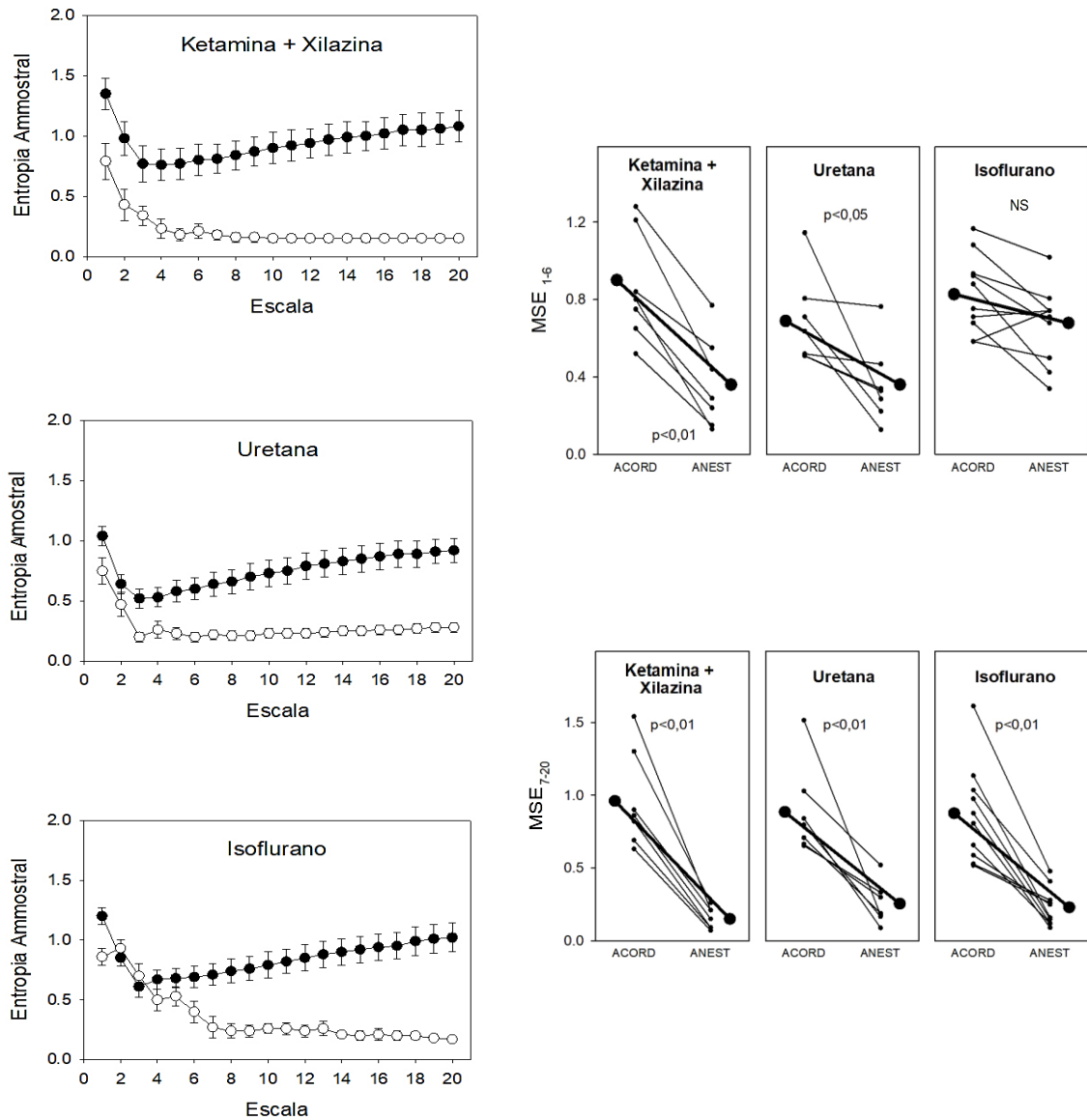


Figura 22 A. Os painéis à esquerda mostram a entropia amostral (média \pm EPM) das séries de intervalo de pulso nas escalas 1 a 20, antes (círculo sólido) e durante (círculo aberto) a anestesia por KX, URE ou ISO. Nos painéis à direita estão os valores individuais (linhas finas) e médios (linhas grossas) de entropia amostral do intervalo de pulso em escalas curtas (1-6) e longas (7-20), antes (ACORD) e durante (ANEST) a anestesia por KX, URE ou ISO. NS: não significativo. Valor de p: comparação acordado vs anestesiado.

PRESSÃO SISTÓLICA

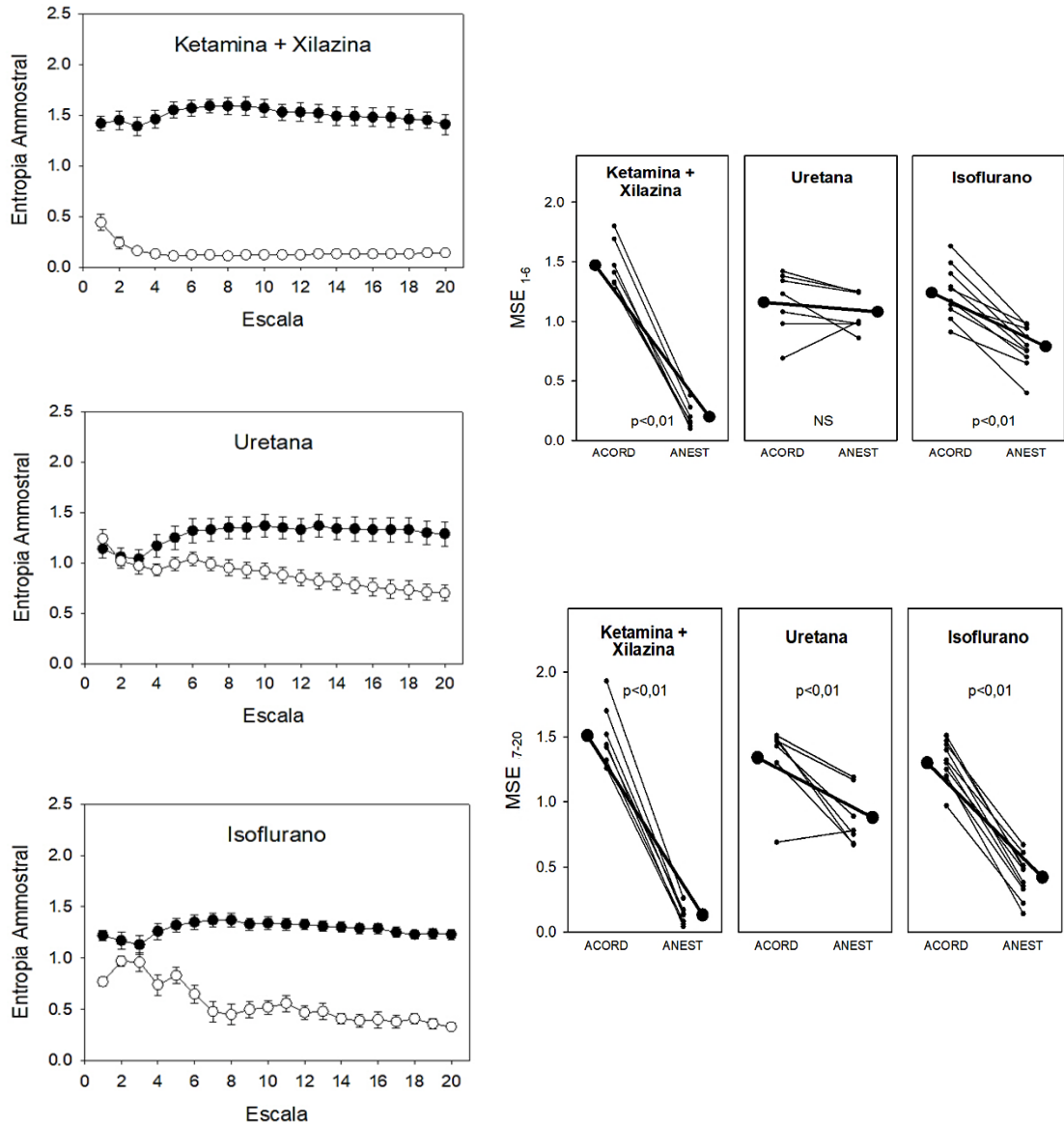


Figura 22 B. Os painéis à esquerda mostram a entropia amostral (média \pm EPM) das séries de PA sistólica nas escalas 1 a 20, antes (círculo sólido) e durante (círculo aberto) a anestesia por KX, URE ou ISO. Nos painéis à direita estão os valores individuais (linhas finas) e médios (linhas grossas) de entropia amostral da pressão sistólica em escalas curtas (1-6) e longas (7-20), antes (ACORD) e durante (ANEST) a anestesia por KX, URE ou ISO. NS: não significativo. Valor de p: comparação acordado vs anestesiado.

Embora o conceito de entropia tenha surgido no século XIX (NAKAZATO et al., 2012), a sua análise em diferentes escalas temporais foi proposta, somente, no começo dos anos 2000, por Costa et al. (2002). Essa abordagem é importante, pois detecta flutuações irregulares independentemente das escalas, isto é, revelam informações sobre a dinâmica regulatória presente em diversas magnitudes temporais encontradas nos sinais complexos, como a respiração, FC e a PA sistêmica (GOLDBERGER, 1996).

Uma das medidas de entropia mais importantes é a SampEn ou entropia amostral (RICHMAN; MOORMAN, 2000). Entretanto, essa medida isolada nem sempre reflete a complexidade dos sistemas biológicos e físicos, a qual envolve uma interação harmônica, mas não perfeita, entre diversos sinais fisiológicos, revelando propriedades em diferentes escalas espaciais e temporais.

Conseqüentemente, para um olhar mais apropriado, a MSE foi sugerida como melhor método nesse sentido (COSTA et al., 2005), baseando-se na análise estatística dos valores de SampEn em múltiplas escalas (SILVA et al., 2016; SILVA, 2017). Dessa forma, a curva de entropia em função da escala temporal reflete melhor a complexidade do sinal avaliado (SILVA et al., 2015).

- Portanto:

- a) O uso dos agentes anestésicos, notadamente, provocou, ao longo das escalas, uma diferença entre os perfis de curva de entropia dos estados “acordado” e “anestesiado”, tanto na análise da HRV quanto da BPV. De forma geral, todos os anestésicos, em especial KX, diminuíram a entropia nos sinais de FC e PA e, conseqüentemente, a complexidade do sistema cardiovascular;
- b) De forma mais singular, quando se trata das escalas curtas (1-6): O anestésico KX foi o único que reduziu a entropia, tanto da HRV quanto da BPV, nessas escalas. Já URE diminuiu o grau de entropia apenas do sinal de FC e ISO, do sinal de PA. Portanto, KX foi o anestésico que mais afetou a complexidade cardiovascular, deixando as séries de IP e PA sistólica mais previsíveis/regulares e menos complexas, ocasionando perda de informação nos sinais de FC e PA, respectivamente;

c) Levando em conta as escalas longas (7-20): Todos os agentes anestésicos diminuíram a entropia da HRV e da BPV. Em especial, novamente, KX, que parece ter sido o anestésico que mais reduziu a complexidade nas escalas maiores. Entre os 3 agentes, URE parece ter, relativamente, alterado menos a imprevisibilidade/irregularidade das séries de PA sistólica nessas escalas.

Tendo em mente que as flutuações no sistema cardiovascular ocorrem independentemente do tamanho das escalas, quando esse princípio fisiológico é perturbado por algum fator, por exemplo, pela ação dos anestésicos, esse distúrbio pode provocar uma desorganização na propriedade não-linear do sistema como um todo. Isso pode afetar a HRV e BPV de diferentes formas, por exemplo causando a predominância de flutuações em escalas específicas, ao invés de múltiplas, o que é uma consequência da perda de complexidade do sistema. Esse delicado cenário surge pela quebra da interação entre os diferentes mecanismos fisiológicos e reduz a capacidade de regulação do sistema cardiovascular e, portanto, de adaptação perante as mudanças no ambiente (SILVA et al., 2016).

Considerando como um todo, nossos resultados mostram que o comportamento da resposta é muito parecido entre os agentes anestésicos estudados e que há diferença entre o perfil da curva de entropia nos estados “acordado” e “anestesiado”, tanto na análise da HRV quanto da BPV, particularmente, nas escalas temporais longas e, especialmente, durante a anestesia por KX. Nesse sentido, podemos reconhecer que os agentes anestésicos reduziram, acentuadamente, a complexidade do sistema cardiovascular.

3.7 Análise de Flutuações Destendenciadas

A Figura 23 mostra os valores médios dos espectros dos expoentes de escala da DFA nas janelas curtas (5-15) e longas (100-1000) nas séries de IP, do estado “acordado” para o “anestesiado”.

Podemos observar que todos os agentes anestésicos reduziram a DFA nas janelas curtas e aumentaram essa medida nas janelas longas.

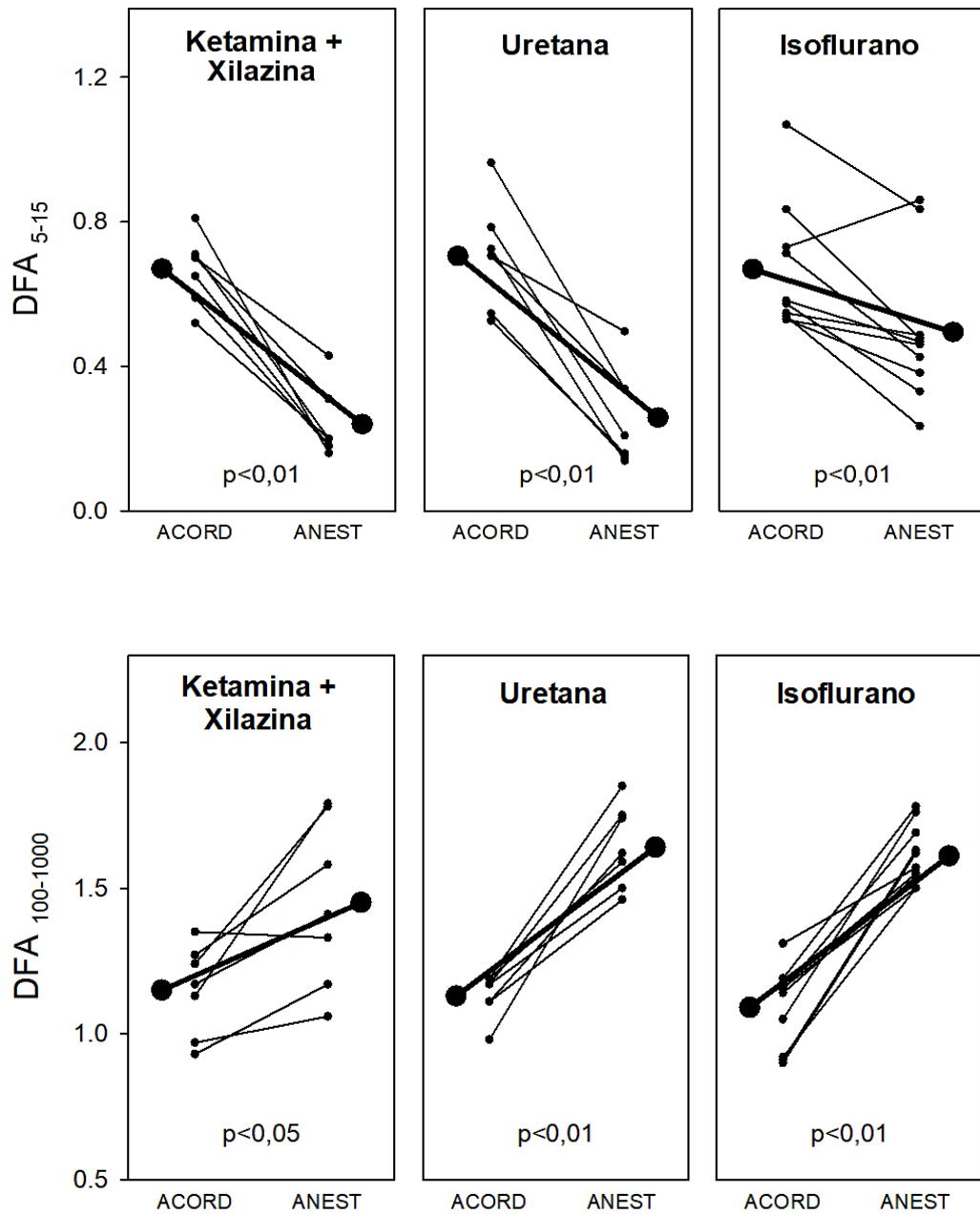


Figura 23. Valores individuais (linhas finas) e médios (linhas grossas) dos expoentes da DFA de séries de intervalo de pulso nas janelas curtas ($5 \leq n \leq 15$) e longas ($100 \leq n \leq 1000$), antes (ACORD) e durante (ANEST) a anestesia por KX, URE ou ISO. NS: não significativo. Valor de p: comparação acordado vs anestesiado.

Além da MSE, muitos autores reconhecem que a DFA é uma das ferramentas não-lineares mais expressivas na avaliação da HRV (PENG et al., 1994; VOSS et al., 2009). Relacionada às análises de flutuações propostas há mais de 50 anos (BRYCE; SPRAGUE, 2012), a DFA é uma abordagem muito engenhosa, pois, por ser uma medida fractal, leva em conta a dinâmica autossimilar do sinal de FC (GOLDBERGER et al., 2000; CASTIGLIONI et al., 2011) durante todo o período avaliado (SILVA, 2017) e em múltiplas escalas (IVANOV et al., 1999; CASTIGLIONI et al., 2011), permitindo quantificar o grau de correlação das flutuações em diferentes janelas (autossimilaridade), através da análise do espectro de diferentes expoentes de escala.

Nós analisamos 2 expoentes de escala para avaliar as dinâmicas fractais nas séries de IP. O que é dado pelo primeiro expoente é o grau de correlação das flutuações entre as janelas curtas ou à curto prazo. Já o segundo determina o grau de correlação das flutuações entre as janelas longas ou à longo prazo (CASTIGLIONI et al., 2011; SILVA, 2017). Ambos revelam a estrutura fractal das séries de IP, porém olhando para janelas de tamanhos diferentes.

- Portanto:

- a) Todos os agentes anestésicos alteraram, acentuadamente, a dinâmica fractal das flutuações nas séries de IP analisadas nas janelas curtas e longas. Essa mudança na complexidade do sistema pode refletir um desarranjo na regulação cardiovascular pelos mecanismos fisiológicos, em especial, pela modulação autonômica;
- b) Particularmente, considerando as flutuações nos intervalos $5 \leq n \leq 15$: Todos os agentes anestésicos reduziram o espectro do expoente de escala à curto alcance, praticamente, da mesma forma. Conseqüentemente, isso pode representar uma redução da autossimilaridade das flutuações entre as escalas curtas;
- c) Por outro lado, olhando para as flutuações nas escalas de $100 \leq n \leq 1000$: Todos os agentes anestésicos aumentaram o espectro do expoente de escala à longo alcance, possivelmente, da mesma maneira. Esse efeito também indica perda da propriedade de autossimilaridade.

Como mencionado anteriormente, foi visto que o valor de α igual ou bem próximo de 1 representa estrutura fractal máxima da série, isto é, a condição saudável. Podemos observar isso através do estado “acordado”. Porém, durante a anestesia, o valor de α sofre um acentuado desvio (maior ou menor que 1), o que caracteriza a perda da propriedade fractal da série e, portanto, da complexidade do sistema.

A avaliação pela DFA é complementar à análise pela MSE. A correlação entre esses métodos ainda é recente e a extrapolação para uma interpretação fisiológica é, relativamente, complicada. Estudos pioneiros têm procurado correlações entre a modulação autonômica e os índices fractais em diferentes magnitudes temporais (FADEL et al., 2004; SILVA et al., 2016), mas essa relação ainda não é robusta.

Atualmente, é aceito que as medidas de complexidade, como a MSE e a DFA, fornecem informações importantes a respeito da regulação do sistema como um todo, sem, necessariamente, estar relacionada com mecanismos fisiológicos específicos. Sendo assim, a importância destas medidas está associada ao seu valor diagnóstico e prognóstico em diversas situações.

Por fim, é importante salientar que a divisão do espectro de expoentes da DFA em 2 ou mais janelas temporais é, geralmente, arbitrária (SILVA, 2017) diferente de como acontece na divisão das escalas na análise da MSE. As janelas temporais de maior significância em cada situação pode variar e isso é, atualmente, uma limitação desta análise (CASTIGLIONI et al., 2011; SILVA et al., 2016).

Considerando como um todo, nossos resultados mostram que todos os agentes anestésicos estudados alteraram, de forma proeminente, a dinâmica fractal e, portanto, diminuíram a complexidade do sistema cardiovascular.

3.8 Fragmentação da Frequência Cardíaca

A Figura 24 mostra os valores médios do PIP e dos grupos W0, W1, W2 e W3 nas séries de IP, do estado “acordado” para o estado “anestesiado”.

Podemos observar que a anestesia por KX ou URE não alterou o PIP, sendo ISO o único agente anestésico que interferiu neste parâmetro, reduzindo, acentuadamente, a quantidade de pontos de inflexão nas séries de IP.

Além disso, ISO também foi o único agente anestésico que alterou a porcentagem de ocorrência de todos os grupos de palavras, aumentando W0 e, principalmente, W1 e diminuindo, marcadamente, tanto o grupo W2 quanto o W3.

No entanto, a porcentagem de ocorrência de W3 também foi reduzida durante a anestesia por URE, mas de uma forma mais leve quando comparada com ISSO

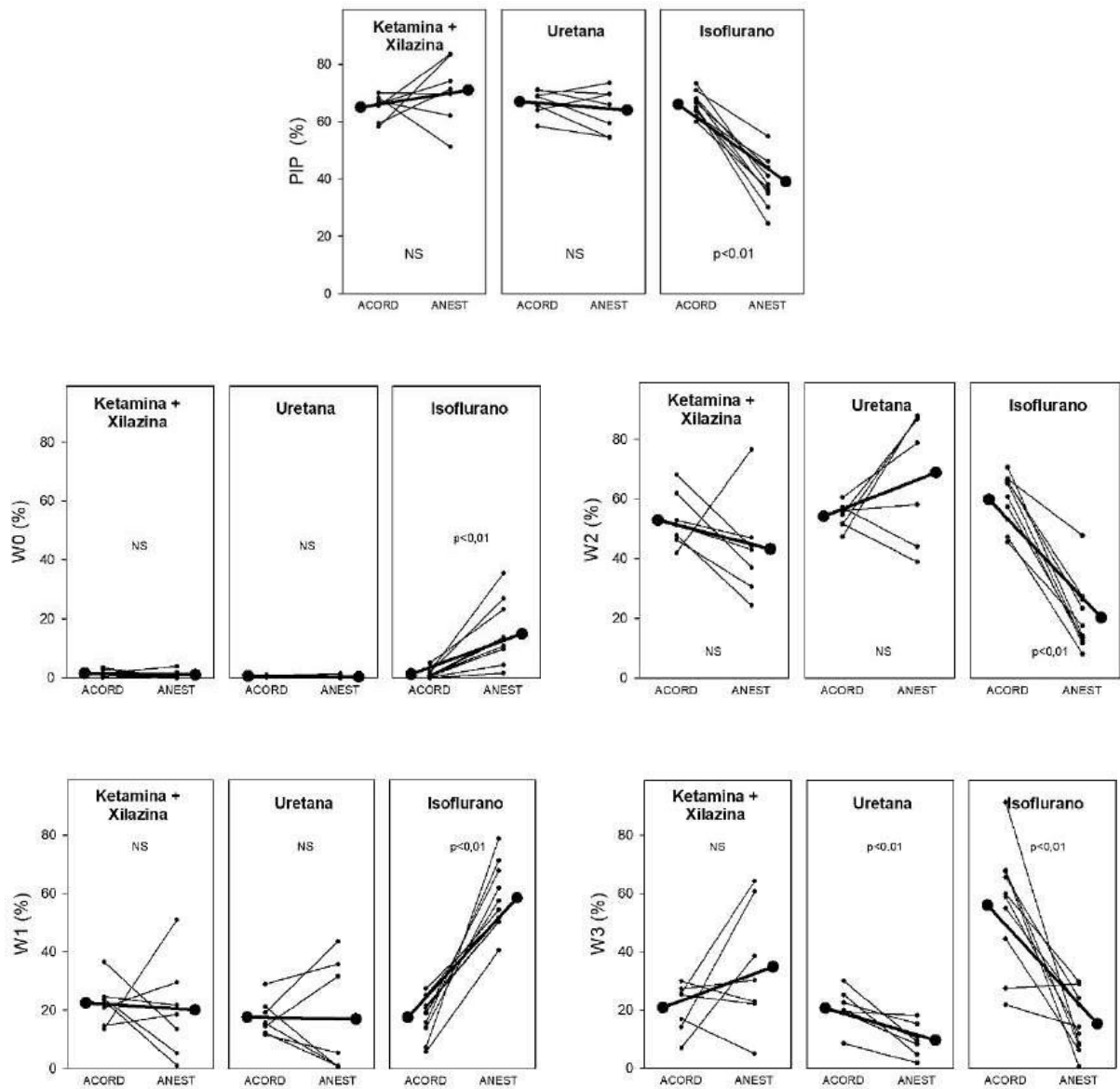


Figura 24. Valores individuais (linas finas) e médios (linhas grossas) da PIP e porcentagem de ocorrência padrões W₀, W₁, W₂ e W₃ nas séries de intervalo de pulso, antes (ACORD) e durante (ANEST) a anestesia por KX, URE ou ISSO em ratos. NS: não significativo. Valor de p: comparação acordado vs anestesiado.

Embora o estudo de padrões fragmentados já tenha sido descrito há pouco mais de 100 anos, porém nomeado de forma diferente (LEWIS, 1920; GEIGER; GOERNER, 1945; FRIEDMAN, 1956; BINKLEY et al., 1995), a análise da HRF é a ferramenta mais, recentemente, descrita em termos de avaliação da HRV.

Mesmo assim, existem alguns trabalhos já demonstrando a aplicabilidade da avaliação da HRF em condições fisiopatológicas. Costa et al. (2017b) demonstraram um sinal de FC mais fragmentado em pacientes com doença arterial coronariana avançada, quando comparado com indivíduos saudáveis. Também reportaram aumento da fragmentação total nas séries de intervalos RR com o envelhecimento, tanto em indivíduos saudáveis como naqueles com a doença cardiovascular.

Assim, é uma outra opção de análise que promete esclarecimentos muito importantes (GOLDBERGER et al., 2002; GUZZETTI et al., 2015; MARTIN et al., 2016), tanto na prática clínica como na experimental, em diversas condições, entre elas situações de eventos cardiovasculares (COSTA et al., 2018), doenças, bem como em processos naturais como o envelhecimento (COSTA; GOLDBERGER, 2019).

- Portanto:

a) O anestésico ISO foi o único agente que alterou o PIP, diminuindo, notadamente, o número de pontos de inflexão nas séries de IP, refletindo a perda de mudanças abruptas sinal de FC;

Embora seu significado fisiológico não seja claro, o PIP é considerado um índice de fragmentação total da série, quantificando o quão fragmentada ela está. Desse modo, enquanto a anestesia por KX ou URE preservou essa característica do sinal, a anestesia por ISO causou uma forte queda na fragmentação da FC, o que sugere que esse agente anestésico atue em mecanismos fisiológicos responsáveis pela gênese da fragmentação da FC (COSTA et al., 2017a);

b) Para os grupos de palavras W0, W1, W2 e W3, KX foi o único anestésico que não alterou a porcentagem de ocorrência de nenhum dos grupos de palavras e que parece não interferir na HRF. Já URE afetou apenas a ocorrência de sequências do grupo W3, diminuindo a porcentagem desse grupo (que contém 3 pontos de

inflexão). De acordo com Costa et al. (2017a), quanto maior o número de pontos de inflexão em um grupo de palavras, maior o padrão de fragmentação. Assim, a anestesia por URE reduziu a taxa de ocorrência dos padrões mais fragmentados, porém parece não influenciar, acentuadamente, na HRF.

Por fim, em sintonia com os achados do PIP, a anestesia por ISO reduziu a porcentagem de sequências do grupo de palavras mais fragmentadas (W2 e W3) e aumentou a porcentagem de sequências do grupo mais fluente (W0 e W1), o que indica atenuação dos ritmos anormais presentes no sinal de FC.

Como um método de estudo proposto recentemente, as interpretações fisiológicas dos mecanismos da HRF ainda são especulativas (COSTA et al., 2018). Entretanto, alguns estudos sugerem que a HRF é, fortemente, relacionada com a regulação autonômica cardíaca (DA SILVA et al., 2021) e ocorre em razão de diversos fatores, como o desarranjo dos componentes autonômicos (COSTA et al., 2017a,b) e a perda da complexidade característica da rede de interação entre multi-sistemas que controlam o batimento cardíaco (COSTA et al., 2018).

Além disso, tem sido proposto que anormalidades eletrofisiológicas intrínsecas dos cardiomiócitos (GEIGER; GOERNER, 1945; BINKLEY et al., 1995; JALIFE, 2013), o que pode proporcionar instabilidade sino-atrial e distúrbios no mecanismo barorreflexo, também podem influenciar na HRF (COSTA et al., 2017a; COSTA et al., 2018).

Quanto à relação entre os índices de HRF e os outros da análise da HRV, atualmente, os estudos sugerem não haver uma conexão sólida entre os grupos de palavras, sem a classificação do tipo de transição, e as outras medidas, supondo que o PIP e os grupos de palavras adicionam informações diferentes para a análise.

Portanto, embora existam várias hipóteses permeando a HRF e um *background* ainda nebuloso, já se sabe que esses padrões estão associados com um fenômeno rítmico atípico, não-respiratório. Assim, a análise desses tipos de variação da FC pode fornecer informações complementares (DA SILVA et al., 2021) sobre a integridade da dinâmica entre diferentes mecanismos, tanto neuroanatômicos quanto eletrofisiológicos (COSTA et al., 2017a), que controlam a HRV, os quais são alterados pela anestesia.

Então, considerando como um todo, nossos resultados mostram que a anestesia por ISO diminuiu, sobremaneira, a HRF, enquanto a anestesia por KX ou URE possuem um efeito nulo ou mínimo sob esse fenômeno.

Sumário e Conclusão

Nosso estudo reforça que os agentes anestésicos exibem uma ação depressora sob o sistema cardiovascular de ratos, mas com a novidade do uso de métodos clássicos (lineares) e também modernos (não-lineares) para analisar os efeitos da KX, URE ou ISO na variabilidade e complexidade presente nos sinais de FC e PA. Esses 3 anestésicos são muito utilizados na maioria dos laboratórios ao redor do mundo, porém a experiência em relação aos seus efeitos nesse fenômeno e na complexidade cardiovascular ainda é muito limitada.

Podemos observar que, praticamente, todos os agentes anestésicos reduziram a variabilidade total do sistema cardiovascular. As análises lineares mostraram que todos os anestésicos atenuaram a modulação parassimpática cardíaca. Apenas KX ou URE possuem um efeito depressor claro na regulação do simpático sob o sistema cardiovascular.

Ao encontro desta, a análise simbólica mostrou que KX ou URE diminuíram a modulação simpática cardíaca. Além disso, todos os agentes anestésicos deprimiram a regulação do simpático sob os vasos, enquanto URE foi o único anestésico que manteve a ocorrência dos ritmos rápidos na HRV.

A medida de entropia foi reduzida por todos os agentes anestésicos, em especial por KX e, particularmente, nas escalas temporais longas, diminuindo, portanto, a complexidade do sistema cardiovascular. E, ao encontro desta, a avaliação pela DFA mostrou que todos os anestésicos alteraram, proeminentemente, a dinâmica fractal do sistema cardiovascular e, portanto, sua complexidade.

E, por fim, o agente anestésico ISO atenuou, acentuadamente, a HRF, enquanto KX ou URE possuem um efeito nulo ou mínimo sob esse fenômeno cardíaco.

Assim, nossos resultados confirmaram a nossa hipótese de que diferentes anestésicos diminuem a HRV, BPV e a complexidade do sistema cardiovascular de ratos de formas diferentes. Podemos sugerir que ISO parece ser o agente anestésico que menos interferiu nesses parâmetros, embora tenha sido o que, claramente, mais alterou a fragmentação no sinal de FC.

A partir disso, podemos sugerir a ideia de que a HRF possa apresentar um componente não-autônômico muito forte que pode ser afetado pelo ISO, ou que o agente anestésico possa atuar, diretamente, no coração. Dessa forma, embora ISO seja identificado como o agente com menor efeito depressor cardíaco entre os 3 anestésicos estudados, salientamos que se tenha cautela ao coletar dados durante a anestesia.

Já KX parece ser o agente anestésico que mais influenciou os níveis basais, bem como os índices da HRV e da BPV. Nós sugerimos que esse anestésico é o menos indicado para estudos que avaliam variáveis hemodinâmicas e/ou controle autonômico cardiovascular. Ressaltamos que se tenha muita atenção à interpretação de variáveis cardiovasculares coletadas sob anestesia por KX.

E, por fim, URE que, embora recomendado para estudos que avaliam parâmetros cardiovasculares, também é um agente anestésico que influencia, consideravelmente, na HRV e BPV de ratos. A anestesia por URE alterou, praticamente, todas as medidas analisadas, porém de uma maneira menos poderosa quando comparado com KX.

Assim, considerando todos os nossos resultados, acreditamos que ISO seja o anestésico que menos influencia o sistema cardiovascular e sua modulação, enquanto KX parece ser o que mais interfere.

Concluimos reforçando que a escolha do anestésico utilizado no protocolo experimental é de extrema importância para facilitar e assegurar a interpretação dos dados coletados sob vigência da anestesia.

Referências Bibliográficas

- ABBOUD, S.; BERENFELD, O.; SADEH, D. **Simulation of High-resolution QRS Complex Using a Ventricular Model with a Fractal Conduction System. Effects of Ischemia on High-frequency QRS Potentials.** *Circulation Research*, v.68, n.6, p.1751-60, 1991.
- ACHARYA, U.R.; JOSEPH, K.P.; KANNATHAL, N.; LIM, C.M.; SURI, J.S. **Heart Rate Variability: A Review.** *Medical & Biological Engineering & Computing*, v..44, p.1031-51, 2006.
- AHMED, A.K.; HARNESS, J.B.; ANDMEARNS, A.J. **Respiratory Control of Heart Rate.** *European Journal of Applied Physiology*, v.50, p.95-104, 1982.
- AKATA, T.; KANNA, T.; YOSHINO, J.; TAKAHASHI, S. **Mechanisms of Direct Inhibitory Action of isoflurane on Vascular Smooth Muscle of Mesenteric Resistance Arteries.** *Anesthesiology*, v.99, n.3, p.666-77, 2003.
- AKINEA, A.; SUZUKAB, H.; HAYASHIDAB, Y.; KATO, Y. **Effects of ketamine and propofol on Autonomic Cardiovascular Function in Chronically Instrumented Rats.** *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, v.87, p.201-8, 2001.
- AKSELROD, S.; GORDON, D.; UBEL, F.A.; SHANNON, D.C.; BARGER, A.C.; COHEN, R.J. **Power Spectrum Analysis of Heart Rate Fluctuations: A Quantitative Probe of Beat-to-Beat Cardiovascular Control.** *Science*, v.213, n.4504, p.220-22, 1981.
- AKSELROD, S.; GORDON, D.; MADWED, J.B. **Hemodynamic Regulation: Investigation by Spectral Analysis.** *American Journal of Physiology*, v.249, p.867-75, 1985.
- ALBRECHT, D.; DAVIDOWA, H. **Action of urethane on Dorsal Lateral Geniculate Neurons.** *Brain Research Bulletin*, v.22, n.6, p.923-7, 1989.
- ALBRECHT, M.; HENKE, J.; TACKE, S.; MARKERT, M.; GUTH, B. **Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a Combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on Physiological Variables Continuously Measured by Telemetry in Wistar Rats.** *BMC Veterinary Research*, v.10, n.198, p.1-14, 2014.
- ALKIRE, M.T.; HUDETZ, A.G; TONONI, G. **Consciousness and Anesthesia.** *Science*, v.322, p.876-80, 2008.
- ALTURA, B.M.; WEINBERG, J. **Urethane and Contraction of Vascular Smooth Muscle.** *British Journal of Pharmacology*, v.67, p.255-63, 1979.

ANGEL, A.; UNWIN, J. **The Effect of urethane on Transmission Along the Dorsal Column Sensory Pathway in the Rat.** *Journal of Physiology-London*, v.208, p.32-3, 1970.

ANGELONE, A.; COULTER, N.A. **Respiratory Sinus Arrhythmia: A Frequency Dependent Phenomenon.** *Journal of Applied Physiology*, v.19, p.479-82, 1964.

ANIS, N.A.; BERRY, S.C.; BURTON, N.R.; LODGE, D. **The Dissociative Anaesthetics, ketamine and phencyclidine, Selectively Reduce Excitation of Central Mammalian Neurones by N-methyl-aspartate.** *British Journal of Pharmacology*, v.79, p.565-75, 1983.

ANREP, G.V.; PASCUA, W.; ANDROSSLER, R. **Respiratory Variations in the Heart Rate II. The Central Mechanism of Respiratory Arrhythmia and the Inter-relationship Between Central and Reflex Mechanisms.** *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences*, v.119, p.218-30, 1936.

ANTONACCIO, M.J.; ROBSON, R.D.; KERWIN, L. **Evidence for Increased Vagal Tone and Enhancement of Baroreceptor Reflex Activity After xylazine in Anaesthetized Dogs.** *European Journal of Pharmacology*, v.23, p.311-5, 1973.

APPEL, M.L.; BERGER, R.D.; SAUL, J.P.; SMITH, J.M.; COHEN, R.J. **Beat to Beat Variability in Cardiovascular Variables: Noise or Music?** *Journal of the American College of Cardiology*, v.14, n.5, p.1139-48, 1989.

ARHEM, P.; KLEMENT, G.; NILSSON, J. **Mechanisms of Anesthesia: Towards Integrating Network, Cellular, and Molecular Level Modeling.** *Neuropsychopharmacology*, v.28, n.1, p.40-7, 2003.

ARMSTRONG, J.M.; LEFEVRE-BORG, F.; SCATTON, B.; CAVERO, I. **Urethane Inhibits Cardiovascular Responses Mediated by the Stimulation of alpha 2 Adrenoreceptors.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v.223, p.524-35, 1982.

ARMSTRONG, R.; RIAZ, S.; HASAN, S.; IQBAL, F.; RICE, T.; SYED, N. **Mechanisms of Anesthetic Action and Neurotoxicity: Lessons from Molluscs.** *Frontiers in Physiology*, v.8, p.1138, 2018.

AZIZ, M.A.; MARTIN, R.J. **a Agonist and Local anaesthetic properties of xylazine.** *Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe A*, v.25, p.181-8, 1978.

BAI, D.; PENNEFATHER, P.S.; MACDONALD, J.F.; ORSER, B.A. **The General Anesthetic propofol Slows Deactivation and Desensitization of GABA(A) Receptors.** *Journal of Neuroscience*, v.19, p.10635-46, 1999.

BALOCCHI, R.; CANTINI, F.; VARANINI, M.; RAIMONDI, G.; LEGRAMANTE, J.M.; MACERATA, A. **Revisiting the Potential of Time Domain Indexes in Short-term HRV Analysis.** *Biomedical Engineering*, v.51, n.4, p.190-3, 2006.

BARLETTA, M.; AUSTIN, B.R.; KO, J.C.; PAYTON, M.E.; WEIL, A.B.; INOUE, T. **Evaluation of dexmedetomidine and ketamine in Combination with Opioids as**

Injectable Anesthesia for Castration in Dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association, v.238, p.1159-67, 2011.

BARNES, C.D.; ELTHERINGTON, I.G. **Drug Dosage in Laboratory Animals. A handbook.** California Press, Berkeley, 1964.

BARRIGON, S.; DE MIGUEL, B.; TAMARGO, J.; TEJERINA, T. **The Mechanism of the Positive Inotropic Action of ketamine on Isolated Atria of the Rat.** British Journal of Pharmacology, v.76, p.85-93, 1982.

BASSINGTHWAIGHTE, J.B.; LIEBOVITCH, L.S.; WEST, B.J. **Fractal Physiology.** Oxford Univ. Press, New York, 1994.

BEAUCHAINE, T. **Vagal Tone, Development, and Gray's Motivational Theory: Toward an Integrated Model of Autonomic Nervous System Functioning in Psychopathology.** Development and Psychopathology, v.13, p.183-214, 2001.

BECKERS, F.; VERHEYDEN, B.; AUBERT, A.E. **Aging and Nonlinear Heart Rate Control in a Healthy Population.** American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, v.290, p.2560-70, 2006.

BENCZE, M.; BEHULIAK, M.; ZICHA, J. **The Impact of Four Different Classes of Anesthetics on the Mechanisms of Blood Pressure Regulation in Normotensive and Spontaneously Hypertensive Rats.** Physiology Research, v.62, p.471-8, 2013.

BERG-JOHNSEN, J.; LANGMOEN, I.A. **The Effect of isoflurane on Excitatory Synaptic Transmission in the Rat Hippocampus.** Acta Anaesthesiologica Scandinavica, v.36, p.350-5, 1992.

BERNARDI, L.; SALVUCCI, F.; SUARDI, R. **Evidence for an Intrinsic Mechanism Regulating Heart Rate Variability in the Transplanted and the Intact Heart During Submaximal Dynamic Exercise?.** Cardiovascular Research, v.24, p.969-81, 1990.

BERNTSON, G.G.; LOZANO, D.L.; CHEN, Y-J. **Filter Properties of Root Mean Square Successive Difference (RMSSD) for Heart Rate.** Psychophysiology, v.42, p.246-52, 2005.

BERNTSON, G.G.; NORMAN, G.J.; HAWLEY, L.C.; CACIOPPO, J.T. **Cardiac Autonomic Balance Versus Regulatory Capacity.** Psychophysiology, n.45, p.643-52, 2008.

BERTRAM, D.; BARRE`S, C.; CHENG, Y.; JULIEN, C. **Norepinephrine Reuptake, Baroreflex Dynamics and Arterial Pressure Variability in Rats.** American Journal of Physiology, v.279, p.1257-67, 2000.

BILLMAN, G.E. **Heart Rate Variability – A Historical Perspective.** Frontiers, v.2, p.1-13, 2011.

BINKLEY, P.F.; EATON, G.M.; NUNZIATA, E.; KHOT, U.; CODY, R.J. **Heart Rate Alternans.** Annals of Internal Medicine, v.122, p.115-7, 1995.

BISHOP, V.S.; MALLIANI, A.; THOREN, P. **Cardiac Mechanoreceptors**. V.3. Bethesda, Md, American Physiological Society, 1983, p.497-555.

BRACEWELL, R.N. **The Fourier Transform**. Scientific American. 1989.

BRANSON, K.R. **Injectable Anesthetics**. Ames (IA): State University Press, 2001. p.247-58.

BROWN, D.R.; BROWN, L.V.; PATWARDHAN, A.; RANDALL, D.C. **Sympathetic Activity and Blood Pressure Are Tightly Coupled at 0.4 Hz in Conscious Rats**. American Journal of Physiology, v.267, p.1378-84, 1994.

BRYCE, R.M.; SPRAGUE, K.B. **Revisiting Detrended Fluctuation Analysis**. Science, v.2, n.315, p.1-6, 2012.

BUITRAGO, S.; MARTIN, T.E.; TETENS-WOODRING, J.; BELICHA-VILLANUEVA, A.; WILDING, G.E. **Safety and Efficacy of Various Combinations of Injectable Anesthetics in BALB/c Mice**. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, v.47, p.11-7, 2008.

CAMPAGNA, J. A.; MILLER, K.W.; FORMAN, S.A. **Mechanisms of Actions of Inhaled Anesthetics**. The New England Journal of Medicine, v.348, p.2110-24, 2003.

CARRUBA, M.; BONDILOTTI, G.; PICOTTI, G.; CATTERUCCIA, N.; PRADA, M.da. **Effects of diethyl ether, halothane, ketamine and urethane on Sympathetic Activity in the Rat**. European Journal of Pharmacology, v.87, p.90126-9, 1987.

CARTER, J.; STORY, D.A. **Veterinary and Human Anaesthesia: An Overview of Some Parallels and Contrasts**. Anaesthesia and Intensive Care, v.41, p.710-8, 2013.

CASTIGLIONI, P.; DI RIENZO, M.; VEICSTEINAS, A.; PARATI, G.; MERATI, G. **Mechanisms of Blood Pressure and Heart Rate Variability: An Insight from Low Level Paraplegia**. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v.292, p.1502-9, 2007.

CASTIGLIONI, P.; PARATI, G.; DI RIENZO, M.; CARABALONA, R.; CIVIDJIAN, A.; QUINTIN, L. **Scale Exponents of Blood Pressure and Heart Rate During Autonomic Blockade as Assessed by Detrended Fluctuation Analysis**. Journal of Physiology, v.589, p.355-69, 2011.

CASTIGLIONI, P.; CORUZZI, P.; BINI, M.; PARATI, G.; FAINI, A. **Multiscale Sample Entropy of Cardiovascular Signals: Does the Choice between Fixed- or Varying-Tolerance among Scales Influence Its Evaluation and Interpretation?**. Entropy, v.19, n.590, p.1-12, 2017.

CASTIGLIONI, P.; PARATI, G.; FAINI, A. **Information-Domain Analysis of Cardiovascular Complexity: Night and Day Modulations of Entropy and the Effects of Hypertension**. Entropy, v.21, p.550, 2019.

CERUTTI, C.; GUSTIN, M.P.; PAULTRE, C.Z.; LOW, M.; JULIEN, C.; VINCENT, M.; SASSARD, J. **Autonomic Nervous System and Cardiovascular Variability in Rats: A Spectral Analysis Approach**. American Journal of Physiology, v.261, p.1292-9, 1991.

CHESS, G.F.; TAM, R.M.K.; CALARESU, F.R. **Influence of Cardiac Neural Inputs on Rhythmic Variations of Heart Period in the Cat**. American Journal of Physiology, v.228, p.775-80, 1975.

CHUNG, A.; FISHMAN, M.; DASENBROOK, E.C.; LOPARO, K.A.; DICK, T.E.; JACONO, F.J. **Isoflurane and ketamine Anesthesia Have Different Effects on Ventilator Pattern Variability in Rats**. Respiratory Physiology & Neurobiology, v.185, p.659-64, 2013.

CLARK, K.W.; HALL, L.W. **Xylazine - A New Sedative for Horses and Cattle**. Veterinary Record, v.85, p.512-7, 1969.

CLEMENT, E.A.; RICHARD, A.; THWAITES, M.; AILON, J.; PETERS, S.; DICKSON, C.T. **Cyclic and Sleep-like Spontaneous Alternations of Brain State Under urethane Anaesthesia**. PLoS One, v.3, n.4, p.1-15, 2008.

COOKE, W.H.; HOAG, J.B.; CROSSMAN, A.A.; KUUSELA, T.A.; TAHVANAINEN, K.U.; ECKBERG, D.L. **Human Responses to Upright Tilt: A Window on Central Autonomic Integration**. Journal of Physiology, v.517, p.617-28, 1999.

COSTA, M.; GOLDBERGER, A.L.; PENG, C-K. Multiscale Entropy Analysis of Complex Physiologic Time Series. Physical Review Letters, v.89, p.068-102, 2002.

COSTA, M.; GOLDBERGER, A.L.; PENG, C.K. **Multiscale Entropy Analysis of Biological Signals**. Physical Review E: Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics, v.71, n.2, p. 0219061-18, 2005.

COSTA, M.D.; DAVIS, R.B.; GOLDBERGER, A.L. **Heart Rate Fragmentation: A New Approach to the Analysis of Cardiac Interbeat Interval Dynamics**. Frontiers in Physiology, v.8, n.255, p.1-13, 2017a.

COSTA, M.D.; DAVIS, R.B.; GOLDBERGER, A.L. **Heart Rate Fragmentation: A Symbolic Dynamical Approach**. Frontiers in Physiology, v.8, n.827, p.1-14, 2017b.

COSTA, M.D.; REDLINE, S.; DAVIS, R.B.; HECKBERT, S.R.; SOLIMAN, E.Z.; GOLDBERGER, A.L. **Heart Rate Fragmentation as a Novel Biomarker of Adverse Cardiovascular Events: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis**. Frontiers in Physiology, v.9, n.1117, p.1-14, 2018.

COSTA, M.D.; GOLDBERGER, A.L. **Heart Rate Fragmentation: Using Cardiac Pacemaker Dynamics to Probe the Pace of Biological Aging**. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, v.316, p.1341-4, 2019.

CROWDER, C.M.; EVERS, A.S. **Essential Drugs in Anesthetic Practice: Mechanisms of anesthetic action**. 2 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. p.359-84.

CYSARZ, D.; PORTA, A.; MONTANO, N.; VAN LEEUWEN, P.; KURTHS, J.; WESSEL, N. **Quantifying Heart Rate Dynamics Using Different Approaches of Symbolic Dynamics**. European Physical Journal Special Topics, v.222, p.487-500, 2013.

DA SILVA, T.M.; SILVA, C.A.A.; SALGADO, H.C.; FAZAN Jr., R.; SILVA, L.E.V. **The Role of the Autonomic Nervous System in the Patterns of Heart Rate Fragmentation**. Biomedical Signal Processing and Control, v.67, p.1-7, 2021.

DAMIAN, D.; HERLICH, A. **Mechanisms of Anesthetic Action**. 1 ed. Nova York, NY: Springer Science+Business Media, 2015. p.119-22.

DAMPNEY, R.A.L. **Central Neural Control of the Cardiovascular System: Current Perspectives**. Advances in Physiology Education, v.40, p.283-96, 2016.

DESARRO, G.B.; ASCIOTI, C.; FROIO, F.; LIBRI, V.; NISTICO, G. **Evidence that Locus Coeruleus is the Site Where clonidine and Drugs Acting at alpha 1- and alpha 2-Adrenoceptors Affect Sleep and Arousal Mechanisms**. British Journal of Pharmacology, v.90, p.675-85, 1987.

DIAS, D.P.M.; SILVA, L.E.V.; KATAYAMA, P.L.; SILVA, C.A.A.; SALGADO, H.C.; FAZAN Jr., R. **Correlation Between RR, Inter-Systolic and Inter-Diastolic Intervals and Their Differences for the Analysis of Spontaneous Heart Rate Variability**. Physiological Measurement, v.37, p.1120-8, 2016;

DOMINO, E.F.; CHODOFF, P.; CORSSSEN, G. **Pharmacological Effects of CI-581, A New Dissociative Anesthetic in Man**. Clinical Pharmacology and Therapeutics, v.6, p.279-90, 1965.

DOMITROVICH, P.P.; STEIN, P.K. **A New Method to Detect Erratic Sinus Rhythm in RR-Interval Files Generated from Holter Recordings**. Computing in Cardiology, v.26, p.665-8, 2002.

DONCHIN, Y.; FELD, J.M.; PORGES, S.W. **Respiratory Sinus Arrhythmia During Recovery from isoflurane-nitrous oxide Anesthesia**. Anesthesia and Analgesia, v.64, n.8, p.811-5, 1985.

DONDERS, F.C. **Zur Physiologie des Nervus Vagus**. Pflügers Archiv European Journal of Physiology, v.1, p.331-61, 1868.

DOWDY, E.G.; KAYA, K. **Studies on the Mechanism of Cardiovascular Responses to CI-581**. Anesthesiology, v.29, p.931-43, 1968.

DRINGENBERG, H.C.; VANDERWOLF, C.H. **Some General Anesthetics Reduce Serotonergic Neocortical Activation and Enhance the Action of Serotonergic Antagonists**. Brain Research Bulletin, v.36, p.285-92, 1995.

DUKE, P.C.; TROSKY, S. **The Effect of halothane with nitrous oxide on Baroreflex Control of Heart Rate in Man**. Canadian Journal of Anesthesia, v.27, p.531-4, 1980.

EGER, E.I. **Isoflurane**: a review. Anesthesiology, v.55, p.559-76, 1981.

EGER, E.I. **The Pharmacology of isoflurane**. British Journal of Anaesthesiology, v.56, p.71-99, 1984.

EKE, A.; HERMAN, P.; KOCSIS, L.; KOZAK, L. **Fractal Characterization of Complexity in Temporal Physiological Signals**. *Physiological Measurement*, v.23, 2002.

EL-MAS, M.M.; ABDEL-RAHMAN, A.A. **Contrasting Effects of urethane, ketamine, and thiopental Anesthesia on ethanol-clonidine Hemodynamic Interaction**. *Alcohol: Clinical and Experimental Research*, v.21, n.1, p.19-27, 1997.

ERHARDT, W.; HENKE, J.; HABERSTROH, J.; BAUMGARTNER, C.; TACKE, S. **Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen**. 2 ed. Stuttgart: Schattauer; 2012.

ERNST, G. **Heart Rate Variability - More than Heart Beats?**. *Frontiers*, v.5, p.1-12, 2017.

EWING, D.J.; NEILSON, J.M.; TRAVIS, P. **New Methods for Assessing Cardiac Parasympathetic Activity Using 24-Hour Electrocardiograms**. *British Heart Journal*, v.52, p.396, 1984.

EWING, D.J.; MARTIN, C.N.; YOUNG, R.J.; CLARKE, B.F. **The Value of Cardiovascular Autonomic Function Tests: 10 Years' Experience in Diabetes**. *Diabetes Care*, v.8, p.491-8, 1985.

FADEL, P.J.; ORER, H.S.; BARMAN, S.M.; VONGPATANASIN, W.; VICTOR, R.G.; GEBBER, G.L. **Fractal Properties of Human Muscle Sympathetic Nerve Activity**. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v.286, p.1076-87, 2004.

FAZAN Jr, R.; SALGADO, H.C. **Variabilidade da Frequência Cardíaca: Métodos Clássicos**. *Revista Brasileira de Hipertensão*, v.20, n.3, p.2-11, 2017.

FIELD, K.J.; WHITE, W.J.; LANG, C.M. **Anaesthetic Effects of chloral hydrate, pentobarbitone and urethane in Adult Male Rats**. *Laboratory Animal*, v.27, n.3, p.258-69, 1993.

FLECKNELL, P. **Anesthesia of Common Laboratory Species**. 2 ed. London (UK): Academic Press, 1996. p.159-224.

FLECKNELL, P. **General Anaesthesia**. 3 ed. Elsevier Inc: Academic Press, 2009. p.20.

FLECKNELL, P.; LOFGREN, J.L.S.; DYSON, M.C.; MARINI, R.R.; SWINDLE, M.M.; WILSON, R.P. **Preanesthesia, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia**. 3 ed. Nova York, NY: Nova Elsevier/ Academic Press, 2015. p.1135-1200.

FLECKNELL, P.; THOMAS, A.A. **Comparative Anesthesia and Analgesia of Laboratory Animals**. 5 ed. John Wiley & Sons, Inc., 2015. p.754-63.

FLEISHER, L.A. **Heart Rate Variability as an Assessment of Cardiovascular Status**. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, v.10, n.5, p.659-71, 1996.

FLOYER, S.J. **The Physician's Pulse-Watch. An Essay to Explain the Old Art of Feeling the Pulse, and to Improve it by Help of the Pulse Watch.** V.1, Published by S.Smith and B. Walford (London), 1707.

FLOYER, S.J. **The Pulse Watch.** Published by J.Nicholson, W.Taylor, and J.H.Clements (London), 1710.

FRANKS, N.P.; LIEB, W.R. **Do General Anaesthetics Act by Competitive Binding to Specific Receptors?** Nature, v.310, n.5978, p.599-601, 1984.

FRANKS, N.P.; LIEB, W.R. **Molecular and Cellular Mechanisms of General Anaesthesia.** Nature, v.367, p.607-14, 1994.

FRANKS, N.P.; HONORE, E. **The TREK K2P Channels and their Role in General Anaesthesia and Neuroprotection.** Trends in Pharmacology Sciences, v.25, p.601-8, 2004.

FRANKS, N.P. **Molecular Targets Underlying General Anaesthesia.** British Journal of Pharmacology, v.147, p.72-81, 2006.

FRANKS, N. P. **General Anaesthesia: From Molecular Targets to Neuronal Pathways of Sleep and Arousal.** Nature Reviews Neuroscience, v.9, n.5, p.370-86, 2008.

FRIEDMAN, B. **Alternation of Cycle Length in Pulsus Alternans.** American Heart Journal, v.51, p.701-12, 1956.

FUJIWARA, Y.; KUROKAWA, S.; ASAKURA, Y.; WAKAO, Y.; NISHIWAKI, K.; KOMATSU, T. **Correlation Between Heart Rate Variability and Haemodynamic Fluctuation During Induction of General Anaesthesia: Comparison Between Linear and Non-linear Analysis.** Anaesthesia, v.62, p.17-21, 2007.

FURLAN, R.; PORTA, A.; COSTA, F.; TANK, J.; BAKER, L.; SCHIAVI, R. **Oscillatory Patterns in Sympathetic Neural Discharge and Cardiovascular Variables During Orthostatic Stimulus.** Circulation, v.101, p.886-92, 2000.

GAERTNER, D.J.; HALLMAN, T.M.; HANKENSON, F.C.; BATCHELDER, M.A. **Anesthesia and Analgesia for Laboratory Rodents.** London (UK): Elsevier, 2008. p.239-97.

GAGE, P.W.; ROBERTSON, B. **Prolongation of Inhibitory Postsynaptic Currents by pentobarbitone, halothane and ketamine in CA1 Pyramidal Cells in Rat Hippocampus.** British Journal of Pharmacology, v.85, p.675-81, 1985.

GALLETLY, D.C.; BUCKLEY, D.H.F.; ROBINSON, B.J.; CORFIATIS, T. **Heart Rate Variability During propofol Anaesthesia.** British Journal of Anaesthesia, v.72, p.219-20, 1994.

GARGIULO, S.; GRECO, A.; GRAMANZINI, M.; ESPOSITO, S.; AFFUSO, A.; BRUNETTI, A.; VESCE, G. **Mice Anesthesia, Analgesia, and Care, Part I: Anesthetic Considerations in Preclinical Research.** ILAR Journal, v.53, p.55-69, 2012.

GEIGER, A.; GOERNER, J. **Premature Beats of Sinus Origin: Electrocardiographic Demonstration of a Clinical Case.** American Heart Journal, v.30, p.284-91, 1945.

GIL, E.; ORINI, M.; BAILÓN, R.; VERGARA, J.M.; MAINARDI, L.; LAGUNA, P. **Photoplethysmography Pulse Rate Variability as a Surrogate Measurement of Heart Rate Variability during Nonstationary Conditions.** Physiological Measurement, v.31, n.9, p.1271-90, 2010.

GIROUX, M.C.; HELIE, P.; BURNS, P.; VACHON, P. **Anesthetic and Pathological Changes Following High Doses of ketamine and xylazine in Sprague Dawley Rats.** Experimental Animals, v.64, n.3, p.253-60, 2015.

GOLDBERGER, A.L. **Is the normal heartbeat chaotic or homeostatic?.** News in Physiological Sciences, v.6, p.87-91, 1991.

GOLDBERGER, A.L. **Non-linear Dynamics for Clinicians: Chaos Theory, Fractals, And Complexity at The Bedside.** Lancet, v.347, p.1312-4, 1996.

GOLDBERGER, A.L. **Fractal Variability Versus Pathologic Periodicity: Complexity Loss and Stereotypy in Disease.** Perspectives in Biology and Medicine, v.40, n.4, p.543-61, 1997.

GOLDBERGER, A.L.; AMARAL, L.A.; GLASS, L.; HAUSDORFF, J.M.; IVANOV, P.C.; MARK, R.G.; MIETUS, J.E.; MOODY, G.B.; PENG, C.K.; STANLEY, H.E. **PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet: Components of a New Research Resource for Complex Physiologic Signals.** Circulation, v.101, p.215-20, 2000.

GOLDBERGER, A.L.; AMARAL, L.A.N.; HAUSDORFF, J.M.; IVANOV, P.C.; PENG, C-K.; STANLEY, H.E. **Fractal Dynamics in Physiology: Alterations with Disease and Aging.** PNAS, v.99, n.1, p.2466-72, 2002.

GOLDBERGER, A.L. **Giles f. Filley Lecture. Complex Systems.** Proceedings of the American Thoracic Society, v.3, p.467-71, 2006.

GONSENHAUSER, I.; WILSON, C.G.; HAN, F.; STROHL, K.P.; DICK, T.E. **Strain Differences in Murine Ventilatory Behavior Persist After urethane Anesthesia.** Journal of Applied Physiology, v.97, n.3, p.888-94, 1985.

GRATTON, J.P.; MAURICE, M.C.; RAE, G.A.; D'ORLÉANS-JUSTE, P. **Pharmacological Properties of Endothelins and Big Endothelins in ketamine/xylazine or urethane Anesthetized Rats.** American Journal of Hypertension, v.8, n.11, p.1121-7, 1995.

GREEN, C.J.; KNIGHT, J.; PRECIOUS, S.; SIMPKIN, S. **Ketamine Alone and Combined with diazepam or xylazine in Laboratory Animals: A 10 Year Experience.** Laboratory Animals, v.15, p.163-70, 1981.

GREEN, C.J. **Animal Anesthesia.** 8 ed. London (UK): Laboratory Animals, 1982. p.1-300.

GREENE, S.A.; THURMON, J.C. **Xylazine - A Review of its Pharmacology and Use in Veterinary Medicine**. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, v.11, p.295-313, 1988.

GUYTON, A.C.; HARRIS, J.W. **Pressoreceptor Autonomic Oscillation: A Probable Cause of Vasomotor Waves**. American Journal of Physiology, v.165, p.158-66, 1951.

GUZZETTI, S.; BORRONI, E.; GARBELLI, P.E.; CERIANI, E.; BELLA, P.D.; MONTANO, N. **Symbolic Dynamics of Heart Rate Variability: A Probe to Investigate Cardiac Autonomic Modulation**. Circulation, v.112, n.4, p.465-70, 2005.

GUZZETTI, S.; MARCHI, A.; BASSANI, T.; CITERIO, G.; PORTA, A. **Univariate and Bivariate Symbolic Analyses of Cardiovascular Variability Differentiate General Anesthesia Procedures**. Physiological Measurements, v.36, p.715-26, 2015.

HALES, S. **Statistical Essays: Concerning Haemastatics: An Account of Some Hydraulic and Hydrostatical Experiments Made on the Blood and Blood Vessels of Animals**. Published by W.Innys and R.Manby (London), 1733.

HAMSTRA, W.N.; DORAY, D.; DUM, J.D. **The Effects of urethane on Pituitary-Adrenal Function of Female Rats**. Acta Endocrinologica, v.106, p.362-7, 1984.

HARDSTONE, R.; POIL, S-S.; SCHIAVONE, G.; JANSEN, R.; NIKULIN, V.V.; MANSVELDER, H.D.; LINKENKAER-HANSEN, K. **Detrended Fluctuation Analysis: A Scale-free View on Neuronal Oscillations**. Frontiers in Physiology, v.3, p.1-13, 2012.

HARIDAS, R.P. **Horace Wells' Demonstration of nitrous oxide in Boston**. Anesthesiology, v.119, p.1014-22, 2013.

HARIDAS, R.P. **The Etymology and Use of the Word 'Anaesthesia'**: Oliver Wendell Holmes' Letter to W. T. G. Morton. Anaesthesia and Intensive Care, v.44, p.:38-44, 2016.

HARKNESS, J.E.; WAGNER, J.E. **Biologia e Clínica de Coelhos e Roedores**. 3 ed. São Paulo, Roca, 1993. p. 238.

HEGARTY, A.A.; HAYWARD, L.F.; FELDER, R.B. **Sympathetic Responses to Stimulation of Area Postrema in Decerebrate and Anesthetized Rats**. American Journal of Physiology, v.268, p.1086-95, 1995.

HEMMINGS Jr, H.C.; AKABAS, M.H.; GOLDSTEIN, P.A.; TRUDELL, J.R.; ORSER, B.A.; HARRISON, N.L. **Emerging Molecular Mechanisms of General Anesthetic Action**. Trends in Pharmacological Sciences, v.26, n.10, p.503-10, 2005.

HEMMINGS Jr, H.C. **Sodium Channels and the Synaptic Mechanisms of Inhaled Anaesthetics**. British Journal of Anaesthesia, v.103, p.61-9, 2009.

HIRSCH, J.A.; BISHOP, B. **Respiratory Sinus Arrhythmia in Humans: How Breathing Pattern Modulates Heart Rate**. American Journal of Physiology, v.241, p.620-9, 1981.

HOFF, H.E; GEDDES, L.A.; MCCRADY, J.D. **The Contributions of the Horse to Knowledge of the Heart and Circulation. I Stephen Hales and the Measurement of Blood Pressure.** Connecticut Medicine, v.29, p.795-800, 1965.

HON, E.H; LEE, S.T. **Electronic Evaluations of the Fetal Heart Rate Patterns Preceding Fetal Death, Further Observations.** American Journal of Obstetrics and Gynecology, v.87, p.814-26, 1965.

HOWELL, S.J.; WANXGASEKERA, V.; YOUNG, J.D. **Effects of propofol and thiopentone, and benzodiazepine Premedication on Heart Rate Variability Measured by Spectral Analysis.** British Journal of Anaesthesia, v.74, p.168-73, 1995.

HUANG, H.H.; CHAN, H.L.; LIN, P.L.; WU, C.P.; HUANG, C.H. **Time-Frequency Spectral Analysis of Heart Rate Variability During Induction of General Anaesthesia.** British Journal of Anaesthesia, v.79, p.754-8, 1997.

HYNDMAN, B.W.; KITNEY, R.I.; SAYERS, B.M. **Spontaneous Rhythms in Physiological Control Systems.** Nature, v.233, p.339-41, 1971.

HYNDMAN, B.W.; GREGORY, J.R. **Spectral Analysis of Sinus Arrhythmia During Mental Loading.** Ergonomics, v.18, p.255-7, 1975.

IQBAL, F.; THOMPSON, A.J.; RIAZ, S.; PEHAR, M.; RICE, T.; SYED, N.I. **Anesthetics: From Modes of Action to Unconsciousness and Neurotoxicity.** Journal of Neurophysiology, v.122, p.760-87, 2019.

IVANOV, P.C.; AMARAL, L.A.N.; GOLDBERGER, L.A.; HAVLIN, S.; ROSENBLUM, M.G.; STRUZIKK, Z.R.; STANLEY, H.E. **Multifractality in Human Heartbeat Dynamics.** Nature, v.399, p.461-5, 1999.

JALIFE, J. **Modulated Parasystole: Still Relevant After All These Years.** Heart Rhythm, v.10, p.1441-3, 2013.

JANSSEN, B.J.A.; DE CELLE, T.; DEBETS, J.J.M.; BROUNS, A.E.; CALLAHAN, M.F.; SMITH, T.L. **Effects of Anesthetics on Systemic Hemodynamics in Mice.** American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, v.287, p.1618-24, 2004.

JESPERSEN, B.; KNUPP, L.; NORTHCOTT, C.A. **Femoral Arterial and Venous Catheterization for Blood Sampling, Drug Administration and Conscious Blood Pressure and Heart Rate Measurements.** Journal of Visualized Experiments, v.59, p.1-8, 2012.

JONES, M.V.; BROOKS, P.A.; HARRISON, N.L. **Enhancement of γ -aminobutyric acid-activated Cl-currents in Cultured Rat Hippocampal Neurons by Three Volatile Anaesthetics.** Journal of Physiology (London), v.449, p.279-93, 1992.

JONES, M.V.; HARRISON, N.L. **Effects of Volatile Anesthetics on the Kinetics of Inhibitory Postsynaptic Currents in Cultured Rat Hippocampal Neurons.** Journal of Neurophysiology, v.70, n.4, p.1339-49, 1993.

JONES, R.S. **A History of Veterinary Anaesthesia**. *Anales de Veterinaria de Murcia*, v.18, p.7-15, 2002.

JULIEN, C. **The Enigma of Mayer Waves: Facts and Models**. *Cardiovascular Research*, v.70, p.12-21, 2006.

KAMATCHI, G.L.; CHAN, C.K.; SNUTCH, T.; DURIEUX, M.E.; LYNCH, C. **Volatile Anesthetic Inhibition of Neuronal Ca Channel Currents Expressed in Xenopus Oocytes**. *Brain Research*, v.831, p.85-96, 1999.

KAMIYA, A.; HAYANO, J.; KAWADA, T.; MICHIKAMI, D.; YAMAMOTO, K., ARIUMI, H. **Low-Frequency Oscillation of Sympathetic Nerve Activity Decreases During Development of Tilt-induced Syncope Preceding Sympathetic Withdrawal and Bradycardia**. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v.289, p.1758-69, 2005.

KANAYA, N.; HIRATA, N.; KUROSAWA, S.; NAKAYAMA, M.; NAMIKI, A. **Differential Effects of propofol and sevoflurane on Heart Rate Variability**. *Anesthesiology*, v.98, p.34-40, 2003.

KANNAN, H.; HAYASHIDA, Y.; YAMASHITA, H. **Increase in Sympathetic Outflow by Paraventricular Nucleus Stimulation in Awake Rats**. *American Journal of Physiology*, v.256, p.1325-30, 1989.

KATONA, P.G.; POITRAS, J.W.; BARNETT, G. O.; TERRY, B.S. **Cardiac Vagal Efferent and Heart Period in the Carotid Sinus Reflex**. *American Journal of Physiology*, v.218, p.1030-7, 1970.

KAZAMA, T.; IKEDA, K. **The Comparative Cardiovascular Effects of sevoflurane with halothane and isoflurane**. *Journal of Anesthesia*, v.2, p.63-8, 1988.

KLEIGER, R.E.; MILLER, J.P.; BIGGER, J.T.; MOSS, A.J. **Decreased Heart Rate Variability and its Association with Increased Mortality After Acute Myocardial Infarction**. *American Journal of Cardiology*, v.59, p.256-62, 1987.

KLEIGER, R.E.; STEIN, P.K.; BOSNER, M.S.; ROTTMAN, J.N. **Time Domain Measurements of Heart Rate Variability**. *Cardiology Clinics*, v.10, p.487-98, 1992.

KOMATSU, T.; SINGH, P.K.; KIMURA, T.; NISHIWAKI, K.; BANDO, K.; SHIMADA, Y. **Differential Effects of ketamine and midazolam on Heart Rate Variability**. *Canadian Journal of Anesthesia*, v.4, p.1003-9, 1995.

KOPP LUGLI, A.; YOST, C.S.; KINDLER, C.H. **Anaesthetic Mechanisms: Update on the Challenge of Unravelling the Mystery of Anaesthesia**. *European Journal of Anaesthesiology*, v.26, p.807-20, 2009.

KRAUS, A.L. **Research Methodology, VI Anesthetic Techniques**. Vol II. New York: Academic Press, 1980.

KRINKE, G.J. **The Laboratory Rat**. 1 ed. London: Academic Press, 2000.

KRONEBERG, G.; OBERDORF, A.; HOFFMEISTER, F.; WIRTH, W. **Zur Pharmakologie von Bayer. 1470, eines Hemnistoffes adrenergischer und cholinergischer Neuronc. Naunyn-Schmiedebergs.** Archiv fur Experimentelle Pathologie und Pharmakologie, v.216, p.257-80, 1967.

KUMAR, A.H.S.; CLOVER, A.J.P. **Intraperitoneal Co-administration of Low Dose urethane with xylazine and ketamine for Extended Duration of Surgical Anesthesia in Rats.** Laboratory Animal Research, v.31, n.4, p.174-9, 2015.

KUWAHARA, M.; YAYOU, K.; ISHII, K.; HASHIMOTO, S.; TSUBONE, H.; SUGANO, S. **Power Spectral Analysis of Heart Rate Variability as a New Method for Assessing Autonomic Activity in the Rat.** Journal of Electrocardiology, v.27, n.4, p.333-7, 1994.

LAKE, D.E.; RICHMAN, J.S.; GRIFFIN, M.P.; MOORMAN, J.R. **Sample Entropy Analysis of Neonatal Heart Rate Variability.** American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v.283, n.3, p.789-97, 2002.

LATSON, T.W.; MCCARROLL, S.M.; MIRHEJ, M.A. **Effects of Three Anesthetic Induction Techniques on Heart Rate Variability.** Journal of Clinical Anesthesia, v.4, p.265-76, 1992.

LEHRER, P.M.; VASCHILLO, E.; VASCHILLO, B.; LU, S.E.; ECKBERG, D.L.; EDELBERG, R. **Heart Rate Variability Biofeedback Increases Baroreflex Gain and Peak Expiratory Flow.** Psychosomatic Medicine, v.65, p.796-805, 2003.

LEWIS, T. **The Mechanism and Graphic Registration of the Heart Beat.** New York, NY: PB Hoeber, 1920.

LINCOLN, D.W. **Correlation on Unit Activity in the Hypothalamus with EEG Patterns Associated with the Sleep Cycle.** Experimental Neurology, v.24, p.1-18, 1969.

LINCOLN, D.W.; HILL, A.; WAKERLEY, J.B. **The Milk Ejection Reflex in the Rat: An Intermittent Function Not Abolished by Surgical Levels of Anesthesia.** Journal of Endocrinology, v.57, p.459-76, 1973.

LIU, C.Y.; LIU, C.C.; SHAO, P.; LI, L.P.; SUN, X.; WANG, X.P. **Comparison of Different Threshold Values r for Approximate Entropy:** Application to Investigate the Heart Rate Variability Between Heart Failure and Healthy Control Groups. Physiology Measurement, v.32, n.2, p.167-80, 2011.

LOGIER, R.; JEANNE, M.; DE JONCKHEERE, J.; DASSONNEVILLE, A.; DELECROIX, M.; TAVERNIER, B. **PhysioDoloris:** A Monitoring Device for Analgesia/Nociception Balance Evaluation Using Heart Rate Variability Analysis. 32nd Annual International Conference of the IEEE EMBS Buenos Aires, Argentina, 2010.

LOGIER, R.; DE JONCKHEERE, J.; DASSONNEVILLE, A.; JEANNE, M. **Comparison of Pulse Rate Variability and Heart Rate Variability for High Frequency Content Estimation.** Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, p.936-9, 2016.

LUDWIG, C. **Beitrage zur Kenntniss des Einflusses der Respirationen bewegungen auf den Blutlauf im Aortensysteme.** Archiv für Anatomie, Physiologie und Wissenschaftliche Medicin, v.13, p.242-3027, 1847.

MADWED, J.B.; ALBRECHT, P.; MARK, R.G.; COHEN, R.J. **Low-Frequency Oscillations in Arterial Pressure and Heart Rate: A Simple Computer Model.** American Journal of Physiology, v.256, p.1573-9, 1989.

MAESTRI, R.; PINNA, G.D.; ACCARDO, A.; ALLEGRINI, P.; BALOCCHI, R.; D'ADDIO, G.; FERRARIO, M.; MENICUCCI, D.; PORTA, A.; SASSI, R.; SIGNORINI, M.G.; LA ROVERE, M.T.; CERUTTI, S. **Nonlinear Indices of Heart Rate Variability in Chronic Heart Failure Patients: Redundancy and Comparative Clinical Value.** Journal of Cardiovascular Electrophysiology, v.18, p.425-33, 2007.

MAGGI, C.A.; MELI, A. **Suitability of urethane Anesthesia for Physiopharmacological Investigations in Various Systems. Part 1: General Considerations.** Experientia, v.42, p.109-14, 1986.

MAKIKALLIO, T.H.; KOISTINEN, J.; JORDAENS, L.; TULPPO, M.P.; WOOD, N.; GOLOSARSKY, B. **Heart Rate Dynamics Before Spontaneous Onset of Ventricular Fibrillation in Patients with Healed Myocardial Infarcts.** American Journal of Cardiology, v.83, p.880-4, 1999.

MALJCK, H.P.; FREUND, J.; PORTER, R.R. **Variability of Cardiac Output in Dogs under chloralose and urethane Anesthesia.** Toxicology and Applied Pharmacology, v.3, p.380-5, 1961.

MALLIANI, A. **Cardiovascular Sympathetic Afferent Fibers.** Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, v.94, p.11-74, 1982.

MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F. **Positive feedback reflexes.** V.8. Amsterdam, Elsevier Science Publishing Co, Inc, 1986. p.69-81.

MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F. **Cardiovascular Neural Regulation Explored in the Frequency Domain.** Circulation, v.84, p.482-92, 1991.

MALLIANI, A. **Association of Heart Rate Variability Components with Physiological Regulatory Mechanisms.** Armonk, NY: Futura Publishing Company, Inc., 1995. p.173-88.

MARTIN, J.; SCHNEIDER, J.; KOWALEWSKI, A.; JORDAN, D.; HAPFELMEIER, A.; KOCHS, E.F.; WAGNER, K.J.; SCHULZ, C.M. **Linear and Non-Linear Heart Rate Metrics for the Assessment of Anaesthetists' Workload During General Anaesthesia.** British Journal of Anaesthesia, v.117, n.6, p.767-74, 2016.

MAUCK, H.P.; FREUND, J.; PORTER, R.R. **Variability of Cardiac Output in Dogs under chloralose and urethane Anesthesia.** Toxicology and Applied Pharmacology, v.3, p.380-5, 1961.

McCARTHY, D.A.; CHEN, G.; KAUMP, D.H.; ENSOR, C. **General Anesthetic and Other Properties of 2-(O-chlorophenyl)-2-methylamino cyclohexane HCl (CI-58 1).** Journal of New Drugs, v.5, p.21-33, 1965.

McGRATH, J.C.; MacKENZIE, J.E.; MILLAR, R.A. **Effects of ketamine on Central Sympathetic Discharge and the Baroreceptor Reflex During Mechanical Ventilation**. *British Journal of Anaesthesia*, v.47, p.1141-7, 1975.

MERILLAT, V.A. **The Principles of Veterinary Surgery**. 2 ed. Chicago: Balliè re, Tindall & Cox, 1915.

MEYER, H. **Theorie der Alkoholnarkose**. *Naunyn-Schmiedebergs Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, v.42, p.109-18, 1899.

MILLER, K.W. **The Nature of Sites of General Anesthetic Action**. *British Journal of Anaesthesia*, v.89, n.1, p.17-31, 2002.

MINWANG, H-M.; HUANG, S-C. **SDNN/RMSSD as a Surrogate for LF/HF: A Revised Investigation**. *Modelling and Simulation in Engineering*, v.2012, n.931943, p.1-8, 2012.

MOENS, Y.; FARGETTON, X. **A Comparative Study of medetomidine/ketamine and xylazine/ketamine Anesthesia in Dogs**. *Veterinary Record*, v.127, p.567-71, 1990.

MORONI, F.; CORRADETTI, R.; CASAMENTI, F.; MONETI, G.; PEPEU, G. **The Release of Endogenous GABA and Glutamate from the Cerebral Cortex in the Rat**. *Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, v.316, p.235-9, 1981.

NAKATSUKA, I.; OCHIAI, R.; TAKEDA, J. **Changes in Heart Rate Variability in sevoflurane and nitrous oxide Anesthesia: Effects of Respiration and Depth of Anesthesia**. *Journal of Clinical Anesthesia*, v.14, p.196-200, 2002.

NAKAZATO, K.C.; MURTA Jr, L.O.; CRESCÊNCIO, J.C.; SILVA, L.E.V.; KOZUKI, R.T.; GALLO Jr, L. **Análise de Complexidade no Estudo da Variabilidade da Frequência Cardíaca por Meio da Entropia Aproximada**. 1 ed. 2012. p.52-70.

NICOLL, R.A.; ECCLES, J.C.; OSHIMA, T.; RUBIA, F. **Prolongation of Hippocampal Inhibitory Postsynaptic Potentials by Barbiturates**. *Nature*, v.258, p.625-6, 1975.

NISHIKAWA, K.; MACIVER, M.B. **Agent-selective Effects of Volatile Anesthetics on GABAA Receptor-mediated Synaptic Inhibition in Hippocampal Interneurons**. *Anesthesiology*, v.94, n.2, p.340-7, 2001.

OHSUMI, H.; SAKAMOTO, M.; YAMAZAKI, T.; OKUMURA, F. **Effects of fentanyl on Carotid Sinus Baroreflex Control of Circulation in Rabbits**. *American Journal of Physiology*, v.256, p.625-31, 1989.

OLSHANSKY, B.; SABBAH, H.N.; HAUPTMAN, P.J.; COLUCCI, W.S. **Parasympathetic Nervous System and Heart Failure: Pathophysiology and Potential Implications for Therapy**. *Circulation*, v.118, p.863-71, 2008.

OLTVAI, Z.N.; BARABASI, A.L. **Systems Biology. Life's Complexity Pyramid**. *Science*, v.298, p. 763-4, 2002;

OUYANG, W.; WANG, G.; HEMMINGS Jr, H.C. ***Isoflurane and propofol Inhibit Voltage-gated Sodium Channels in Isolated Rat Neurohypophysial Nerve Terminals***. *Molecular Pharmacology*, v.64, p.373-81, 2003.

OVERTON, E. **Studien über die Narkose**: zugleich ein Beitrag zur allgemeinen Pharmakologie. 1901. p.195.

PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; GUZZETTI, S.; RIMOLDI, O.; FURLAN, R.; PIZZINELLI, P.; SANDRONE, G.; MALFATTO, G.; DELL'ORTO, S.; PICCALUGA, E.; TURIEL, M.; BASELLI, G.; CERUTTI, S.; MALLIANI, A. **Power Spectral Analysis of Heart Rate and Arterial Pressure Variabilities as a Marker of Sympatho-Vagal Interaction in Man and Conscious Dog**. *Circulation Research*, v.59, n.2, p.178-93, 1986.

PARATI, G.; SAUL, J.P.; RIENZO, M.D.; MANCIA, G. **Spectral Analysis of Blood Pressure and Heart Rate Variability in Evaluating Cardiovascular Regulation**. *Hypertension*, v.25, p.1276-86, 1995.

PEÑÁZ, J.; HONZIKOVA, N.; FISHER, B. **Spectral Analysis of Resting Variability of Some Circulatory Parameters in Man**. *Physiologia Bohemoslovaca*, v.27, p.349-57, 1978.

PENG, C-K.; BULDYREV, S.V.; HAVLIN, S.; SIMONS, M.; STANLEY, H.E.; GOLDBERGER, A.L. **Mosaic Organization of DNA Nucleotides**. *Physical Review E*, v.49, p.1685-9, 1994.

PENG, C-K.; HAUSDORFF, J.M.; GOLDBERGER, A.L. **Fractal Mechanisms in Neural Control: Human Heartbeat and Gait Dynamics in Health and Disease**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.

PEROUANSKY, M.; HEMMINGS JR, H.C. **Presynaptic Actions of General Anesthetics**. Totowa, NJ: Humana Press, 2003. p.345-70.

PEROUANSKY, M.; PEARCE, R.; HEMMINGS, H. **Inhaled Anesthetics: Mechanisms of Action**. 2010.

PEROUANSKY, M. **The Quest for a Unified Model of Anesthetic Action: A Century in Claude Bernard's Shadow**. *Anesthesiology*, v.117, n.3, p.465-74, 2012.

PICHON, A.; ROULAUD, T.M.; ANTOINE-JONVILLE, S.; DE BISSCHOP, C.; DENJEAN, A. **Spectral Analysis of Heart Rate Variability: Interchangeability Between Autoregressive Analysis and Fast Fourier Transform**. *Journal of Electrocardiology*, v.39, p.31-7, 2006.

PICOLLO, C.; SERRA, A.J.; LEVY, R.F.; ANTONIO, E.L.; DOS SANTOS, L.; TUCCI, P.J.F. **Hemodynamic and Thermoregulatory Effects of xylazine-ketamine Mixture Persist Even After the Anesthetic Stage in Rats**. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.64, n.4, p.860-4, 2012.

PLANTE, E.; LACHANCE, D.; ROUSSEL, E.; DROLET, M.C.; ARSENAULT, M.; COUET, J. **Impact of Anesthesia on Echocardiographic Evaluation of Systolic and Diastolic Function in Rats**. *Journal of the American Society of Echocardiography*, v.19, n.12, p.1520-5, 2006.

PLUMB, D.C. **Veterinary Drug Handbook**. Ames (IA): Blackwell Publishing, 2005. p.631-6.

PLUMB, D.C. **Plumb's Veterinary Drug Handbook**. Hoboken (NJ): Wiley and Sons, 2011.

POMERANZ, B.; MACAULAY, R.J.B.; CAUDILL, M.A.; KUTZ, I.; ADAM, D.; GORDON, D.; KILBORN, K.M.; BARGER, A.C.; SHANNON, D.C.; COHEN, R.J.; BENSON, H. **Assessment of Autonomic Function in Humans by Heart Rate Spectral Analysis**. American Journal of Physiology, v.248, p.151-3, 1985.

PORGES, S.W.; BYRNE, E.A. **Research Methods for Measurement of Heart Rate and Respiration**. Biological Psychology, v.34, p.93-130, 1992.

PORTA, A.; GUZZETTI, S.; MONTANO, N.; FURLAN, R.; PAGANI, M.; MALLIANI, A.; CERUTTI, S. **Entropy, Entropy Rate, and Pattern Classification as Tools to Typify Complexity in Short Heart Period Variability Series**. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, v.48, p.1282-91, 2001.

PORTA, A.; FAES, L.; MASÉ, M.; D'ADDIO, G.; PINNA, G.D.; MAESTRI, R.; MONTANO, N.; FURLAN, F.; GUZZETTI, S.; NOLLO, G.; MALLIANI, A. **An Integrated Approach Based on Uniform Quantization for the Evaluation of Complexity of Short-Term Heart Period Variability: Application to 24 h Holter Recordings in Healthy and Heart Failure Humans**. Chaos, v.17, n.1, p.0511-7, 2007a.

PORTA, A.; TOBALDINI, E.; GUZZETTI, S.; FURLAN, R.; MONTANO, N.; GNECCHIRUSCONE, T. **Assessment of Cardiac Autonomic Modulation During Graded Head-up Tilt by Symbolic Analysis of Heart Rate Variability**. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, v.293, p.702-8, 2007b.

RAND, J.S.; REYNOLDS, W.T.; PRIEST, J. **Echocardiographic Evaluation of the Effects of medetomidine and xylazine in Dogs**. Australian Veterinary Journal, v.73, p.41-4, 1996.

RANDALL, D.C.; BROWN, D.R.; RAISCH, R.M.; YINGLING, J.D.; RANDALL, W.C. **SA-Nodal Parasympathectomy Delineates Autonomic Contributions to Heart Rate Power Spectrum**. American Journal of Physiology, v.260, p.985-8, 1991.

REDFORS, B.; SHAO, Y.; OMEROVIC, E. **Influence of Anesthetic Agent, Depth of Anesthesia and Body Temperature on Cardiovascular Functional Parameters in the Rat**. Laboratory Animals, v.48, n.1, p.6-14, 2014.

RICHMAN, J.S.; MOORMAN, J.R. **Physiological Time-Series Analysis Using Approximate Entropy and Sample Entropy**. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, v.278, p.2039-49, 2000.

ROSENBLUETH, A.; SIMEONE, F.A. **The Interrelations of Vagal and Accelerator Effects on the Cardiac Rate**. American Journal of Physiology, v.110, p.42-55, 1934.

RUDOLPH, U.; ANTKOWIAK, B. **Molecular and Neuronal Substrates for General Anaesthetics**. Nature Reviews Neuroscience, v.5, p.709-20, 2004.

SALO, M.A.; HUIKURI, H.V.; SEPPANEN, T. **Ectopic Beats in Heart Rate Variability Analysis: Effects of Editing on Time and Frequency Domain Measures.** *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, v.6, n.1, p.5-17, 2001.

SANDS, K.E.F.; APPEL, M.L.; LILLY, L.S.; SCHOEN, F.J.; MUDGE, G.H.; COHEN, R.J. **Assessment of Heart Rate Variability in Human Cardiac Transplant Recipients Using Power Spectrum Analysis.** *Circulation*, v.79, p.76-8, 1989.

SAUL, J.P.; ARAI, Y.; BERGER, R.D.; LILLY, L.S.; COLUCCI, W.S.; COHEN, R.J. **Assessment of Autonomic Regulation in Chronic Congestive Heart Failure by Heart Rate Spectral Analysis.** *American Journal of Cardiology*, v.61, p.1292, 1988.

SAUL, J.P. **Beat-to-Beat Variations of Heart Rate Reflect Modulation of Cardiac Autonomic Outflow.** *Advances in Neural Information Processing Systems*, v.5, p.32-7, 1990.

SAYERS, B.M. **Analysis of Heart Rate Variability.** *Ergonomics*, v.16, p.17-32, 1973.

SCHIPKE, J.D.; ARNOLD G.; PELZER, M. **Effect of Respiration Rate on Short-Term Heart Rate Variability.** *Journal of Clinical and Basic Cardiology*, v.2, p.92-5, 1999.

SCHWARTZ, D.A.; HORWITZ, L.D. **Effects of ketamine on Left Ventricular Performance.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v.194, p.410-4, 1975.

SCHWARTZ, D.D.; CLARK, T.P. **Affinity of detomidine, medetomidine and xylazine for α_2 Adrenergic Receptor Subtypes.** *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v.21, n.2, p.107-11, 1998.

SEELY, A.J.; MACKLEM, P.T. **Complex Systems and the Technology of Variability Analysis.** *Critical Care*, v.8, n.6, p.367-84, 2004.

SEVERS, W.B.; KEIL, L.C.; KLASE, P.A.; DEEN, K.C. **Urethane Anesthesia in Rats: Altered Ability to Regulate Hydratation.** *Pharmacology*, v.22, p.209-26, 1981.

SHAFFER, F.; MCCRATY, R.; ZERR, C.L. **A Healthy Heart is Not a Metronome: An Integrative Review of the Heart's Anatomy and Heart Rate Variability.** *Frontiers*, v.5, p.1-19, 2014.

SHAFFER, F.; GINSBERG, J.P. **An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms.** *Frontiers in Public Health*, v.5, p.1-17, 2017.

SHARMA, V. **Deterministic Chaos and Fractal Complexity in the Dynamics of Cardiovascular Behavior: Perspectives on a New Frontier.** *The Open Cardiovascular Medicine Journal*, v.3, p.110-23, 2009;

SHIMOKAWA, A.; KUNITAKE, T.; TAKASAKI, M.; KANNAN, H. **Differential Effects of Anesthetics on Sympathetic Nerve Activity and Arterial Baroreceptor Reflex in Chronically Instrumented Rats.** *Journal of the Autonomic Nervous System*, v.72, p.46-54, 1998.

SHIN, W-J.; KANG, S-J.; KIM, Y-K.; SEONG, S-H.; HAN, S-M.; HWANG, G-S. **Link Between Heart Rate and Blood Pressure Mayer Wave During General Anesthesia**. *Clinical Autonomic Research*, v.21, p.309-17, 2011.

SILVA, L.E.V.; RODRIGUES, F.L.; DE OLIVEIRA, M.; SALGADO, H.C.; FAZAN Jr, R. **Heart Rate Complexity in Sinoaortic-Denervated Mice**. *Experimental Physiology*, v.100, n.2, p.156-63, 2015.

SILVA, L.E.V.; LATARO, R.M.; CASTANIA, J.A.; DA SILVA, C.A.A.; VALENCIA, J.F.; MURTA JR, L.O.; SALGADO, H.C.; FAZAN Jr, R.; PORTA, A. **Multiscale Entropy Analysis of Heart Rate Variability in Heart Failure, Hypertensive, and Sinoaortic-Denervated Rats: Classical and Refined Approaches**. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v.311, p.150-6, 2016.

SILVA, L.E.V. **Sistemas Não Lineares e Complexidade na Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca**. *Revista Brasileira de Hipertensão*, v.20, n.1, p.12-31, 2017.

SILVA, L.E.V.; GERALDINI, V.R.; DE OLIVEIRA, B.P.; SILVA, C.A.A.; PORTA, A.; FAZAN Jr, R. **Comparison Between Spectral Analysis and Symbolic Dynamics for Heart Rate Variability Analysis in the Rat**. *Scientific Reports*, v.7, n.8428, p.1-8, 2017.

SILVA, L.E.V.; FAZAN Jr, R.; MARIN-NETO, J.A. **PyBioS: A Freeware Computer Software for Analysis of Cardiovascular Signals**. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, v.197, p.1-12, 2020.

SLEIGH, J.; HARVEY, M.; VOSS, L.; DENNY, B. **Ketamine - More Mechanisms of Action Than Just NMDA Blockade**. *Trends in Anaesthesia and Critical Care*, v.4, p.76-81, 2014.

SMILER, K.L.; STEIN, S.; HRAPKIEWICZ, K.L.; HIBEN, J.R. **Tissue Response to Intramuscular and Intraperitoneal Injections of ketamine and xylazine in Rats**. *Laboratory Animal Sciences*, v.40, p.60-4, 1990.

SMITH, W. **Responses of Laboratory Animals to Some Injectable Anaesthetics**. *Laboratory Animals*, v.27, n.1, p.30-9, 1993.

SMITHCORS, J.F. **The Early Use of Anaesthesia in Veterinary Practice**. *British Veterinary Journal*, v.113, p.284-91, 1957.

SOLLMAN, T. **Manual of Pharmacology**. 7 ed. Saunders, Philadelphia, 1949.

SON, Y. **Molecular Mechanisms of General Anesthesia**. *Korean Journal of Anesthesiology*, v.59, n.1, p.3-8, 2010.

SPENCER, G.E.; SYED, N.I.; LUKOWIAK, K.; WINLOW, W. **Halothane Affects Both Inhibitory and Excitatory Synaptic Transmission at a Single Identified Molluscan Synapse, in Vivo and in Vitro**. *Brain Research*, v.714, p.38-48, 1996.

STEIN, P.K. **Heart Rate Variability is Confounded by the Presence of Erratic Sinus Rhythm**. *Computing in Cardiology*, v.26, p.669-72, 2002.

STEIN, P.K.; REDDY, A. **Non-Linear Heart Rate Variability and Risk Stratification in Cardiovascular Disease**. Indian Pacing and Electrophysiology Journal, v.5, p.210-20, 2005.

STEKIEL, T.A.; CONTNEY, S.J.; KOKITA, N.; BOSNJAK, Z.J.; KAMPINE, J.P.; STEKIEL, W.J. **Mechanisms of isoflurane-Mediated Hyperpolarization of Vascular Smooth Muscle in Chronically Hypertensive and Normotensive Conditions**. Anesthesiology, v.94, n.3, p.496-506, 2001.

STEVENSON, D.E. **The Evolution of Veterinary Anaesthesia**. British Veterinary Journal, v.119, p.477-83, 1963.

STROBEL, G. E.; WOLLMAN, H. **Pharmacology of Anesthetic Agents**. Federation Proceedings, v.28, p.1386-1403, 1969.

STRUCK, M.B.; ANDRUTIS, K.A.; RAMIREZ, H.E. BATTLES, A.H. **Effect of a Short-term Fast on ketamine-xylazine Anesthesia in Rats**. American Association for Laboratory Animal Science, v.50, p.344-8, 2011.

SUCKOW, M.; WEISBROTH, S.; FRANKLIN, C. **The Laboratory Rat: Anesthesia and Analgesia of Laboratory Animals**. 2 ed. Academic Press, 2005.

SUMITRA, M.; MANIKANDAN, P.; RAO, K.V.; NAYEEM, M.; MANOHAR, B.M.; PUVANAKRISHNAN, R. **Cardiorespiratory Effects of diazepam–ketamine, xylazine–ketamine and thiopentone Anesthesia in Male Wistar Rats: A Comparative Analysis**. Life Sciences, v.75, n.15, p.1887-96, 2004.

TANAKA, K.; PETTINGER, W.A. **Renin Release and ketamine-Induced Cardiovascular Stimulation in the Rat**. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v.188, p.229-33, 1974.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY. **Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use**. European Heart Journal, v.17, p.354-81, 1996.

THURMON, J.C.; SHORT, C.E. **History and Overview of Veterinary Anesthesia**. 4 ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2007.

TILLER, W.A.; MCCRATY, R.; ATKINSON, M. **Cardiac Coherence: A New, Noninvasive Measure of Autonomic Nervous System Order**. Alternative Therapies, Health and Medicine, v.2, p.52-65, 1996.

TOBALDINI, E.; MONTANO, N.; WEI, S-G.; ZHANG, Z-H.; FRANCIS, J.; WEISS, R.M. **Autonomic Cardiovascular Modulation**. IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine, v.28, n.6, p.79-85, 2009.

TRABER, D.L.; WILSON, R.D. **Involvement of the Sympathetic Nervous System in the Pressor Response to ketamine**. Anesthesia and Analgesia, v.48, p.248-52, 1969.

TRANQUILLI, W.J; GRIMM, K.A. **Introduction: Use, Definitions, History, Concepts, Classification, and Considerations for Anesthesia and Analgesia.** 5 ed. Iowa: Wiley Blackwell, 2015. p.1-10.

TSUKAMOTO, A.; UCHIDA, K.; MAESATO, S.; SATO, R.; KANAI, E.; INOMA, T. **Combining isoflurane Anesthesia with midazolam and butorphanol in Rats.** *Experimental Animals*, v.65, n.3, p.223-30, 2016.

TYRRELL, D. **Haemostatics: Stephen Hales and the First Direct Measurement of Blood Pressure.** 2019. Disponível em: <<https://earlycareervoice.professional.heart.org/haemostatics-stephen-hales-and-the-first-direct-measurement-of-blood-pressure/>>. Acesso em: 09/09/2020.

UHRIG, L.; DEHAENE, S.; JARRAYA, B. **Cerebral Mechanisms of General Anesthesia.** *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, v.33, p.72-82, 2014.

URBAN, B.W. **Current Assessment of Targets and Theories of Anaesthesia.** *British Journal of Anaesthesia*, v.89, n.1, p.167-83, 2002.

VAN PELT, L.F. **Ketamine and xylazine for Surgical Anesthesia in Rats.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.171, p.842-4, 1977.

VAN RAVENSWAALL ARTS, C.M.; KOLLEE, L.A.; HOPMAN, J.C. **Heart Rate Variability.** *Annals of Internal Medicine*, v.118, p.436-47, 1993.

VIRTUE, R.W.; ALANIS, J.M.; MORI, M.; LAFARGUE, R.J.; VOGEL, J.H.; METCALF, D.R. **An Anesthetic Agent: 2-ortho-chlorophenyl, 2-methylamino cyclohexanone HCl (CI-581).** *Anesthesiology*, v.28, p.823-33, 1967.

VLAHAKOS, D.; GAVRAS, I.; GAVRAS, H. **α -Adrenoceptor Agonists Applied in the Area of the Nucleus Tractus Solitarii in the Rat: Effect of Anesthetics on Cardiovascular Responses.** *Brain Research*, v.347, p.372-5, 1985.

VOSS, A.; KURTHS, J.; KLEINER, H.J.; WITT, A.; WESSEL, N.; SAPARIN, P.; OSTERZIEL, K.J.; SCHURATH, R.; DIETZ, R. **The Application of Methods of Non-Linear Dynamics for the Improved and Predictive Recognition of Patients Threatened by Sudden Cardiac Death.** *Cardiovascular Research*, v.31, p.419-33, 1996.

VOSS, A.; SCHULZ, S.; SCHROEDER, R.; BAUMERT, M.; CAMINAL, P. **Methods Derived from Nonlinear Dynamics for Analysing Heart Rate Variability.** *Philosophical Transactions: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, v.367, p.277-96, 2009.

WANGER, T.; TAKAGAKI, K.; LIPPERT, M.T.; GOLDSCHMIDT, J.; OHL, F.W. **Wave Propagation of Cortical Population Activity Under urethane Anesthesia is State Dependent.** *BMC Neuroscience*, v.14, p.78, 2013.

WEIBEL, E. R. **Fractal Geometry: A Design Principle for Living Organisms.** *American Journal of Physiology*, v.261, p.361-9, 1991.

WELLINGTON, D.; MIKAELIAN, I.; SINGER, L. **Comparison of ketamine-xylazine and ketamine-dexmedetomidine Anesthesia and Intraperitoneal Tolerance in Rats**. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, v.52, n.4, p.481-7, 2013.

WESSEL, N.; ZIEHMANN, C.; KURTHS, J.; MEYERFELDT, U.; SCHIRDEWAN, A.; VOSS, A. **Short-Term Forecasting of Life-Threatening Cardiac Arrhythmias Based on Symbolic Dynamics and Finite-Time Growth Rates**. Physical Review E, v.61, p.733-9, 2000.

WEST, G.B.; BROWN, J.H.; ENQUIST, B.J. **A General Model for the Origin of Allometric Scaling Laws in Biology**. Science, v.276, p.122-6, 1997.

WIKLUND, U.; HORNSTEN, R.; KARLSSON, M.; SUHR, O.B.; JENSEN, S.M. **Abnormal Heart Rate Variability and Subtle Atrial Arrhythmia in Patients with Familial Amyloidotic Polyneuropathy**. Annals of Noninvasive Electrocardiology, v.13, p.249-56, 2008.

WINTERS, W.D.; FERRER, A.T.; GUZMAN-FLORES, C. **The Cataleptic State Induced by ketamine: A Review of the Neuropharmacology of Anesthesia**. Neuropharmacology, v.11, p.303-15, 1972.

WISNIAK, J. **Stephen Hales**. CENIC, v.43, n.3, p.1-15, 2012.

WIXSON, S.K. **Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals**. New York (NY): Academic Press, 1997.

WOOD LIBRARY MUSEUM. **History of Anesthesia**, 2016. Disponível em <www.woodlibrarymuseum.org/history-of-anesthesia/>. Acesso em 20/07/20.

YOSHIMOTO, T.; EGUCHI, K.; SAKURAI, H.; OHMICHII, Y.; HASHIMOTO, T.; OHMICHII, M.; MORIMOTO, A.; YAMAGUCHI, Y.; USHIDA, T.; IWASE, S.; SUGENOYA, J.; KUMAZAWA, T. **Frequency Components of Systolic Blood Pressure Variability Reflect Vasomotor and Cardiac Sympathetic Functions in Conscious Rats**. Journal of Physiological Sciences, v.61, p.373-83, 2011.

ZICKMANN, B.; HOFMANN, H.C.; POTTKAMPER, C.; KNOTHE, C.; BOLDT, J.; HEMPELMANN, G. **Changes in Heart Rate Variability During Induction of Anesthesia with fentanyl and midazolam**. Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia, v.110, n.5, p.609-13, 1996.

ZIMMERMAN, S.A.; JONES, M.V.; HARRISON, N.L. **Potentiation of Gamma-aminobutyric Acid A Receptor Cl-current Correlates With in Vivo Anesthetic Potency**. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v.270, p.987-91, 1994.

ⁱ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

A norma utilizada para elaboração das referências foi o sistema autor-data.