

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CARDIOLOGIA

**ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA COM PIRIDOSTIGMINA REDUZ  
ARRITMIA VENTRICULAR E AUMENTA A VARIABILIDADE DA  
FREQUÊNCIA CARDÍACA EM PACIENTES COM  
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Dra. Alice Behling**

**Orientador: Prof. Dr. Jorge Pinto Ribeiro**

Porto Alegre, Setembro de 2001

## AGRADECIMENTOS

Ao longo deste trabalho contei com o auxílio de várias pessoas, a quem desejo agradecer.

Ao Dr. Jorge Pinto Ribeiro, exemplo de cardiologista e pesquisador, agradeço a orientação e a oportunidade que me concedeu de desenvolver este trabalho.

À Dra. Nadine Clausell, que sempre me incentivou nesta trajetória, pelo apoio incondicional e solícita em todos os momentos em que precisei.

Ao Dr. Ruy Moraes, que realizou a análise das fitas de Holter, e muito me ensinou com seus conhecimentos e experiência nesta área, pelo apoio, pela orientação informal que sempre me prestou.

Ao físico Elton Ferlin, que participou da análise das fitas de Holter e sempre foi solícito nos momentos em que precisei.

Ao Dr. Luís Eduardo Rohde pelo inestimável auxílio na realização dos exames ecocardiográficos, como também pelo apoio e incentivo que sempre me prestou.

Ao Dr. Murilo Foppa pela análise estatística e por todo o apoio que me deu durante este trabalho.

Às funcionárias da Unidade de Métodos Não-Invasivos, às enfermeiras Marta e Eneida, pela colaboração e operacionalização, e especialmente, pelo auxílio na randomização dos pacientes.

Às acadêmicas Aline R Moraes e Thaís C. Grazziotin que contribuíram importantemente na coleta de dados e pelo apoio que me prestaram em todas as fases da execução do estudo.

A todos os colegas do ambulatório de insuficiência cardíaca.

Aos meus colegas de trabalho, pelo incentivo e compreensão.

Aos meus pais, por tudo que fizeram, durante toda a minha a vida.

Ao meu esposo, Edson, por ter, nestes últimos anos, adicionado amor e sentido a tudo, como também pela compreensão e estímulo.

Acima de tudo agradeço a Deus.

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>II</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>5</b>
<b>HIPÓTESES .....</b>	<b>7</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>7</b>
<b>PACIENTES E MÉTODOS.....</b>	<b>8</b>
1. Seleção da amostra .....	8
2. Protocolo .....	8
3. Análise de arritmia.....	9
4. Variabilidade da frequência cardíaca .....	9
5. Ecocardiografia com Efeito Doppler .....	10
6. Considerações Éticas.....	11
7. Análise Estatística .....	11
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>12</b>
1. Características da amostra.....	12
2. Arritmias ventriculares .....	14
3. Variabilidade da frequência cardíaca .....	15
4. Variáveis ecocardiográficas.....	17

<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>1. Brometo de Piridostigmina.....</b>	<b>18</b>
<b>2. Redução de arritmia ventricular com piridostigmina .....</b>	<b>19</b>
<b>3. Aumento da variabilidade da frequência cardíaca com piridostigmina.....</b>	<b>20</b>
<b>4. Efeitos da piridostigmina na função ventricular esquerda. ....</b>	<b>21</b>
<b>5. Possível relevância clínica e limitações.....</b>	<b>22</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>24</b>
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>28</b>
<b>Artigo submetido ao Journal of the American College of Cardiology.....</b>	<b>28</b>
<b>ANEXO 2.....</b>	<b>52</b>

## ABREVIATURAS

VFC	= variabilidade da frequência cardíaca
Onda A	= velocidade máxima do enchimento diastólico tardio
Onda E	= velocidade máxima do enchimento diastólico precoce
Relação E/A	= relação entre a velocidade de enchimento diastólico precoce e tardio
PLA	= placebo
PNN50	= porcentagem das diferenças sucessivas entre os intervalos RR adjacentes maiores do que 50ms
PIR	= brometo de piridostigmina
RMSSD	= raiz quadrada da média das diferenças sucessivas ao quadrado dos intervalos RR
SDANNi	= desvio padrão da média dos intervalos RR normais, medida em segmentos de 5 min
SDNN	= desvio-padrão de todos os intervalos RR normais
ESVs/h	= número de extrassístoles ventriculares por hora
ECG	= eletrocardiograma

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Dados individuais das extrassístoles ventriculares por hora.....	<b>19</b>
<b>Figura 2.</b>	Dados individuais do PNN50 e RMSSD.....	<b>21</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Características clínicas e demográficas dos pacientes.....	<b>19</b>
<b>Tabela 2.</b>	Variáveis ecocardiográficas.....	<b>22</b>

## RESUMO

**INTRODUÇÃO.** O aumento da densidade de arritmia ventricular e a redução da variabilidade da frequência cardíaca estão associados com risco de morte súbita e mortalidade total em insuficiência cardíaca. A inibição colinésterásica com brometo de piridostigmina (PIR) aumenta a variabilidade da frequência de pessoas normais, porém seu efeito em pacientes com insuficiência cardíaca é desconhecido.

**OBJETIVOS.** Testar a hipótese de que a administração a curto prazo de piridostigmina reduz a densidade de arritmia ventricular e aumenta a variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca.

**MÉTODOS.** Pacientes com insuficiência cardíaca e em ritmo sinusal participaram de um estudo duplo-cego, cruzado, randomizado para placebo e piridostigmina (30mg VO de 8 em 8 horas por 2 dias). Monitorização eletrocardiográfica ambulatorial de 24 horas foi realizada para análise de arritmia e para avaliação dos índices do domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca. Pacientes foram separados em 2 grupos, de acordo com a densidade de arritmia ventricular. O grupo Arritmia (n = 11) incluiu pacientes com mais de 10 extrassístoles ventriculares por hora (ESV/h), e o grupo Variabilidade da Frequência Cardíaca (n = 12) incluiu pacientes com um número de ESVs em 24 horas que não excedia 1 % do número total de intervalos RR.

**RESULTADOS.** No grupo Arritmia, PIR resultou em uma redução de 65% no número de extrassístoles ventriculares (Placebo  $266 \pm 56$  ESV/h vs. PIR  $173 \pm 49$  ESV/h;  $p = 0,03$ ). No grupo da Variabilidade da Frequência Cardíaca, a administração de PIR resultou em um aumento do intervalo RR médio (Placebo  $733 \pm 22$  ms vs PIR  $790 \pm 33$  ms;  $p = 0,01$ ), e nos



índices do domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca PNN50 (Placebo  $3 \pm 1,1$  % vs PIR  $6 \pm 1,6$  %;  $p = 0,03$ ) e RMSSD (Placebo  $21 \pm 2$  vs PIR  $27 \pm 3$ ;  $p = 0,008$ ).

**CONCLUSÃO.** Em pacientes com insuficiência cardíaca, PIR reduziu a densidade de arritmia ventricular e aumentou a VFC, provavelmente por seu efeito colinomimético. Estudos a longo prazo com PIR em insuficiência cardíaca devem ser realizados.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE** To test the hypothesis that short-term administration of pyridostigmine bromide (PYR) reduces ventricular arrhythmia density and increases heart rate variability in patients with congestive heart failure.

**BACKGROUND** Increased ventricular arrhythmia density and reduced heart rate variability are associated with risk of sudden death and overall mortality in patients with heart failure. Cholinesterase inhibition with pyridostigmine bromide increases heart rate variability in normal subjects, but its effect in patients with heart failure is unknown.

**METHODS** Patients with heart failure and in sinus rhythm participated in a double-blind, cross-over protocol, randomized for placebo and pyridostigmine (30 mg PO TID for 2 days). Twenty-four hour electrocardiographic recordings were performed for arrhythmia analysis and for the measurement of time domain indices of heart rate variability. Patients were separated in 2 groups, according to their ventricular arrhythmia density. The Arrhythmia Group (n = 11) included patients with more than 10 ventricular premature beats per hour (VPBs/h), and the Heart Rate Variability Group (n = 12) included patients with a number of VPBs in 24 hours not exceeding 1 % of the total number of RR intervals.

**RESULTS** For the Arrhythmia Group, PYR resulted in 65 % reduction of ventricular ectopic activity (Placebo  $266 \pm 56$  VPBs/h vs. PYR  $173 \pm 49$  VPBs/h;  $P = 0.03$ ). For the Heart Rate Variability Group, PYR administration resulted in an increment of mean RR interval (Placebo  $733 \pm 22$  msec vs PYR  $790 \pm 33$  msec;  $P = 0.01$ ), and in the time domain indices of heart rate variability RMSSD (Placebo  $21 \pm 2$  vs PYR  $27 \pm 3$ ;  $P = 0.01$ ) and PNN50 (Placebo  $3 \pm 1$  % vs PYR  $.6 \pm 2$  %;  $P = 0.03$ ).

**CONCLUSION** In patients with heart failure, PYR reduced ventricular arrhythmia density and increased HRV, most likely due to its cholinomimetic effect. Long-term trials with PYR in heart failure should be conducted.

**Key words:** autonomic nervous system, parasympathetic nervous system, sudden death

## INTRODUÇÃO

A despeito dos avanços no tratamento da insuficiência cardíaca por disfunção sistólica do ventrículo esquerdo, a prevenção de morte súbita permanece um grande desafio (1). Disfunção autonômica, com aumento da atividade simpática e modulação vagal reduzida podem participar na fisiopatologia de morte súbita em pacientes com insuficiência cardíaca (2). A disfunção parassimpática, avaliada pelos índices do domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), é um forte preditor independente de morte súbita nesta população de pacientes (3,4). Disfunção parassimpática pode também contribuir para alta prevalência de arritmias ventriculares de alto risco em pacientes com insuficiência cardíaca (5) e, embora controverso, a densidade de tais arritmias avaliadas por Holter de 24 horas foi associada com eventos arrítmicos (6).

Estimulação colinérgica protege contra arritmias ventriculares em modelos experimentais envolvendo estimulação elétrica do nervo vago (7) ou injeção de agonistas muscarínicos tais como metacolina e oxotremorina (8). Em humanos, a ativação vagal também pode interromper taquicardia ventricular (9). Desta forma, é concebível que estimulação colinérgica por meios farmacológicos possa ser benéfica em pacientes com insuficiência cardíaca por aumentar a modulação parassimpática e reduzir arritmias ventriculares (10). Brometo de piridostigmina (PIR) é um inibidor reversível largamente usado em miastenia *gravis* para neutralizar a fraqueza muscular e, recentemente, demonstramos que a administração a curto prazo deste agente a pessoas normais reduz a frequência cardíaca média e aumenta a VFC de 24 horas (11). Esses achados nos levaram a conduzir o presente estudo, no qual testamos a hipótese de que a administração a curto

prazo de PIR poderia reduzir frequência cardíaca, aumentar a VFC, e reduzir arritmias ventriculares em pacientes com insuficiência cardíaca.

## HIPÓTESES

- A administração a curto prazo de brometo de piridostigmina reduz a densidade de arritmia ventricular em pacientes com insuficiência cardíaca.
- A administração a curto prazo de brometo de piridostigmina aumenta os índices do domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca de 24 horas em pacientes com insuficiência cardíaca.

## OBJETIVOS

### **Principais:**

- Avaliar o efeito do uso da piridostigmina via oral a curto prazo na densidade de arritmias ventriculares em pacientes com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica.
- Avaliar o efeito da piridostigmina a curto prazo sobre os índices da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo de 24 horas em pacientes com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica.

### **Secundários:**

- Avaliar o efeito da piridostigmina na fração de ejeção do ventrículo esquerdo.
- Avaliar o efeito da piridostigmina na função diastólica do ventrículo esquerdo.

## PACIENTES E MÉTODOS

### 1. Seleção da amostra

Os pacientes foram selecionados do ambulatório do Serviço de Cardiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e compreenderam indivíduos com insuficiência cardíaca congestiva por disfunção sistólica do ventrículo esquerdo, em ritmo sinusal, classe funcional I-III da New York Heart Association (NYHA) e fração de ejeção do ventrículo esquerdo menor do que 45 %. Os critérios de exclusão foram diabetes melito, infarto do miocárdio nos 6 meses prévios, síndrome isquêmica aguda nos 3 meses prévios, bloqueio atrioventricular, etilismo ativo nos últimos 6 meses, disfunção tireoideana, doença pulmonar obstrutiva crônica, história de retenção urinária ou constipação, ou história de intolerância à PIR. Os pacientes deveriam estar clinicamente estáveis, sem alterações em suas medicações ou na classe funcional da NYHA nos últimos 2 meses.

### 2. Protocolo

Seguindo um protocolo duplo-cego, placebo-controlado, cruzado e randomizado, os pacientes receberam 30 mg via oral de PIR (Mestinon<sup>®</sup>, ICN, Brasil) ou placebo (PLA) de 8 em 8 horas por 48 horas, em 2 dias diferentes separados por uma semana. Os pacientes elegíveis foram submetidos a anamnese, exame físico e eletrocardiograma em repouso. Recentemente, demonstramos que este protocolo resulta em uma redução média de 14% na atividade colinesterásica sérica em indivíduos normais (11). Após 24 horas da primeira dose de PLA ou PIR, foi realizada gravação contínua do eletrocardiograma de 24 horas em MARS

Series 8500 (Marquette medical Systems, Milwaukee, EUA). Os pacientes foram orientados para manter sua medicação usual e para continuar suas atividades normais durante as gravações, evitando exercício físico intenso. Após o período de 48 horas da administração de PLA ou PIR, ecocardiografia com efeito Doppler a cores foi realizada para avaliação da função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo.

### **3. Análise de arritmia**

As gravações do Holter foram analisadas por um pesquisador que estava cego quanto à administração da droga, pela técnica semiautomática, usando um analisador MARS 8000 (Marquette Medical Systems, Milwaukee, EUA). Esse analisador permite separar os batimentos normais dos artefatos e ectopias, montando uma série temporal, somente de intervalos RR normais, com uma resolução de 8 ms. Extrassístoles ventriculares (ESV) foram classificadas como batimentos isolados, pareadas e eventos de taquicardia ventricular (definidos como  $\geq 3$  ESV com ciclo R-R médio  $< 600$ ms).

### **4. Variabilidade da frequência cardíaca**

Séries de intervalos RR normais foram processadas em um computador (12) para calcular os seguintes índices no domínio do tempo da VFC, de acordo com as recomendações da Sociedade Européia de Cardiologia e a Sociedade Norte Americana de Eletrofisiologia e Marcapasso (13): desvio padrão de todos os intervalos RR normais do ECG de 24 h (SDNN); desvio padrão da média dos intervalos RR normais, medida em segmentos de 5 min do ECG de 24 h (SDANNi); raiz quadrada da média das diferenças sucessivas ao quadrado, entre os



intervalos RR adjacentes normais do ECG de 24 h (RMSSD); e porcentagem das diferenças sucessivas entre os intervalos RR adjacentes normais maiores que 50 ms, computada no ECG de 24 h (PNN50).

## **5. Ecocardiografia com Efeito Doppler**

Todos os ecocardiogramas foram realizados por um investigador que estava cego quanto à administração da medicação, utilizando um ecocardiógrafo ATL HDI 5000 (Ultrasound, Bothel, USA). As imagens foram obtidas em decúbito lateral esquerdo a 45°, com um transdutor setorial de 2,0 a 4,0 MHz. Cada medida foi calculada pela média de 3 a 5 ciclos consecutivos. Ecocardiograma bidimensional foi usado para identificar a melhor imagem para o modo-M e Doppler. As medidas do modo-M foram obtidas na projeção paraesternal longitudinal, com o feixe direcionado logo abaixo da válvula mitral, de acordo com a recomendação da Sociedade Americana de Ecocardiografia (14). Os coeficientes de variação para medidas repetidas do modo-M em nosso laboratório variam de 1 a 3,6% (15). A velocidade do fluxo mitral foi avaliada através da projeção apical quatro câmaras, com a amostra volume posicionada na ponta dos folhetos mitrais. As seguintes medidas foram obtidas: velocidade de pico do enchimento diastólico precoce (onda E); velocidade de pico do enchimento diastólico tardio (onda A); e tempo de desaceleração do enchimento diastólico precoce. A relação entre a velocidade do enchimento diastólico precoce e tardio foi calculada dividindo a velocidade da onda E pela velocidade da onda A (relação E/A). O tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) foi calculado pela medida do intervalo de tempo entre o final da fase de ejeção e o início do enchimento ventricular, com a amostra volume posicionada entre o folheto anterior da válvula mitral e a via de saída do ventrículo esquerdo.

Os coeficientes de variação para medidas repetidas de Doppler em nosso laboratório variam de 3,8 a 6,5% (15).

## **6. Considerações Éticas**

O projeto de pesquisa foi aprovado pela comissão de ética do Grupo de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Como se tratava de projeto que envolvia intervenção farmacológica (risco maior que mínimo), todos pacientes assinaram termo de consentimento para participarem do estudo (ANEXO 1).

## **7. Análise Estatística**

Visto que demonstramos previamente que a presença de arritmias ventriculares pode afetar os índices da VFC (16), os pacientes foram separados em dois grupos, de acordo com a densidade de arritmia ventricular: O grupo Arritmia ( $n = 11$ ) incluiu pacientes com mais de 10 ESV/hora e o grupo da VFC ( $n = 12$ ) incluiu os pacientes com um número de ESV e que não excederam a 1% do número total de intervalos RR normais no período de 24 horas. Dados descritivos estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EP) e, para variáveis que não tinham distribuição normal, como média geométrica  $\pm$  EP. Os índices do domínio do tempo da VFC não tinham distribuição normal e foram analisados após transformação logarítmica. Diferenças entre as condições PLA e PIR foram comparadas com o teste  $t$  de Student para amostras pareadas. Todos os testes foram bicaudais, e um valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

## RESULTADOS

### 1. Características da amostra

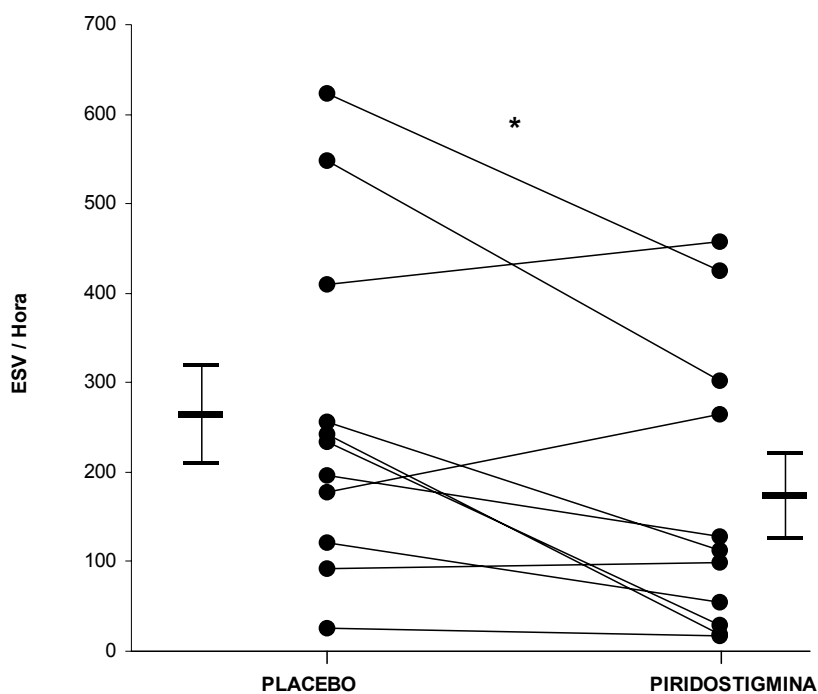
Vinte e dois pacientes foram selecionados para o estudo, porém 2 foram excluídos da análise: um paciente apresentou bloqueio atrioventricular avançado em uso de placebo e outro foi excluído da análise por artefatos na gravação do Holter. A Tabela 1 descreve as características clínicas e demográficas de todos os 20 pacientes incluídos neste estudo, bem como dos grupos Arritmia e VFC. Para uma coorte de insuficiência cardíaca, os pacientes eram jovens, predominantemente masculinos, em classe funcional I-III da NYHA, com uma fração de ejeção média de  $32 \pm 3$  %, e a etiologia foi mais frequentemente isquêmica, idiopática ou hipertensiva. Todos estavam em uso de digital, diuréticos e inibidores da enzima conversora de angiotensina. O regime da medicação descrito na Tabela 1 foi mantido durante o protocolo do estudo. A frequência de efeitos adversos foi similar com PLA (53%) e PIR (47%);  $P = 0.67$ ). Quatro pacientes apresentaram cefaléia com PLA e um com PIR; quatro pacientes apresentaram desconforto gástrico com PLA e quatro com PIR; três pacientes apresentaram tonturas com PLA e três com PIR.

**Tabela 1.** Características clínicas e demográficas de todos os pacientes, assim como dos grupos da VFC e Arritmia

	<b>Todos os pacientes n = 20</b>	<b>Grupo VFC n = 12</b>	<b>Grupo Arritmia n = 11</b>
Idade em anos (média $\pm$ DP)	48 $\pm$ 15	45 $\pm$ 16	53 $\pm$ 14
Homens - n (%)	15 (75)	8 (67)	10 (91)
Classe funcional NYHA – n. (%)			
I	5 (25)	3 (25)	4 (36)
II	10 (50)	6 (50)	4 (36)
III	5 (25)	3 (25)	3 (27)
Etiologia – n (%)			
Isquêmica	7 (35)	2 (17)	6 (55)
Hipertensiva	4 (20)	2 (17)	2 (18)
Idiopática	6 (30)	5 (42)	3 (27)
Periparto	2 (10)	2 (17)	0
Adriamicina	1 (5)	1 (8)	0
Medicações – n (%)			
Digoxina	20 (100)	12 (100)	11 (100)
Inibidores da enzima conversora de angiotensina	20 (100)	12 (100)	11 (100)
Diuréticos	20 (100)	12 (100)	11 (100)
Betabloqueadores	7 (35)	6 (50)	2 (18)
Espironolactona	9 (45)	7 (58)	4 (36)
Amiodarona	2 (10)	2 (17)	2 (18)

## 2. Arritmias ventriculares

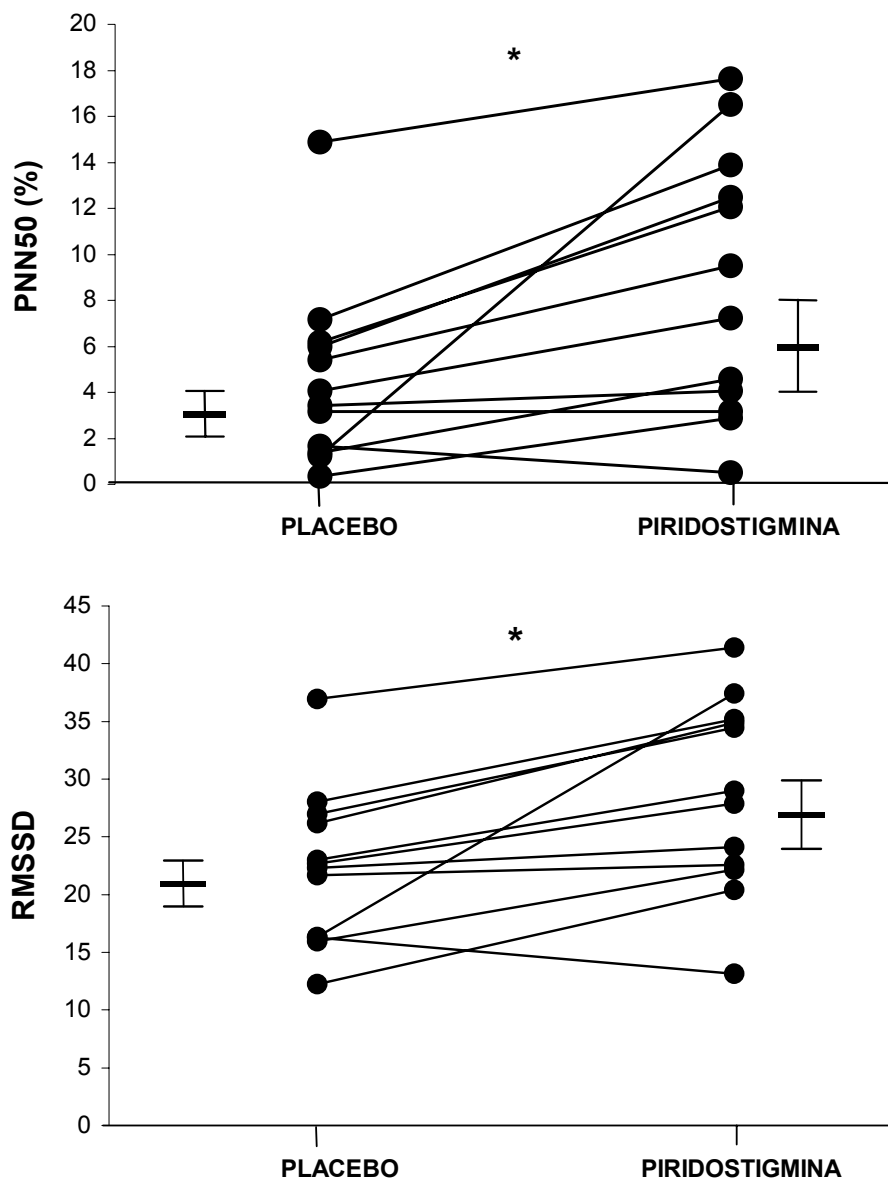
Nos 11 pacientes que foram incluídos na análise de arritmias, a administração de PIR resultou em uma redução significativa de 65% nas EVS isoladas (PLA =  $266 \pm 56$  ESV/hora vs PIR =  $173 \pm 49$  ESV/hora  $P = 0,03$ ). Os dados individuais das ESV/hora dos pacientes em uso de PLA e PIR estão ilustrados na Figura 1. Não houve diferença significativa na frequência de ESV pareadas (PLA  $169 \pm 87$  vs PIR  $105 \pm 52$  ESV pareadas /24horas;  $P = 0,14$ ) e na frequência de salvas de taquicardia não sustentada (PLA  $15 \pm 8$  vs PIR  $7 \pm 4$  salvas/24horas  $p = 0,29$ ).



**Figura 1.** Dados individuais (●) de extrassístoles ventriculares por hora; média geométrica e erro padrão da média dos 11 pacientes do Grupo Arritmia após piridostigmina e placebo; (\*  $p=0,026$ ).

### 3. Variabilidade da frequência cardíaca

PIR resultou em uma redução significativa no intervalo médio de 24 horas (PLA  $733 \pm 22$  msec vs PIR  $790 \pm 33$  msec;  $p = 0,01$ ). Os índices da VFC de longo prazo, SDNN (PLA  $113 \pm 11$  msec vs  $127 \pm 9$  msec;  $p = 0,08$ ) e SDANNi, (PLA  $103 \pm 11$  msec vs  $113 \pm 8$  msec;  $p = 0,23$ ) não foram afetados significativamente pela administração de PIR. Os índices do domínio do tempo da VFC de curto prazo, RMSSD (PLA  $21 \pm 2$  msec vs  $27 \pm 3$  msec;  $p = 0,008$ ) e PNN50 (PLA  $3 \pm 1$  msec vs  $6 \pm 2$  msec;  $p = 0,03$ ), aumentaram significativamente após administração de PIR comparado com PLA. Os valores individuais dos índices do domínio do tempo de curto prazo com PLA e PIR estão ilustrados na Figura 2.



**Figura 2** Dados individuais (•) do índice PNN50 (acima) e RMSSD (abaixo) com PLA e PIR; média geométrica e  $\pm$  erro padrão da média dos 12 pacientes do Grupo VFC (\* $p=0.03$  para PNN50 e  $p=0,008$  para RMSSD).

#### 4. Variáveis ecocardiográficas

As variáveis ecocardiográficas dos 20 pacientes, após 48 horas da administração de PLA ou PIR, estão descritas na Tabela 2. A frequência cardíaca durante o exame, os diâmetros pelo modo-M e a fração de ejeção não foram significativamente diferentes com PLA e PIR. Houve um aumento significativo na velocidade da onda E e na relação E/A do fluxo mitral com PIR comparado ao PLA. Não houve diferença significativa na velocidade da onda A, no TRIV e no tempo de desaceleração do fluxo precoce mitral com PLA ou PIR. Não se observou correlação significativa entre a alteração da frequência cardíaca e o aumento da onda E ( $p = 0,28$ ) ou na relação E/A ( $p = 0,36$ ).

**Tabela 2.** Variáveis ecocardiográficas dos 20 pacientes após 48 horas de PLA ou PIR

	PLA	PIR	<i>p</i>
Frequência cardíaca (bpm)	78 ± 4	75 ± 3	0,10
Diâmetro do átrio esquerdo (mm)	42 ± 2	43 ± 2	0,63
Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (mm)	68 ± 2	69 ± 3	0,52
Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (mm)	58 ± 3	58 ± 3	0,82
Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%)	32 ± 3	34 ± 3	0,13
Onda E (cm/sec)	65 ± 8	83 ± 9	0,02
Onda A (cm/sec)	72 ± 5	70 ± 7	0,60
Relação E/A	1,0 ± 0,1	1,3 ± 0,2	0,01
Tempo de desaceleração do enchimento diastólico precoce (msec)	200 ± 16	227 ± 24	0,09
Tempo de relaxamento isovolumétrico (msec)	122 ± 10	116 ± 8	0,44

Dados estão apresentados como média ± EP. Onda A é a velocidade máxima do enchimento diastólico tardio; Onda E é a velocidade máxima do enchimento diastólico precoce; Relação E/A é a relação entre a velocidade diastólica precoce e tardia.



## DISCUSSÃO

Neste estudo randomizado, cruzado, duplo-cego e placebo-controlado, pacientes estáveis com insuficiência cardíaca foram submetidos à estimulação colinérgica com PIR. Na dose que sabidamente tem efeito na atividade colinesterásica (11), dois grupos de pacientes foram selecionados para testar especificamente os efeitos da droga em arritmia ventricular bem como nos índices da VFC de 24 horas. Os pacientes com insuficiência cardíaca toleraram bem PIR nas doses usadas neste estudo. Em condições controladas, demonstramos que estimulação colinérgica com PIR reduz a densidade de ESV e aumenta os índices de curto prazo do domínio do tempo da VFC de 24 horas em pacientes com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica. No nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que demonstrou tais efeitos favoráveis do PIR em pacientes com insuficiência cardíaca.

### **1. Brometo de Piridostigmina**

PIR é um composto sintético derivado do ácido carbâmico com ação anticolinesterásica reversível, o qual pode ser administrado por via oral, não atravessa a barreira hematoencefálica, e apresenta efeito colinomimético dose-dependente (17). Inibidores anti-colinesterásicos atuam diretamente nas células ganglionares cardíacas, produzindo liberação de acetilcolina endógena por redução de hidrólise e ativação dos receptores muscarínicos cardíacos (18). Dados prévios do nosso grupo, avaliando voluntários normais, demonstraram redução da frequência cardíaca em repouso com PIR em doses únicas (19), porém sem alteração na função sistólica do ventrículo esquerdo ou função diastólica (20). Além disso,

PIR reduz a resposta do duplo produto durante estresse mental (21) e inibe a resposta cronotrópica ao exercício dinâmico sem reduzir a capacidade funcional (22). Outro efeito do PIR em indivíduos jovens saudáveis é uma redução na dispersão do intervalo QT corrigido (23). Em ratos, demonstramos que PIR diminui o aumento do consumo de oxigênio do miocárdio induzido por estimulação do sistema nervoso central (24). Usando um protocolo similar ao do presente estudo, demonstramos recentemente redução da frequência cardíaca média e aumento da VFC de 24 horas com a administração de PIR a curto prazo em voluntários normais (11). Considerando que o objetivo final desta linha de pesquisa é proporcionar uma nova abordagem terapêutica para pacientes com doenças cardiovasculares (10), estes achados estimulantes nos induziram a conduzir o presente estudo em pacientes com insuficiência cardíaca.

## **2. Redução de arritmia ventricular com piridostigmina**

No presente estudo, a administração de PIR resultou numa redução consistente de 65% na densidade de EVS isoladas, quando comparada com PLA. Esta magnitude de redução de arritmia ventricular é consistente com um efeito antiarrítmico da droga e não com variabilidade espontânea de arritmia ventricular (25,26). Esta interpretação é reforçada pelo delineamento desse estudo ser cruzado, duplo-cego e placebo-controlado, o que torna muito improvável a possibilidade de que nossos achados estejam associados com variabilidade espontânea de densidade de arritmia. Estudos prévios em animais e estudos clínicos demonstraram que a ativação vagal aumenta o limiar fibrilatório, protege contra arritmias de reperfusão, e pode interromper taquicardia ventricular (7,8,9). Nesse estudo, estimulação

colinérgica com PIR pode ter prolongado a refratariedade ventricular, por seu efeito direto, ou por antagonizar o efeito simpático na refratariedade (27)

Estudos experimentais e clínicos prévios usando estimulação colinomimética demonstraram resultados conflitantes. Mitrani e cols. (28), usando hidrocloreto de edrofônio em pacientes com desfibrilador implantável, não foram capazes de elevar o limiar fibrilatório ventricular. Escopolamina, um bloqueador muscarínico, resultou em redução da frequência cardíaca e aumento da VFC em pacientes com insuficiência cardíaca (29). Entretanto, estudos subsequentes, em modelo canino de fibrilação ventricular induzido por oclusão coronariana artificial no pico do exercício demonstrou que, embora escopolamina tenha reduzido frequência cardíaca e aumentado VFC, isto não preveniu a ocorrência de fibrilação ventricular (30). Em nossos pacientes, baixas doses de PIR resultaram em uma redução significativa no número de ESV e uma tendência favorável na redução de arritmia ventricular complexa, tais como salvos de taquicardia ventricular. Mais estudos são necessários para avaliar se PIR pode prevenir a ocorrência de taquicardia ventricular sustentada ou fibrilação ventricular.

### **3. Aumento da variabilidade da frequência cardíaca com piridostigmina.**

Em um estudo prévio com indivíduos normais, a administração de PIR resultou em aumento dos índices da VFC do domínio do tempo de curto prazo principalmente devido a um aumento dos extremos de variação da frequência cardíaca para frequências mais baixas, achado consistente com um efeito parassimpático (11). Apesar do uso de digoxina por todos os pacientes e betabloqueadores ou amiodarona por alguns deles, a administração de PIR resultou em redução da frequência cardíaca média e aumento dos índices do domínio do tempo de curto prazo de 24 horas. Visto que PNN50 e RMSSD são capazes de avaliar a modulação

parassimpática no nó sinusal (12), estes achados sugerem que a administração de PIR induz estimulação parassimpática em pacientes com insuficiência cardíaca. Avaliamos um grupo selecionado de pacientes com insuficiência cardíaca, com gravações de Holter de 24 horas apropriadas para análise da VFC. Embora tenhamos demonstrado que arritmias podem contaminar a avaliação dos índices do domínio do tempo da VFC (16), o número exato de extrassístoles necessário para essa contaminação não está estabelecido. Por esta razão, somente pacientes com menos de 1% do número total de batimentos excluídos foram considerados apropriados para análise da VFC.

#### **4. Efeitos da piridostigmina na função ventricular esquerda.**

Consistente com nossas observações prévias dos efeitos de PIR na função sistólica do ventrículo esquerdo em indivíduos normais (20), a droga não teve efeito significativo nos diâmetros ventriculares ou na fração de ejeção em nossos pacientes estáveis com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica, sugerindo um efeito inotrópico neutro. Os resultados das medidas com Doppler do enchimento ventricular esquerdo demonstraram um aumento significativo na onda E e na relação E/A. Esses efeitos de PIR podem estar relacionados à redução da frequência cardíaca, à melhora do relaxamento miocárdico ou à redução do inotropismo atrial. Visto que não houve redução significativa na frequência cardíaca, e não houve efeitos significativos de PIR no tempo de desaceleração ou no TRIV, as alterações nos índices do Doppler não são provavelmente relacionadas a um efeito cronotrópico ou melhora do relaxamento ventricular esquerdo. Os átrios são ricamente inervados pelo nervo vago, e modelos experimentais demonstraram que a contratilidade atrial pode ser reduzida marcadamente, tanto por estimulação de fibras eferentes quanto por

estímulo farmacológico (31). Assim, é possível que a estimulação colinérgica com PIR poderia resultar na redução da contratilidade atrial, um efeito que pode influenciar os índices do enchimento ventricular esquerdo avaliados pelo Doppler. De modo geral, a administração de PIR não tem efeito deletério aparente na função diastólica ou sistólica do ventrículo esquerdo em pacientes com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica.

#### **5. Possível relevância clínica e limitações.**

Nesta pequena amostra de pacientes com insuficiência cardíaca estável por disfunção ventricular esquerda demonstramos que estimulação colinérgica por 48 horas com PIR reduz a densidade de extrassístoles ventriculares e aumenta a VFC. Estas observações preliminares devem ser interpretadas com cautela, visto que não se sabe se a ação colinomimética de PIR se sustentaria por períodos longos. Igualmente, embora a redução na densidade de arritmia e o aumento da VFC estejam associados com potencial melhora no prognóstico, os achados do nosso estudo não podem ser extrapolados para a prática clínica. Portanto estas observações devem estimular mais estudos nos efeitos de PIR na insuficiência cardíaca.

## CONCLUSÃO

A administração de PIR a curto prazo é segura, reduz a frequência cardíaca média, aumenta a VFC, e reduz a densidade de extrasístoles ventriculares durante 24 horas, em pacientes estáveis com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica do ventrículo esquerdo, muito provavelmente pelo seu efeito colinomimético. Mais estudos são necessários para determinar o efeito a longo prazo da administração de piridostigmina em indivíduos com insuficiência cardíaca e em outros pacientes com doença cardíaca e atividade vagal reduzida.

## BIBLIOGRAFIA

1. Merit-HF. Study Group. Effect of Metoprolol CR/XL in chronic heart failure: metoprolol CR/XL randomized intervention trial in congestive heart failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999;353:2001-7.
2. Porter TR, Eckberg DL, Fritsch JM, et al. Autonomic pathophysiology in heart failure patients. *J Clin Invest* 1990;85:1362-71.
3. Nolan J, Batin PD, Andrews R et al. Prospective study of heart rate variability and mortality in chronic heart failure: results of the United Kingdom Heart Failure Evaluation and Assessment of Risk Trial (UK-Heart). *Circulation* 1998; 98: 1510-1516.
4. Bonaduce D, Petretta M, Marciano F et al. Independent and incremental prognostic value of heart rate variability in patients with chronic heart failure. *Am Heart J* 1999; 138: 273-284.
5. La Rovere MT, Pinna GD, Hohnloser SH, et al. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias. Implications for clinical trials. *Circulation* 2001;103:2072-2077.
6. Grimm W, Glaveris C, Hoffmann J, et al. Arrhythmia risk stratification in idiopathic dilated cardiomyopathy based on echocardiography and 12-lead, signal-averaged, and 24-hour Holter electrocardiography. *Am Heart J* 2000;140:43-51.
7. Kent KM, Smith ER, Redwood DR, Epstein SE. Electrical stability of acutely ischemic myocardium: influences of heart rate and vagal stimulation. *Circulation* 1973; 47: 291-298.

8. De Ferrari GM, Salvati P, Grossoni M et al. Pharmacologic modulation of the autonomic nervous system in the prevention of sudden cardiac death. A study with propranolol, methacoline and oxotremorine in conscious dogs with a healed myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 283-290.
9. Waxman MB, Wald RW. Termination of ventricular tachycardia by increase in cardiac vagal drive. *Circulation* 1977; 56: 385-391.
10. Nóbrega ACL, Castro RRT. Parasympathetic dysfunction as a risk factor in myocardial infarction: What is the treatment? *Am Heart J* 2000; 140: e23
11. Nóbrega ACL, Reis AF, Moraes RS, et al. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigme in healthy subjects. *Clin Auton Research* 2001;11:11-17.
12. Polanczyk CA, Rohde LEP, Moraes RS, Ferlin EL, Leite C, Ribeiro JP. Sympathetic nervous system representation in time and frequency domain indices of heart rate variability. *Eur J Appl Physiol* 1998;79: 69-73.
13. Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Eletrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; 93: 1043-1065.
14. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo A, Weyman A. Recommendations regarding quantittation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiography measurements. *Circulation* 1978;58:1072-86.
15. Azevedo MJ, Pinotti AF, Stumpf S, Gross JL, Ribeiro JP. Preserved left ventricular systolic and diastolic function in normoalbuminuric insulin-dependent diabetic patients with glomerular hyperfiltration. *Diabetes Res Clin Practice* 1994;25:103-110.



16. Rohde LEP, Polanczyk CA, Moraes RS, Ferlin EL, Ribeiro JP. Effect of partial arrhythmia suppression with amiodarone on heart rate variability of patients with congestive heart failure. *Am Heart J* 1998;136:31-6.
17. Taylor P. Anticholinesterase agents. In: Hardman JG, Limbird LE, eds. *Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York, McGraw-Hill, 1996:161-176.
18. Stein RD, Backman SB, Collier B, Polosa C. Bradycardia produced by pyridostigmine and physostigmine. *Can J Anaesth* 1997; 44: 1286-1292.
19. Nóbrega ACL, Carvalho ACG, Bastos BG. Resting and reflex heart rate responses during cholinergic stimulation with pyridostigmine in humans. *Brazilian J Med Biol Res* 1996; 29: 1461-1465.
20. Pontes PV, Bastos BG, Romeo Filho RJ, Mesquita ET, Nóbrega ACL. Cholinergic stimulation with pyridostigmine: hemodynamic and echocardiographic analysis in healthy subjects. *Arq Bras Cardiol* 1999; 72: 297-306.
21. Nóbrega ACL, Carvalho ACG, Santos KB, Soares PPS. Cholinergic stimulation with pyridostigmine blunts the cardiac responses to mental stress. *Clin Auton Res* 1999; 9: 1-6.
22. Serra SM, Costa RV, Bastos BG, Santos KB, Ramalho SHR, Nóbrega ACL. Cardiopulmonary exercise testing during cholinergic stimulation with single dose of pyridostigmine in healthy subjects. *Arq Bras Cardiol* 2001; 76: 279-284.
23. Castro RR, Serra SM, Nóbrega AC. Reduction of QTc interval dispersion: potential mechanism of cardiac protection of pyridostigmine bromide. *Arq Bras Cardiol* 2000; 75: 205-213.

24. Grabe-Guimarães A, Alves LM, Tibiriçá E, Nóbrega ACL. Pyridostigmine blunts the increases in myocardial oxygen demand elicited by the stimulation of the central nervous system in anesthetized rats. *Clin Auton Res* 1999; 9: 83-9.
25. Michelson EL, Morganroth J. Spontaneous variability of complex ventricular arrhythmias detected by long-term electrocardiographic recording. *Circulation* 1980;61:690-5.
26. Pratt CM, Thérroux P, Slymen D, et al. Spontaneous variability of ventricular arrhythmias in patients at increased risk for sudden death after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1987;59:278-283.
27. Warner MR, Zipes DP. Vagal control of myocardial refractoriness. In Levy MN, Schwartz PJ (eds.). *Vagal control of the heart: experimental basis and clinical implications*. Armonk, NY, Futura Publishing, 1994:261-75.
28. Mitrani RD, Kloosterman EM, Huikuri H, et al. Muscarinic receptor stimulation with edrophonium hydrochloride does not elevate ventricular fibrillation threshold in humans. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999; 10: 809-816.
29. La Rovere MT, Mortara A, Pantaleo P, Mestri R, Cobelli F, Tavazzi L. Scopolamine improves autonomic balance in advanced congestive heart failure. *Circulation* 1994; 90: 838-843.
30. Hull Jr SH, Vanoli E, Adamsom PB et al. Do increases in markers of vagal activity imply protection from sudden death? The case of scopolamine. *Circulation* 1995; 91: 2516-2519.
31. Levy MN, Pappano AJ. Vagal control of myocardial contractility. In Levy MN, Schwartz PJ (eds.). *Vagal control of the heart: experimental basis and clinical implications*. Armonk, NY, Futura Publishing, 1994:241-59.

## ANEXO 1

### **Cholinergic Stimulation with Pyridostigmine Reduces Ventricular Arrhythmia and Enhances Heart Rate Variability in Heart Failure**

Alice Behling, MD, MSc, Ruy S. Moraes, MD, ScD, Luiz Eduardo P. Rohde, MD, ScD, Elton L. Ferlin, BSc EE, Antonio Claudio L. Nóbrega, MD, ScD, Jorge P. Ribeiro, MD, ScD

*Porto Alegre and Niterói, Brazil*

**From the Cardiology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre,**  
and Department of Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul,  
Rua Ramiro Barcelos 2350,  
90035-007, Porto Alegre, RS, Brazil,  
and Department of Physiology and Pharmacology, Fluminense Federal University,  
Niterói, RJ, Brazil

This work was supported by grants from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasília, Brazil, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Porto Alegre, Brazil, and PRONEX, Brazil.

Running title: Pyridostigmine reduces arrhythmia in heart failure

Word count, manuscript: 3809

Word count, abstract: 311

Word count, condensed abstract: 111

Address for correspondence:

Jorge P. Ribeiro, MD, ScD  
Associate Professor and Chief, Cardiology Division,  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre,  
Rua Ramiro Barcelos 2350,  
90035-007, Porto Alegre, RS, Brazil

Phone: +55 51 3168344

Fax: +55 51 3168657

E-mail: [jpribeiro@cpovo.net](mailto:jpribeiro@cpovo.net)

## ABSTRACT

**OBJECTIVE** To test the hypothesis that short-term administration of pyridostigmine bromide (PYR) reduces ventricular arrhythmia density and increases heart rate variability in patients with congestive heart failure.

**BACKGROUND** Increased ventricular arrhythmia density and reduced heart rate variability are associated with risk of sudden death and overall mortality in patients with heart failure. Cholinesterase inhibition with pyridostigmine bromide increases heart rate variability in normal subjects, but its effect in patients with heart failure is unknown.

**METHODS** Patients with heart failure and in sinus rhythm participated in a double-blind, cross-over protocol, randomized for placebo and pyridostigmine (30 mg PO TID for 2 days). Twenty-four hour electrocardiographic recordings were performed for arrhythmia analysis and for the measurement of time domain indices of heart rate variability. Patients were separated in 2 groups, according to their ventricular arrhythmia density. The Arrhythmia Group (n = 11) included patients with more than 10 ventricular premature beats per hour (VPBs/h), and the Heart Rate Variability Group (n = 12) included patients with a number of VPBs in 24 hours not exceeding 1 % of the total number of RR intervals.

**RESULTS** For the Arrhythmia Group, PYR resulted in 65 % reduction of ventricular ectopic activity (Placebo  $266 \pm 56$  VPBs/h vs. PYR  $173 \pm 49$  VPBs/h; P = 0.03). For the Heart Rate Variability Group, PYR

administration resulted in an increment of mean RR interval (Placebo  $733 \pm 22$  msec vs PYR  $790 \pm 33$  msec;  $P = 0.01$ ), and in the time domain indices of heart rate variability RMSSD (Placebo  $21 \pm 2$  vs PYR  $27 \pm 3$ ;  $P = 0.01$ ) and PNN50 (Placebo  $3 \pm 1$  % vs PYR  $.6 \pm 2$  %;  $P = 0.03$ ).

**CONCLUSION** In patients with heart failure, PYR reduced ventricular arrhythmia density and increased HRV, most likely due to its cholinomimetic effect. Long-term trials with PYR in heart failure should be conducted.

**Key words:** autonomic nervous system, parasympathetic nervous system, sudden death

### **CONDENSED ABSTRACT**

Patients with heart failure and in sinus rhythm participated in a double-blind, cross-over protocol, randomized for placebo and pyridostigmine bromide (30 mg PO TID for 2 days). Twenty-four hour electrocardiographic recordings were performed for arrhythmia analysis and for the measurement of time domain indexes of heart rate variability. Pyridostigmine resulted in 65 % reduction of ventricular ectopic activity and in an increment of mean 24- hour RR interval and in short-term time domain indices of heart rate variability. Thus, in patients with heart failure, pyridostigmine reduced ventricular arrhythmia density and increased heart rate variability, most likely due to its cholinomimetic effect. Long-term trials with pyridostigmine in heart failure should be conducted.

**Abbreviations and Acronyms**

HRV	= heart rate variability
Peak A	= peak velocity of late diastolic filling
Peak E	= peak velocity of early diastolic filling
Peak E/A ratio	= ratio between the velocity of early and late diastolic filling
PLA	= placebo
PNN50	= percentage of adjacent R-R intervals differing by more than 50 ms
PYR	= pyridostigmine bromide
RMSSD	= root-mean-square of successive differences of RR intervals
SDANNi	= standard deviation of the average of the normal R-R intervals calculated in 5-minute segments
SDNN	= standard deviation of all normal R-R intervals
VPBs/h	= number of ventricular premature beats per hour

## INTRODUCTION

Despite recent advances in the treatment of congestive heart failure due to systolic left ventricular dysfunction, the prevention of sudden death remains a major challenge (1). Autonomic dysfunction, with increased sympathetic activity and reduced vagal modulation to the sinus node may participate in the pathophysiology of sudden cardiac death of patients with heart failure (2). Indeed, parasympathetic dysfunction, evaluated by time-domain indices of heart rate variability (HRV), is a powerful and independent predictor of sudden cardiac death in this patient population (3,4). Parasympathetic dysfunction is associated with life-threatening ventricular arrhythmias in patients with heart failure (5), and, although controversial, the density of such arrhythmias has also been associated with arrhythmic events (6).

Cholinergic stimulation protects against ventricular arrhythmias in experimental models employing either electrical stimulation of the vagus nerve (7) or injection of muscarinic agonists such as methacholine and oxotremorine (8). In humans, vagal activation is also known to interrupt ventricular tachycardia (9). Thus, it is conceivable that cholinergic stimulation by pharmacologic means could be protective in patients with heart failure by increasing parasympathetic modulation and reducing ventricular arrhythmias (10). Pyridostigmine bromide (PYR) is a reversible cholinesterase inhibitor that is widely used in myasthenia gravis to counteract muscle weakness, and we have recently shown that short-term administration of this agent to healthy subjects reduces mean heart rate and increases 24-hour HRV (11). These findings prompted us to conduct the present study, in which we tested the hypothesis that short-term administration of PYR could reduce heart rate, increase HRV, and



reduce ventricular arrhythmias in patients with heart failure due to left ventricular systolic dysfunction.

## METHODS

**Study patients.** Patients with congestive heart failure due to systolic left ventricular dysfunction, in sinus rhythm, New York Heart Association functional class I-III, and left ventricular ejection fraction lower than 45 % were recruited from our heart failure outpatient clinic. Exclusion criteria were diabetes mellitus, myocardial infarction in the previous 6 months, acute ischemic syndromes in the previous 3 months, second or third degree atrioventricular block, active alcoholism in the last 6 months, thyroid dysfunction, chronic obstructive pulmonary disease, history of urinary retention or constipation, and history of intolerance to PYR. Patients also needed to be clinically stable, without changes in their medication or in functional class in the preceding 2 months. The protocol was approved by the Ethical Committee in Research of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

**Protocol.** Eligible patients had medical history, physical examination and resting electrocardiogram. Following a randomized, crossover, and double-blind protocol, subjects received 30 mg PO of PYR (Mestinon<sup>®</sup>, ICN, Brazil) or placebo (PLA) at 8-hour intervals for 48 hours, separated by a one week-wash-out period. We have previously shown that this dose of PYR results in a mean 14 % reduction of serum cholinesterase activity in normal individuals (11). After 24 hours of the first dose of PLA or PYR, Holter electrocardiographic recordings were performed with a portable cassette tape recorder Series 8500 (Marquette Medical Systems, Milwaukee, USA) during 24 hours. Patients were instructed to maintain

their current medical regimen, and to continue with their normal everyday activities during the recordings, with the avoidance of intense physical exercise. At the end of the 48-hour period of PLA or PYR administration, Doppler echocardiography was performed for the measurement of left ventricular systolic and diastolic function.

**Arrhythmia Analysis.** Holter recordings were analyzed by one of the investigators (RSM) who was blinded to the drug administration using a semi automatic technique, by means of a Marquette Medical Systems 8000 analyzer (Milwaukee, USA). This analyzer identifies and counts the total number of normal beats, artifacts, and ectopies, and creates a time series of normal RR intervals, with a resolution of 8 ms. Ventricular premature beats (VPBs) were classified as isolated beats, pairs or runs of ventricular tachycardia ( $> 3$  VPB with a mean RR interval of  $< 600$  ms).

**Heart rate variability.** Files containing normal RR intervals were processed in a computer (12) to calculate the following time domain indices of HRV according to the recommendations of the Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology (13): standard deviation of all normal R-R intervals (SDNN); standard deviation of the average of the normal R-R intervals calculated in 5-minute segments (SDANN<sub>i</sub>); root-mean-square of successive differences (RMSSD); and percentage of pairs of adjacent R-R intervals differing by more than 50 ms (PNN50).

**Doppler Echocardiography.** All echocardiograms were performed by one of the investigators (LEPR), who was blinded to the drug intervention, using a commercially

available ultrasound equipment (ATL HDI 5000, ATL Ultrasound, Bothel, USA). Images were obtained in the 45° left lateral decubitus position, with a 2.0 - 4.0 MHz sectorial transducer. For each measurement, 3-5 consecutive cardiac cycles were measured and averaged. Two-dimensional echocardiographic examination was used for guidance of optimal M-mode and Doppler images. M-mode measurements were obtained from the paraesternal long-axis view, with the beam directed just below the tip of the mitral valve, according to the recommendations of the American Society of Echocardiography (14). The coefficients of variation for repeated M-mode measurements in our laboratory vary from 1 to 3.6 % (15). Mitral flow velocity was recorded from the apical four-chamber view, with the sample-volume placed at the tip of the mitral leaflets. The following measurements were obtained: peak velocity of early diastolic filling (Peak E); peak velocity of late diastolic filling (Peak A); and deceleration time of early diastolic filling (DT). The ratio between the velocity of early and late diastolic filling was calculated by dividing Peak E by Peak A (Peak E/A ratio). Isovolumic relaxation time was calculated by measuring the time interval between the end of the ejection phase and initiation of ventricular filling, with the Doppler sampling positioned between the mitral anterior leaflet and the left ventricular outflow tract. The coefficients of variation of repeated Doppler measurements in our laboratory vary from 3.8 to 6.5 % (15).

**Statistical analysis.** Since we have previously demonstrated that the presence and suppression of ventricular arrhythmias may affect indexes of HRV (16), patients were separated in two groups, according to the density of ventricular arrhythmia: the Arrhythmia Group (n = 11) included patients with more than 10 VPBs/h and the HRV Group (n = 12) included patients with a number of VPBs, artefacts and periods of heart rate lower than 50 beats / minute that did not exceed 1% of the total number of RR intervals in the 24-hour period. Descriptive data

are presented as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM) or the geometric mean  $\pm$  SEM for variables that were not normally distributed, such as time domain indexes of HRV. Due to this characteristic, time domain indexes of HRV were analyzed after logarithmic transformation. Differences between PLA and PYR conditions were compared with the Student's paired *t* test. The Pearson correlation coefficient was used to evaluate the associations between change in heart rate and change in Doppler indices of left ventricular filling. All tests were two-tailed, and a value of  $P < 0.05$  was considered significant.

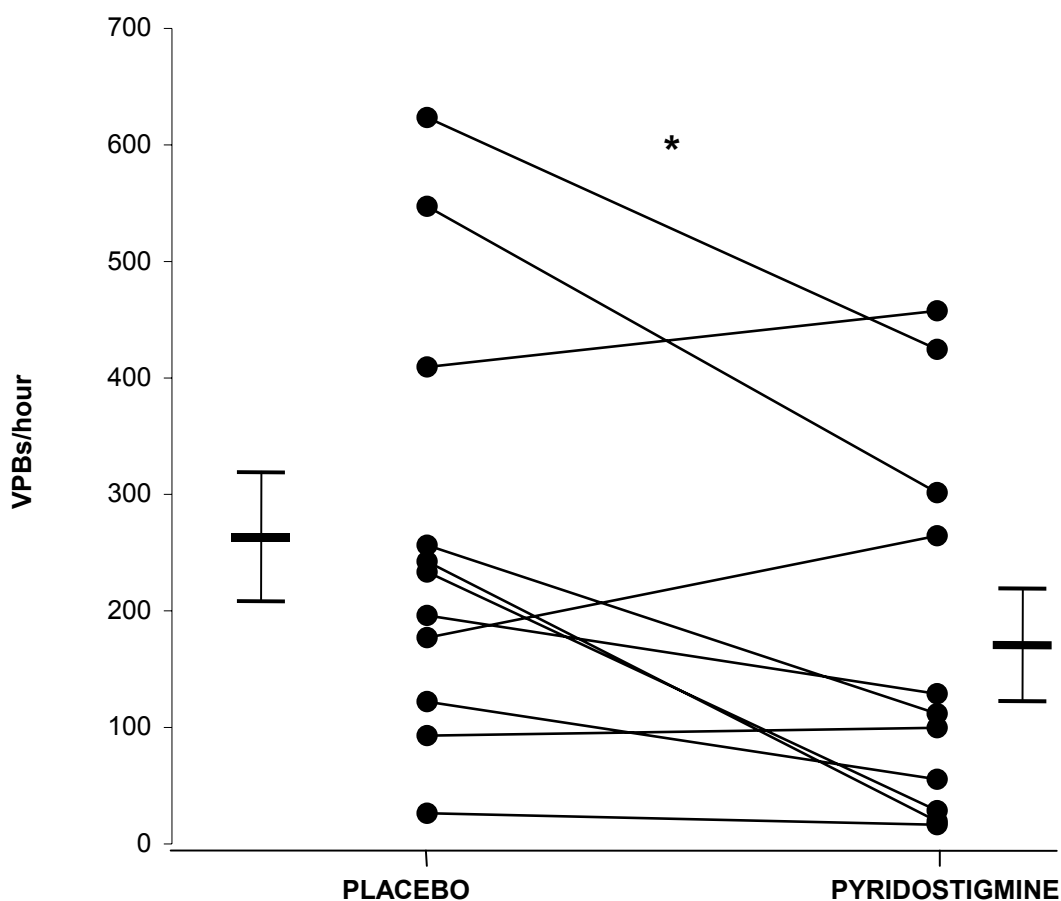
## RESULTS

Twenty two patients were screened for the protocol, but 2 were excluded from the analysis. One patient presented advanced atrioventricular block on PLA, and in one patient Holter analysis was not possible because of technical problems. Table 1 describes the demographic and clinical characteristics of all 20 patients included in the study, as well as the Arrhythmia and the HRV groups. For a heart failure cohort, patients were young, predominantly male, in New York Heart Association functional class I to III, with a mean ejection fraction of  $32 \pm 3$  %, and the etiology was more frequently ischemic, idiopathic or hypertensive. All patients were taking digoxin, diuretics and angiotensin converting inhibitors. The medical regimen described in Table 1 was maintained throughout the protocol. The frequency of adverse effects was similar with PLA (53%) and PYR (47%;  $P = 0.67$ ). Four patients presented headache with PLA and one with PYR; four patients presented gastric discomfort with PLA and three with PYR; three patients presented dizziness with PLA and two with PYR.

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics for all patients, as well as the HRV and Arrhythmia Groups

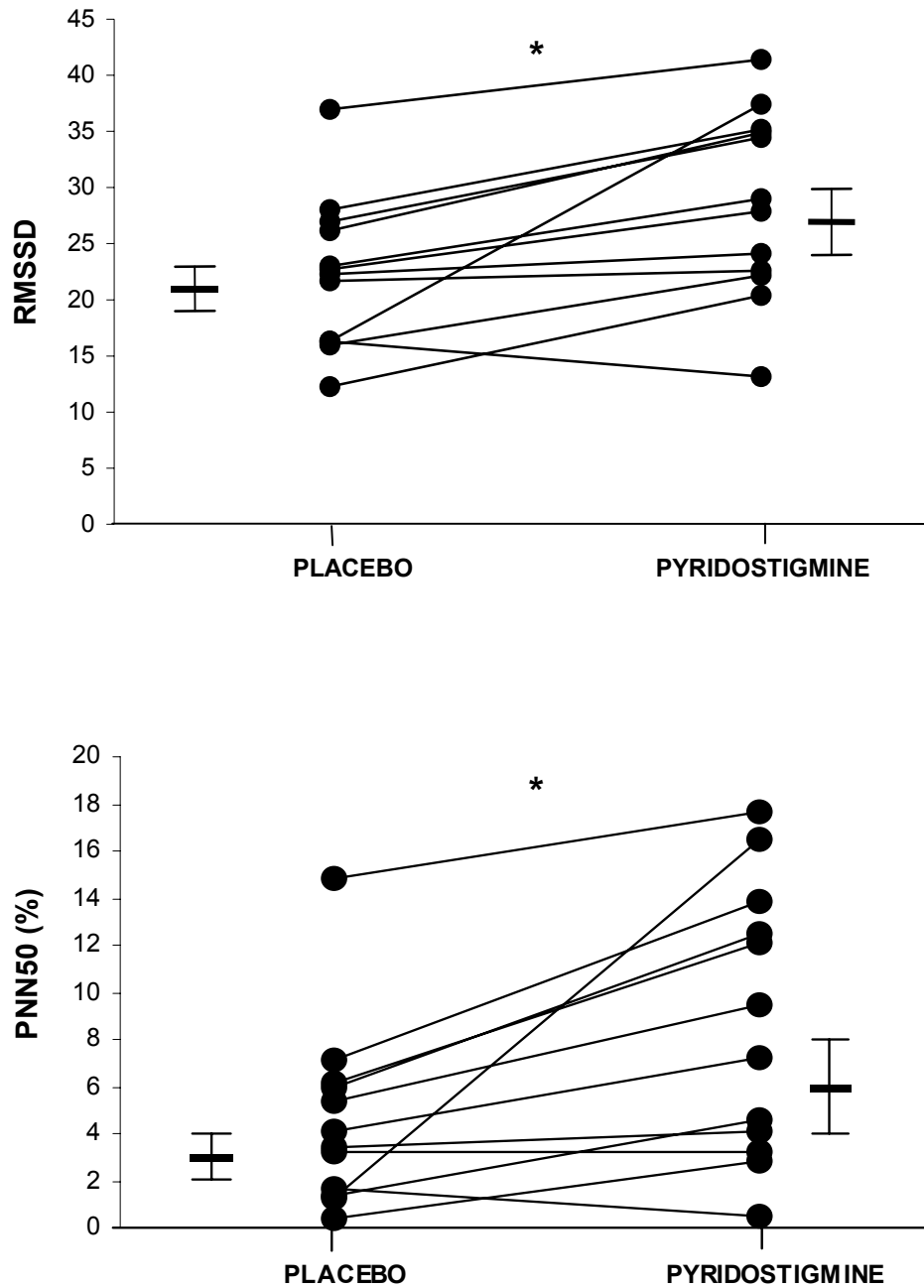
	<b>All Patients n = 20</b>	<b>HRV Group n = 12</b>	<b>Arrhythmia Group n = 11</b>
Age in years (mean $\pm$ SD)	48 $\pm$ 15	45 $\pm$ 16	53 $\pm$ 14
Male - n (%)	15 (75)	8 (67)	10 (91)
NYHA functional class – n. (%)			
I	5 (25)	3 (25)	4 (36)
II	10 (50)	6 (50)	4 (36)
III	5 (25)	3 (25)	3 (27)
Etiology – n (%)			
Ischemic	7 (35)	2 (17)	6 (55)
Hypertensive	4 (20)	2 (17)	2 (18)
Idiopathic	6 (30)	5 (42)	3 (27)
Peripartum	2 (10)	2 (17)	0
Adriamicin	1 (5)	1 (8)	0
Medications – n (%)			
Digoxine	20 (100)	12 (100)	11 (100)
Angiotensine Converting Inhibitors	20 (100)	12 (100)	11 (100)
Diuretics	20 (100)	12 (100)	11 (100)
Betablockers	7 (35)	6 (50)	2 (18)
Espironolactone	9 (45)	7 (58)	4 (36)
Amiodarone	2 (10)	2 (17)	2 (18)

**Ventricular arrhythmias.** Among the 12 patients who were included in the arrhythmia analysis, PYR administration resulted in a 65 % reduction in isolated VPBs (PLA =  $266 \pm 56$  VPBs/h vs PYR =  $173 \pm 49$  VPBs/h;  $P = 0.03$ ). Figure 1 presents the individual data for isolated VPBs during 24 hours for patients on PLA and PYR. There were no significant changes in the frequency of paired VPBs (PLA  $169 \pm 87$  vs PYR  $105 \pm 52$  VPBs/24h;  $P = 0.14$ ) and in the frequency of runs of ventricular tachycardia (PLA  $15 \pm 8$  vs PYR  $7 \pm 4$  runs/24h;  $P = 0.29$ ).



**Figure 1.** Individual data and mean  $\pm$  SEM of the number of ventricular premature beats per hour (VPBs/h) on placebo and on pyridostigmine for 11 heart failure patients in the Arrhythmia Group. \* denotes significant difference ( $P = 0.03$ ).

**Heart rate variability.** PYR administration resulted in a significant increase in 24-hour mean RR interval (PLA  $733 \pm 22$  msec vs PYR  $790 \pm 33$  msec;  $P = 0.01$ ). Long-term time domain indexes of HRV, SDNN (PLA  $113 \pm 11$  msec vs  $127 \pm 9$  msec;  $P = 0.08$ ) and SDANNi, (PLA  $103 \pm 11$  msec vs  $113 \pm 8$  msec;  $P = 0.23$ ) were not significantly affected by PYR administration. The short-term time domain indexes of HRV, RMSSD (PLA  $21 \pm 2$  msec vs  $27 \pm 3$  msec;  $P = 0.008$ ) and PNN50 (PLA  $3 \pm 1$  msec vs  $6 \pm 2$  msec;  $P = 0.03$ ), were increased after PYR administration when compared to PLA. Figure 2 presents the individual as well as the mean response of short-term time domain indexes of HRV on PLA and PYR.



**Figure 2.** Individual data and geometric mean  $\pm$  SEM of short-term time domain indices of HRV on placebo and on pyridostigmine for 12 heart failure patients in the HRV group. \* denotes significant difference ( $p = 0.008$  for RMSSD and  $p = 0.03$  for PNN50).



**Echocardiographic measurements.** Table 2 describes the Doppler echocardiographic measurements after 48 hours of PLA or PYR administration for the 20 patients evaluated. Heart rate during the examination, M-mode dimensions, and left ventricular ejection fraction were not significantly different on PLA and PYR. There was a significant increment in the Peak E and the Peak E/A ratio of the mitral flow on PYR compared to PLA. There were no significant differences in Peak A, deceleration time of early diastolic filling, and isovolumic relaxation time on PLA or PYR. No significant correlation was found between the change in heart rate and the increment in Peak E ( $P = 0.28$ ) or in Peak E/A ratio ( $P = 0.36$ ).

**Table 2.** Doppler echocardiographic measurements in 20 patients after 48 hours of PLA or PYR

	PLA	PYR	P
Heart rate (bpm)	78 ± 4	75 ± 3	0.10
Left atrial dimension (mm)	42 ± 2	43 ± 2	0.63
Left ventricular end diastolic dimension (mm)	68 ± 2	69 ± 3	0.52
Left ventricular end systolic dimension (mm)	58 ± 3	58 ± 3	0.82
Left ventricular ejection fraction (%)	32 ± 3	34 ± 3	0.13
Peak E (cm/sec)	65 ± 8	83 ± 9	0.02
Peak A (cm/sec)	72 ± 5	70 ± 7	0.60
Peak E/A ratio	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.2	0.01
Deceleration time of early diastolic filling (msec)	200 ± 16	227 ± 24	0.09
Isovolumic relaxation time (msec)	122 ± 10	116 ± 8	0.44

Data are expressed as mean ± SEM. Peak A is the peak velocity of late diastolic filling; Peak E is the peak velocity of early diastolic filling; Peak E/A ratio is the ratio between the velocity of early and late diastolic filling.

## DISCUSSION

In this randomized, crossover, placebo-controlled, double-blind study, stable patients with congestive heart failure were submitted to cholinergic stimulation with PYR. In a dose of PYR that is known to affect serum cholinesterase activity (11), two groups of patients were selected to specifically test the effects of the drug in ventricular arrhythmia as well as 24-hour indices of HRV. Heart failure patients tolerated well PYR in the doses used in this study. Under these controlled conditions, we were able to demonstrate that cholinergic stimulation with PYR reduces the density of VPBs and increases 24-hour short-term indexes of HRV in patients with heart failure due to systolic dysfunction. To our knowledge, this is the first study to describe such favorable effects of PYR in patients with heart disease.

**Pyridostigmine bromide.** PYR is a synthetic compound derived from the carbamic acid with reversible anti-cholinesterase action, which can be administered orally, does not cross the blood-brain barrier, and exhibits a dose-dependent cholinomimetic effect (17). Anti-cholinesterase inhibitors act directly on cardiac ganglion cells increasing the concentration of endogenous acetylcholine via reduced hydrolysis, and stimulating cardiac  $M_2$  receptors (18). Previous data from our group involving healthy volunteers have shown that PYR, at single doses, reduces resting heart rate (19), but does not depress left ventricular systolic or diastolic function (20). In addition, PYR blunts the rate-pressure product increase during mental stress (21) and inhibits the chronotropic response to dynamic exercise without reducing functional capacity (22). Another effect of PYR in healthy young subjects is a reduction in corrected QT dispersion at rest (23). In rats, we have also shown that PYR blunts the increase in myocardial oxygen uptake demand elicited by stimulation of the central nervous system (24). Using a

protocol similar to the present study, we have recently shown that short-term administration of PYR to healthy volunteers reduces mean heart rate and enhances 24-hour HRV (11). Considering that the ultimate aim of this line of investigation is to propose a new therapeutic approach for patients with cardiovascular diseases (10), these encouraging findings prompted us to conduct the present study with heart failure patients.

**Reduction of ventricular arrhythmia with pyridostigmine.** In the present study, short-term administration of PYR resulted in a consistent 65 % reduction of the density of isolated VPBs, when compared to PLA administration. This magnitude of ventricular arrhythmia reduction is consistent with an antiarrhythmic drug effect, and not with spontaneous variability of ventricular ectopy (25,26). This interpretation is reinforced by the double-blind, placebo-controlled, crossover design of this study, which makes very unlikely the possibility that our findings are associated with spontaneous variability of arrhythmia density. Previous animal and clinical studies have shown that vagal activation increases the ventricular fibrillation threshold, protects against reperfusion arrhythmias, and may even terminate ventricular tachycardia (7,8,9). In this study, cholinergic stimulation with PYR might have induced prolongation ventricular refractoriness, by its direct effect, or by antagonizing sympathetic effects on refractoriness (27).

Previous clinical and experimental studies using cholinomimetic stimulation have shown conflicting results. Mitrani et al (28), using edrophonium hydrochloride in patients with implantable defibrillators, were not able to elevate ventricular fibrillation threshold. Scopolamine, a muscarinic blocker, has been shown to reduce heart rate and to increase HRV in patients with heart failure (29). However, subsequent studies in a chronic canine model of ventricular fibrillation induced by artificial coronary occlusion at peak exercise have

demonstrated that, although scopolamine had reduced heart rate and increased HRV, it did not prevent the occurrence of ventricular fibrillation (30). In our patients, low-dose PYR administration resulted in a significant reduction in the number of VPBs and a favorable trend for reduction of more complex ventricular arrhythmia, such as runs of ventricular tachycardia. Further studies are needed to evaluate if PYR can prevent the occurrence of sustained ventricular tachycardia or ventricular fibrillation.

**Enhancement of heart rate variability with pyridostigmine.** In a previous study with normal individuals, PYR administration resulted in enhancement of short-term time domain indexes of HRV mostly due to an increase in heart rate dynamic range of variation towards lower heart rates, consistent with a parasympathetic effect (11). Despite the use of digoxin by all, and betablockers or amiodarone by some of our heart failure patients, administration of PYR resulted in reduction of mean heart rate and enhancement of 24-hour short-term indexes of heart rate variability. Since PNN50 and RMSSD reflect vagal modulation to the sinus node (12), these findings suggest that cholinergic stimulation with PYR induces parasympathetic stimulation in patients with heart failure. We evaluated a select group of heart failure patients, with 24-hour Holter recordings appropriate for HRV analysis. Although it has been demonstrated that arrhythmias may contaminate time domain measures of heart rate variability (16), the exact number of ectopic beats necessary for this contamination has not been established. For this reason, only patients with less than 1% of the total number of beats excluded were considered suitable for HRV analysis.

**Effects of pyridostigmine on left ventricular function.** Consistent with our previous observations on the effects of PYR on left ventricular systolic function of normal

individuals (20), the drug had no significant effect on ventricular dimensions or ejection fraction in our patients with stable heart failure due to left ventricular systolic dysfunction, suggesting a neutral inotropic effect. The results on Doppler indices of left ventricular filling demonstrated an increment in Peak E and Peak E/A ratio. These effects of PYR could be related to a reduction in heart rate, an improvement in myocardial relaxation or a reduction in left atrial inotropic state. Since there was no significant reduction in heart rate during the exam, and there were no significant effects of PYR in deceleration time of early diastolic filling or in isovolumic relaxation time, the changes in Doppler indexes are probably not related to a negative chronotropic effect or improvement in left ventricular relaxation. The atria are richly innervated by the vagus, and experimental models have shown that atrial contractility can be markedly reduced by stimulation of vagal efferent fibers or by pharmacological stimulation (31). Therefore, it is possible that cholinergic stimulation with PYR reduced atrial contractility, an effect that could influence Doppler indices of left ventricular filling. Overall, short-term PYR administration had no apparent detrimental effects on left ventricular systolic or diastolic function in patients with CHF due to systolic dysfunction.

**Possible clinical relevance and limitations.** In this small sample of patients with stable heart failure due to left ventricular systolic dysfunction we were able to demonstrate that 48-hour cholinergic stimulation with PYR was safe, reduced the density of ventricular ectopic activity, and enhanced HRV. These preliminary observations must be interpreted with caution, since it is not known whether the cholinomimetic action of pyridostigmine would sustain for longer periods. Likewise, even though both reduction in arrhythmia density and enhancement in HRV might be associated with potential improvement in prognosis, our findings cannot be

extrapolated to clinical practice. However, these observations should encourage further studies on long-term effects of PYR in heart failure.

**Conclusion.** Short-term PYR administration was safe, reduced mean heart rate, enhanced HRV, and reduced the density of ventricular ectopic activity during 24 h in stable patients with heart failure due to left ventricular systolic dysfunction, most likely due to its cholinomimetic effect. Further studies are needed to determine the effect of long-term administration of PYR in individuals with heart failure and other patients with heart disease and reduced vagal activity.

## REFERENCES

1. Merit-HF. Study Group. Effect of Metoprolol CR/XL in chronic heart failure: metoprolol CR/XL randomized intervention trial in congestive heart failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999;353:2001-7.
2. Porter TR, Eckberg DL, Fritsch JM, et al. Autonomic pathophysiology in heart failure patients. *J Clin Invest* 1990;85:1362-71.
3. Nolan J, Batin PD, Andrews R et al. Prospective study of heart rate variability and mortality in chronic heart failure: results of the United Kingdom Heart Failure Evaluation and Assessment of Risk Trial (UK-Heart). *Circulation* 1998; 98: 1510-1516.
4. Bonaduce D, Petretta M, Marciano F et al. Independent and incremental prognostic value of heart rate variability in patients with chronic heart failure. *Am Heart J* 1999; 138: 273-284.
5. La Rovere MT, Pinna GD, Hohnloser SH, et al. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias. Implications for clinical trials. *Circulation* 2001;103:2072-2077.
6. Grimm W, Glaveris C, Hoffmann J, et al. Arrhythmia risk stratification in idiopathic dilated cardiomyopathy based on echocardiography and 12-lead, signal-averaged, and 24-hour Holter electrocardiography. *Am Heart J* 2000;140:43-51.
7. Kent KM, Smith ER, Redwood DR, Epstein SE. Electrical stability of acutely ischemic myocardium: influences of heart rate and vagal stimulation. *Circulation* 1973; 47: 291-298.
8. De Ferrari GM, Salvati P, Grossoni M et al. Pharmacologic modulation of the autonomic nervous system in the prevention of sudden cardiac death. A study with propranolol,

- methacoline and oxotremorine in conscious dogs with a healed myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 283-290.
9. Waxman MB, Wald RW. Termination of ventricular tachycardia by increase in cardiac vagal drive. *Circulation* 1977; 56: 385-391.
  10. Nóbrega ACL, Castro RRT. Parasympathetic dysfunction as a risk factor in myocardial infarction: What is the treatment? *Am Heart J* 2000; 140: e23
  11. Nóbrega ACL, Reis AF, Moraes RS, et al. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigme in healthy subjects. *Clin Auton Research* 2001;11:11-17.
  12. Polanczyk CA, Rohde LEP, Moraes RS, Ferlin EL, Leite C, Ribeiro JP. Sympathetic nervous system representation in time and frequency domain indices of heart rate variability. *Eur J Appl Physiol* 1998;79: 69-73.
  13. Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Eletrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; 93: 1043-1065.
  14. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo A, Weyman A. Recommendations regarding quantittation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiography measurements. *Circulation* 1978;58:1072-86.
  15. Azevedo MJ, Pinotti AF, Stumpf S, Gross JL, Ribeiro JP. Preserved left ventricular systolic and diastolic function in normoalbuminuric insulin-dependent diabetic patients with glomerular hyperfiltration. *Diabetes Res Clin Practice* 1994;25:103-110.
  16. Rohde LEP, Polanczyk CA, Moraes RS, Ferlin EL, Ribeiro JP. Effect of partial arrhythmia supression with amiodarone on heart rate variability of patients with congestive heart failure. *Am Heart J* 1998;136:31-6.



17. Taylor P. Anticholinesterase agents. In: Hardman JG, Limbird LE, eds. Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics. New York, McGraw-Hill, 1996:161-176.
18. Stein RD, Backman SB, Collier B, Polosa C. Bradycardia produced by pyridostigmine and physostigmine. *Can J Anaesth* 1997; 44: 1286-1292.
19. Nóbrega ACL, Carvalho ACG, Bastos BG. Resting and reflex heart rate responses during cholinergic stimulation with pyridostigmine in humans. *Brazilian J Med Biol Res* 1996; 29: 1461-1465.
20. Pontes PV, Bastos BG, Romeo Filho RJ, Mesquita ET, Nóbrega ACL. Cholinergic stimulation with pyridostigmine: hemodynamic and echocardiographic analysis in healthy subjects. *Arq Bras Cardiol* 1999; 72: 297-306.
21. Nóbrega ACL, Carvalho ACG, Santos KB, Soares PPS. Cholinergic stimulation with pyridostigmine blunts the cardiac responses to mental stress. *Clin Auton Res* 1999; 9: 1-6.
22. Serra SM, Costa RV, Bastos BG, Santos KB, Ramalho SHR, Nóbrega ACL. Cardiopulmonary exercise testing during cholinergic stimulation with single dose of pyridostigmine in healthy subjects. *Arq Bras Cardiol* 2001; 76: 279-284.
23. Castro RR, Serra SM, Nóbrega AC. Reduction of QTc interval dispersion: potential mechanism of cardiac protection of pyridostigmine bromide. *Arq Bras Cardiol* 2000; 75: 205-213.
24. Grabe-Guimarães A, Alves LM, Tibiriçá E, Nóbrega ACL. Pyridostigmine blunts the increases in myocardial oxygen demand elicited by the stimulation of the central nervous system in anesthetized rats. *Clin Auton Res* 1999; 9: 83-9.
25. Michelson EL, Morganroth J. Spontaneous variability of complex ventricular arrhythmias detected by long-term electrocardiographic recording. *Circulation* 1980;61:690-5.

26. Pratt CM, Th eroux P, Slymen D, et al. Spontaneous variability of ventricular arrhythmias in patients at increased risk for sudden death after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1987;59:278-283.
27. Warner MR, Zipes DP. Vagal control of myocardial refractoriness. In Levy MN, Schwartz PJ (eds.). *Vagal control of the heart: experimental basis and clinical implications*. Armonk, NY, Futura Publishing, 1994:261-75.
28. Mitrani RD, Kloosterman EM, Huikuri H, et al. Muscarinic receptor stimulation with edrophonium hydrochloride does not elevate ventricular fibrillation threshold in humans. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999; 10: 809-816.
29. La Rovere MT, Mortara A, Pantaleo P, Mestri R, Cobelli F, Tavazzi L. Scopolamine improves autonomic balance in advanced congestive heart failure. *Circulation* 1994; 90: 838-843.
30. Hull Jr SH, Vanoli E, Adamsom PB et al. Do increases in markers of vagal activity imply protection from sudden death? The case of scopolamine. *Circulation* 1995; 91: 2516-2519.
31. Levy MN, Pappano AJ. Vagal control of myocardial contractility. In Levy MN, Schwartz PJ (eds.). *Vagal control of the heart: experimental basis and clinical implications*. Armonk, NY, Futura Publishing, 1994:241-59.

## ANEXO 2

### TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, \_\_\_\_\_, identidade n \_\_\_\_\_ concordo em participar voluntariamente deste projeto de pesquisa sob a responsabilidade da Dra. \_\_\_CRM.

Declaro que fui informado sobre o objetivo desse estudo, que é para avaliar o efeito de uma medicação na doença que eu tenho e que no futuro poderá até ser usada no tratamento da mesma a fim de diminuir sua mortalidade. Participando do estudo deverei tomar um comprimido, de oito em oito horas por 48 horas, contendo 30mg de uma substância chamada brometo de piridostigmina ou um comprimido sem substância ativa, sem que eu saiba, qual dos dois estarei tomando, mas o médico que me acompanha saberá, e usarei um gravador eletrocardiográfico (Holter ) de 24 horas, o qual não causa nenhum dano. Após 1 semana de intervalo usarei novamente um comprimido de oito em oito horas por 48 horas que pode ser a substância ativa ou não, e usarei o Holter também. A substância ativa foi empregada em outros estudos publicados e na dose que será utilizada, costuma não provocar nenhum sintoma ou pode causar cólicas abdominais, diarreia, náuseas, vômitos, tonturas, salivação excessiva, dor de cabeça, aumento da secreção pulmonar, dificuldade da fala, lacrimejamento, lentificação dos batimentos cardíacos e arritmias. No dia em que eu tomar a primeira dose de qualquer uma das medicações ficarei no hospital por duas horas para observação de qualquer efeito colateral que poderá ser rapidamente eliminado por uma injeção de atropina e serei submetido a um exame clínico, e após a liberação do hospital ficarei com o telefone do médico responsável para entrar em contato para qualquer eventualidade. Durante o tempo de tomada

dos comprimidos usarei um gravador eletrocardiográfico (Holter) de 24 horas, o qual não causa nenhum dano.

Estou ciente de que poderei interromper a qualquer momento minha participação nos exames sem necessidade de justificativa e que esta decisão não incorrerá em qualquer prejuízo para mim, e continuarei recebendo assistência no ambulatório de insuficiência cardíaca do HCPA. As informações obtidas estarão disponíveis para mim e para quem eu autorizar e poderão ser utilizadas anonimamente para fins acadêmicos científicos.

Porto Alegre \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2000

Paciente: \_\_\_\_\_

Responsável pelo projeto: Dra. Alice Behling, Prof. Jorge P. Ribeiro