

Estimulação Colinérgica com Piridostigmina. Análise Hemodinâmica e Ecocardiográfica em Indivíduos Normais

Paulo Vasconcellos de Pontes, Bianca Gouvêa Bastos, Luiz José Martins Romão F^o,
Evandro Tinoco Mesquita, Antonio Claudio Lucas da Nóbrega

Niterói, RJ

Objetivo - Crescentes evidências indicam que a morte súbita em pacientes pós-infarto agudo do miocárdio (IAM) correlaciona-se com desequilíbrio do sistema nervoso autônomo. Drogas parassimpaticomiméticas têm sido testadas com a finalidade de reverter essas alterações. Porém, seus efeitos sobre a função ventricular necessitam de uma avaliação específica. Nosso objetivo foi analisar o efeito da piridostigmina (PIR) sobre variáveis hemodinâmicas e ecocardiográficas da função ventricular.

Métodos - Vinte voluntários sadios foram submetidos a avaliações ecodopplercardiográficas e aferições de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) em repouso, antes e 120min após a ingestão de 30mg de PIR ou placebo, seguindo-se um protocolo duplo-cego, placebo-controlado, cruzado e randomizado, em dias diferentes.

Resultados - PIR foi bem tolerada e não provocou alterações de PA ou função sistólica ventricular. A FC apresentou redução de $10,9 \pm 1,3\%$ ($p < 0,00001$). Houve redução da onda A ao fluxo mitral ($p < 0,01$) e aumento da relação E/A ($p < 0,001$) sem alterar os demais índices de função diastólica ($p > 0,05$).

Conclusão - A PIR reduz a FC e aumenta a relação E/A, sem prejuízo hemodinâmico ou alteração da função ventricular.

Palavras-chave: piridostigmina, sistema nervoso autônomo, doença arterial coronária

Nas últimas décadas, assistimos a um grande progresso no tratamento da insuficiência coronária, particularmente atribuído à evolução do arsenal terapêutico. Os β -bloqueadores, por exemplo, têm demonstrado promover em alguns estudos, redução significativa da mortalidade, principalmente através de redução da morte súbita¹⁻³. Estes efeitos se devem à diminuição de consumo miocárdico de O₂ e, adicionalmente, ao bloqueio da hiperatividade adrenérgica pós-infarto⁴. Recentes estudos têm procurado identificar subgrupos sob maior risco de morte súbita, através da eletrocardiografia de alta resolução, monitoração eletrocardiográfica contínua e análise da sensibilidade do barorreflexo (SBR), de modo a estratificar o risco pós-infarto⁵⁻⁸. Evidenciou-se que, além da disautonomia por hiperatividade adrenérgica, pode estar presente hipoatividade vagal concomitante, expressa por redução da variabilidade RR (VRR) e da SBR^{9,10}. A partir de sua correlação inicial com morte súbita¹¹, e após se tornarem disponíveis evidências experimentais¹² e clínicas¹³ do seu valor prognóstico, passou-se a considerar a hipoatividade vagal um fator de risco independente para morte súbita pós-infarto^{7,14,15}. Surgiu portanto, uma perspectiva de atuação terapêutica através de medicações que modulem o sistema parassimpático, particularmente atuando sobre a ação da acetilcolina (ACh). Quatro grupos¹⁶⁻¹⁹ publicaram, em 1993, os primeiros estudos sobre os efeitos da escopolamina, um agente colinomimético em baixas doses, no tônus vagal de pacientes pós-infarto. Todos demonstraram efeito vagomimético através da redução da frequência cardíaca (FC) e aumento da VRR e/ou da SBR, restando ainda ser avaliado seu possível efeito protetor em termos de morbimortalidade. Apesar dos resultados positivos obtidos, a escopolamina apresenta o inconveniente de somente possuir ação agonista colinérgica em baixas doses, passando a um efeito oposto (bloqueador) em doses maiores²⁰. Este fato dificulta a determinação da dosagem adequada em pacientes que a necessitem, podendo causar bloqueio colinérgico potencialmente deletério. Adicionalmente, nenhum dos estudos da escopolamina em pacientes pós-infarto relatou suficientemente seus efeitos sobre as funções sistólica e diastólica

Hospital Universitário Antônio Pedro - UFF
Correspondência: Paulo Vasconcellos de Pontes - Rua 8 de Dezembro, 514/102
- 20550-200 - Rio de Janeiro, RJ - Brasil.
Recebido para publicação em 20/8/98
Aceito em 11/11/98

ventriculares, variáveis fundamentais na população de pacientes com doença coronária.

A piridostigmina (PIR) parece ser mais adequada à utilização em pacientes pós-infarto. Sendo uma droga inibidora reversível da acetil-colinesterase (AChE), tem a atropina como antídoto, possui ação colinomimética dose-dependente²¹, permitindo o ajuste da dose de acordo com a resposta individual do paciente. Além da grande experiência acumulada com sua utilização na miastenia gravis (MG) e na profilaxia da intoxicação por gases organofosforados (armas de guerra química: sarin, soman e tabun)²²⁻²⁵, a PIR não penetra no sistema nervoso central, pode ser administrada por via oral e tem baixa incidência de efeitos colaterais²¹, grandes vantagens em relação à escopolamina. Em nosso meio, Nóbrega e cols. já considerando o uso potencial da PIR em pacientes pós-infarto, documentaram as respostas reflexa e de repouso da FC de voluntários normais à estimulação colinérgica produzida pela administração de uma única dose de PIR²⁶. Apesar de teoricamente o efeito inotrópico negativo destes agentes ser de menor intensidade, devido à reduzida inervação vagal ventricular, faz-se necessária uma avaliação específica. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da PIR sobre a PA, FC, funções sistólica e diastólica à ecodopplercardiografia e a tolerância à droga em indivíduos sadios em repouso.

Métodos

Vinte voluntários normais foram submetidos, em jejum, a avaliações ecodopplercardiográficas imediatamente antes e 120min após a ingestão de 30mg de brometo de PIR ou placebo, seguindo-se um protocolo duplo-cego, placebo-controlado, cruzado e randomizado, em dias diferentes selecionados aleatoriamente, com intervalo mínimo de sete dias. Foram aferidas PA e FC (três tomadas de ambas) imediatamente após cada avaliação. Assim, foram formados quatro condições de valores (medidas pré-placebo, pós-placebo, pré-PIR e pós-PIR), sendo cada voluntário seu próprio controle (protocolo cruzado). Todos os voluntários foram previamente informados dos objetivos, metodologia e riscos do estudo, assinando, em seguida, consentimento formal escrito. Foram aplicados como critérios de inclusão no estudo: exame físico, eletrocardiograma e ecodopplercardiograma normais. Os critérios de exclusão foram: história pregressa de cardiopatia, diabetes mellitus, asma ou bronquite, hipersensibilidade conhecida ao brometo de PIR, uso de medicação com efeitos cardiovasculares ou sobre o sistema nervoso autônomo (SNA) e gestação. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Pós-Graduação da UFF.

O grupo analisado foi composto por indivíduos envolvidos em atividades biomédicas em 95% dos casos (estudantes universitários, graduados e professores universitários), sendo 8 (40%) do sexo feminino, 17 (85%) brancos e 3 (15%) não-brancos, com idade média de 25 ± 5 anos, peso médio de 70 ± 13 kg, altura média de $1,7 \pm 0,1$ m e superfície corporal média de $1,83 \pm 0,19$ m². A análise ecodopplercardiográfica foi realizada por um único observador, que desconhecia a condição

aplicada (placebo ou droga). Utilizou-se equipamento ATL Apogee CX200 com transdutor setorial mecânico de 2,5 MHz e registro eletrocardiográfico simultâneo. A avaliação de cada voluntário foi imediatamente precedida de um repouso de 10min em decúbito dorsal, no leito de exame, visando retorno hemodinâmico às condições basais.

Foram obtidas médias de cinco tomadas de cada medida. As medidas dos diâmetros ventriculares, foram procedidas conforme a padronização estabelecida na Convenção de Penn²⁷⁻²⁹. Foram calculados: fração de ejeção (FE)³⁰, percentual de encurtamento sistólico³⁰ (ΔD), índice e débito cardíacos³¹, estresse e espessamento tele-sistólicos³²⁻³⁵, tempo de relaxamento isovolúmico (TRIV), velocidade do fluxo de enchimento rápido mitral³⁶ (E), velocidade do fluxo de enchimento pré-sistólico mitral³⁶ (A), relação E/A³⁶, tempo de desaceleração do fluxo de enchimento rápido mitral³⁶ (TD) e rigidez miocárdica de VE³⁷ (K_{LV}). Os dados de PA, FC e da avaliação ecodopplercardiográfica, foram analisados através de análise de variância de dois fatores para medidas repetidas. Quando alcançada significância estatística, o teste de Tukey foi utilizado para identificar as médias diferentes entre si. Adicionalmente, para a análise da FC, foram obtidas variações percentuais entre os valores pré e pós, nas condições placebo e PIR, os quais foram comparados através do teste t de Student para medidas pareadas. Para todos os testes, considerou-se significativo valor de $p < 0,05$.

Resultados

Um voluntário apresentou miofasciculações e piloereção relacionada à PIR, sendo autolimitada e não necessitando qualquer tipo de intervenção. Não ocorreram alterações hemodinâmicas ou que representassem risco para o mesmo. Outro voluntário atribuiu ao jejum prolongado um episódio autolimitado e fugaz de lipotímia. Na ocasião encontrava-se no pico de ação da PIR, com FC de 44bpm e PA de 100x60mmHg.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as quatro condições do estudo quanto às pressões arteriais sistólica e diastólica. A FC apresentou redução média de 7,1bpm na condição pós-PIR ($57,5 \text{ bpm} \pm 1,9 \text{ SE}$) em relação ao pré-PIR ($64,6 \text{ bpm} \pm 2,1 \text{ SE}$), sendo estatisticamente significativa ($p < 0,05$ - ANOVA) (fig. 1).

Quando a FC foi analisada sob forma de variações percentuais de seus respectivos controles, placebo e PIR demonstraram reduções médias de $2,3\% \pm 1,2 \text{ SE}$ e $10,9\% \pm 1,3 \text{ SE}$, respectivamente (figs. 2 e 3). Submetidos ao teste t de Student pareado, esta diferença revelou-se de significância estatística importante ($p < 0,00001$).

Não houve alteração significativa nos diâmetros e volumes ventriculares, e nos índices de função sistólica ventricular, tais como FE, ΔD , índice e débito cardíacos. Os índices de estresse e espessamento tele-sistólicos mantiveram-se igualmente inalterados. Não houve alteração estatisticamente significativa do TRIV, do TD e do K_{LV} .

Houve significativa redução da onda A na condição pós-PIR (fig. 4), em relação aos demais ($p < 0,01$). Encontrou-

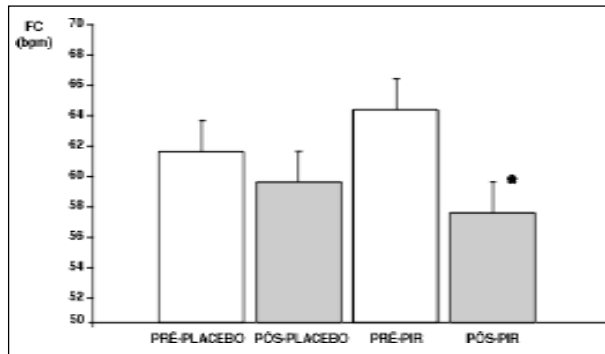


Fig. 1 - Médias e erros-padrão da frequência cardíaca (* p<0,05).

se uma tendência de aumento da onda E, sem alcançar significância estatística.

A relação E/A apresentou aumento significativo na condição pós-PIR (fig. 5) em relação aos demais (p<0,001).

Retas de regressão foram determinadas a partir das condições pré/pós placebo e pré/pós PIR, correlacionando FC com onda A e FC com relação E/A (fig. 6), visando identificar variações da onda A e relação E/A, independentemente das alterações secundárias à redução da FC. Evidenciou-se que para qualquer FC dada, a condição pós-PIR apresenta a menor onda A e a maior relação E/A das quatro condições. Adicionalmente ao deslocamento superior, há maior inclinação de sua reta, indicando valores de E/A ainda maiores para valores menores de FC.

Discussão

A importância da redução da FC na doença coronária foi identificada a partir de estudos que determinavam a eficácia dos β -bloqueadores na redução da morbimortalidade³⁸. Também na insuficiência cardíaca congestiva (ICC), a FC foi identificada como fator prognóstico independente, refletindo ativação anormal do sistema nervoso simpático³⁹. Adicionalmente, a melhora da função ventricular em pacientes em uso de amiodarona, foi atribuída à redução da FC amiodarona-induzido⁴⁰. Há evidências de que a redução da FC possa por si só, melhorar a função ventricular nesta população^{41,42}. Em contrapartida, vários agentes usados no tratamento da ICC, através do aumento

da FE e da capacidade funcional, não necessariamente aumentam a sobrevida⁴³⁻⁴⁵.

A PIR surge como uma opção medicamentosa na redução da FC. Seu perfil farmacológico parece atraente, se considerarmos sua utilização em pacientes com ICC ou doença coronária, particularmente no que se refere à ausência de efeitos sobre a função sistólica ventricular e sobre a resistência periférica. Adicionalmente sua ação sobre o SNA foi extensamente estabelecida a partir de pacientes com MG, assim como seu perfil de segurança⁴⁶. Resta ainda analisá-la quanto à capacidade de promover melhoria nos marcadores de disautonomia em cardiopatas, assim como sua repercussão sobre os índices de morbimortalidade nessa população. Este estudo foi uma primeira abordagem nesta direção, visando corroborar seu perfil de segurança em relação às variáveis hemodinâmicas e de função ventricular

De conformidade com a literatura, o presente estudo demonstrou que a PIR é bem tolerada, sem promover efeitos colaterais importantes na dose utilizada⁴⁷⁻⁴⁹. Em acordo com estudos de Nóbrega e cols.²⁶ a PIR produziu redução da FC, sendo que no presente estudo, em todos os indivíduos (p<0,05). Apesar da significativa redução da FC na condição pós-PIR, não houve alteração correspondente no índice e débito cardíacos, provavelmente contrabalançados por uma tendência de aumento do volume de ejeção ventricular (p=NS). Comportamento hemodinâmico semelhante foi demonstrado em estudo experimental em cães⁵⁰.

A redução da onda A alcançou significância estatística (p<0,01), que associada a uma tendência não significativa de aumento da onda E, se potencializaram quando em forma de relação E/A, resultando numa significância ainda maior de E/A na condição pós-PIR (p<0,001).

A partir da interpretação das alterações do fluxo mitral PIR-induzido, poderíamos formular três mecanismos para o aumento da relação E/A: 1) melhora do relaxamento ventricular, 2) secundária à redução da FC, e 3) secundária à redução do inotropismo atrial esquerdo.

Embora o aumento da relação E/A do fluxo mitral possa indicar melhora do relaxamento ventricular, outros fatores podem provocar este efeito. Na verdade, o presente estudo não permite inferir que a PIR possua ação sobre o relaxamento ventricular, visto que não ocorreram alterações de TRIV, TD ou K_{LV} . Contudo, encontramos estudo atribuindo à PIR o achado de melhora do relaxamento de VE em pacientes hipertensos⁵¹.

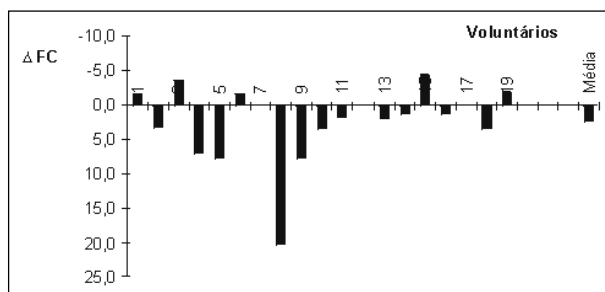


Fig. 2 - Redução percentual da frequência cardíaca em uso de placebo, em relação ao controle (* p=NS).

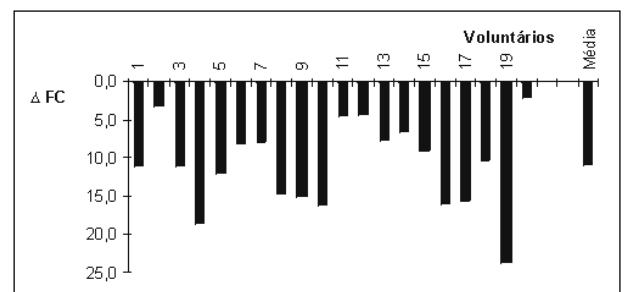


Fig. 3 - Redução percentual da frequência cardíaca em uso de PIR, em relação ao controle (* p<0,00001).

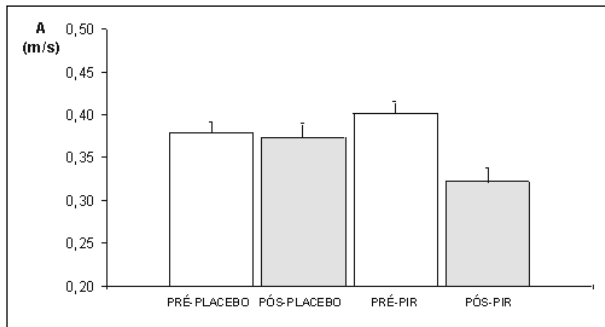


Fig. 4 - Médias e erros-padrão da onda A (* $p < 0,01$).

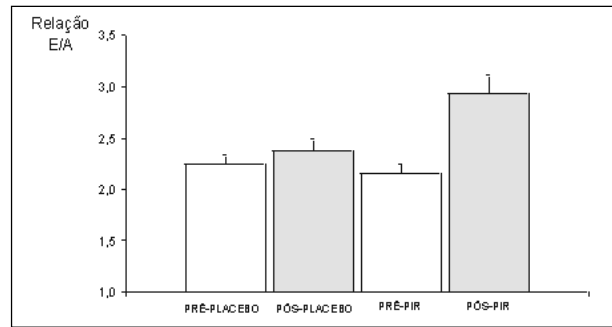


Fig. 5 - Médias e erros-padrão da relação E/A (* $p < 0,001$).

Harrison e cols. demonstraram uma correlação inversa entre FC e relação E/A em indivíduos normais⁵². Pode-se portanto concluir que a redução da FC com PIR tenha sido responsável pelo aumento da relação E/A. Entretanto, os valores da onda A foram sempre mais baixos na condição pós-PIR para qualquer valor dado de FC. Adicionalmente, maior relação E/A na condição pós-PIR foi encontrada, para qualquer valor de FC dada. Estes achados indicam que, além das variações esperadas da onda A e relação E/A, decorrentes da variação de FC, parece haver outro fator aditivo a estas modificações, possivelmente uma redução do inotropismo atrial, como anteriormente demonstrado em modelos animais⁵³.

Condizente com sua rica inervação vagal, os átrios podem experimentalmente ter sua contratilidade reduzida em até 100%, tanto por estimulação de fibras eferentes quanto por estímulo farmacológico⁵³. Considerando-se que a dose utilizada de PIR é sabidamente suficiente para resultar em redução significativa da atividade da AchE⁵⁴, pode-se esperar algum efeito inotrópico atrial negativo, não quantificável pelos métodos utilizados no presente estudo.

Apesar das implicações potenciais de um efeito inotrópico atrial negativo, vários estudos demonstraram não haver redução da performance em várias situações que demandem aumento do débito cardíaco (DC)^{48,49,55-57}. Estudos posteriores poderão validar estes achados em populações mais dependentes da contração atrial para manutenção do DC, como em pacientes com cardiopatia isquêmica ou hipertensiva.

A partir deste estudo, podemos inferir as seguintes implicações clínicas: 1) a PIR pode ser considerada, com razoável margem de segurança, para futuros estudos em

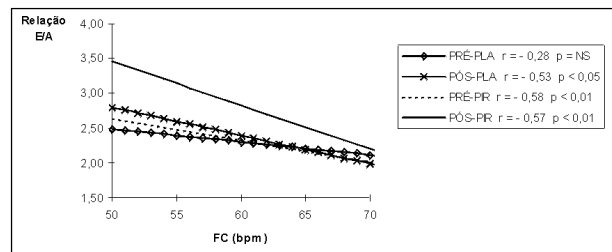


Fig. 6 - Retas de regressão correlacionando redução da frequência cardíaca e aumento da relação E/A.

outras condições clínicas, como a cardiopatia isquêmica, visando particularmente analisar seus efeitos hemodinâmicos e autonômicos⁵⁸, 2) os efeitos da PIR sobre a FC podem ser analisados por outros estudos, comparando-a por exemplo aos β -bloqueadores, em populações de pacientes com insuficiência cardíaca, visto que parecem exercer menor efeito inotrópico negativo, 3) supondo-se que sejam obtidos resultados favoráveis às considerações supracitadas, poder-se-ia avaliar o impacto da PIR sobre índices de morbimortalidade nestas populações^{59,60}.

Concluindo, este estudo permite-nos inferir que numa população de indivíduos jovens, normais, em repouso, na dose utilizada a PIR é bem tolerada, não altera a função cardíaca global de bomba. Especificamente, a PIR não altera a PA, produz redução da FC, não altera a função sistólica ventricular, produz redução da onda A, assim como aumento da relação E/A.

Agradecimentos

Apoio do CNPq e da FAPERJ.

Referências

- Gheorghide M, Shivkumar K, Schultz L, Jafri S, Tilley B, Goldstein S. Prognostic significance of electrocardiographic persistent ST depression in patients with their first myocardial infarction in the placebo arm of the Beta-Blocker Heart Attack Trial. *Am Heart J* 1993; 126: 271-8.
- Kostis JB, Byington R, Friedman LM, Goldstein S, Furberg C. Prognostic significance of ventricular ectopic activity in survivors of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10: 231-42.
- Lichstein E, Morganroth J, Harrist R, Hubble E. Effect of propranolol on ventricular arrhythmia. The beta-blocker heart attack trial experience. Pt 2. *Circulation* 1983; 67: 15-10.
- Webb SW, Afgey AA, Pantridge JF. Autonomic disturbances at onset of acute myocardial infarction. *Br Med* 1972; 3: 89-92.
- La Rovere MT, Mortara A. Assessment of the autonomic nervous system after infarction and its prognostic significance. *Cardiology* 1994; 39(suppl 1): 225-31.

6. Morlet D, Couderc JP, Touboul P, Rubel P. Wavelet analysis of high-resolution ECGs in post-infarction patients: role of the basic wavelet and of the analyzed lead. *Int J Biomed Comput* 1995; 39: 311-25.
7. Schwartz PJ, La Rovere MT, Vanoli E. Autonomic nervous system and sudden cardiac death. Experimental basis and clinical observations for post-myocardial risk stratification. *Circulation* 1992; 85(suppl): I-77.
8. Turner AW, Malik M. Risk stratification and prediction of sudden death following myocardial infarction. *Herz* 1995; 20: 200-12.
9. Moser M, Lehofer M, Sedmínek A, et al. Heart rate variability as a prognostic tool in cardiology. A contribution to the problem from a theoretical point of view. *Circulation* 1994; 90: 1078-82.
10. Puig J, Freitas J, Carvalho MJ, et al. Study of the autonomous nervous system with heart rate spectral analysis in acute myocardial infarction. *Rev Port Cardiol* 1991; 10: 923-9.
11. Wolf MG, Varigos G, Hunt D. Sinus arrhythmia in acute myocardial infarction. *Med J Aust* 1978; 2: 52.
12. Billman GE, Schwartz HK, Stone. Baroreceptor reflex control of heart rate: a predictor of sudden cardiac death. *Circulation* 1982; 66: 874.
13. Keiger RE, Miller JP, Bigger JR. Heart rate variability: a variable predicting mortality following acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1984; 3: 547.
14. Levy MN, Schwartz PJ. Vagal control of the heart: Experimental basis and clinical applications. Armonk: Futura Publishing, 1994: 644.
15. Odemuyiwa OM, Malik T, Farrell. Comparison of the predictive characteristics of heart rate variability index and left ventricular ejection fraction for all-cause mortality, arrhythmic events and sudden death after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1991; 68: 434.
16. Casadei B, Pipilis A, Sessa F, Conway J, Sleight P. Low doses of scopolamine increase cardiac vagal tone in the acute phase of myocardial infarction. *Circulation* 1993; 88: 353-7.
17. De Ferrari GM, Mantica M, Vanoli E, Hull SS Jr, Schwartz PJ. Scopolamine increases vagal tone and vagal reflexes in patients after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 1327-34.
18. Pedretti R, Colombo E, Braga SS, Carú B. Influence of scopolamine on cardiac sympathovagal interaction after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1993; 72: 384-92.
19. Vybiral T, Glaeser DH, Morris G, et al. Effects of low-dose transdermal scopolamine on heart rate variability in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 1320-36.
20. Koelle GB. Anticholinesterase agents. In: Goodman LS, Gilman A - *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. New York: McMillan, 1996.
21. Yamamoto K, Shimizu M, Ohtani H, Hayashi M, Sawada Y, Iga T. Toxicodynamic analysis of cardiac effects induced by four cholinesterase inhibitors in rats. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48: 935-9.
22. Husain K, Kumar P, Vijayaraghavan R, Singh R, Das Gupta S. Influence of pretreatment of carbamates on dynamic pulmonary mechanics in rats exposed to sarin aerosols. *Indian J Physiol Pharmacol* 1993; 37: 249-51.
23. Leadbeater L, Inns RH, Rylands JM. Treatment of poisoning by soman. Pt 2. *Fundam Appl Toxicol* 1985; 5: S225-31.
24. Lee EJ. Pharmacology and toxicology of chemical warfare agents. *Ann Acad Med Singapore* 1997; 26: 104-7.
25. Volans AP. Sarin: guidelines on the management of victims of a nerve gas attack. *J Accid Emerg Med* 1996; 13: 202-6.
26. 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: 1462-5.
27. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 1986; 15: 450-8.
28. Huwez FU, Pringle SD, Macfarlane PW. A comparison of left ventricular mass and volume using different echocardiographic conventions. *Int J Cardiol* 1991; 30: 103-8.
29. Reichek N. Standardization in the measurement of left ventricular wall mass. M-mode echocardiography. Pt 2. *Hypertension* 1987; 2: II27-9.
30. Weyman VPA. Left ventricle. I. General considerations of chamber size and function. In: Weyman A - *Principle and Practice of Echocardiography*. 2nd ed. Boston: Lea & Febiger, 1994: 575-625.
31. Magnin PA, Stewart JA, Myers S. Combined Doppler and phased-array, echocardiographic estimation of cardiac output. *Circulation* 1981; 63: 388-95.
32. Grossman W, Braunwald E, Mann T, McLaurin LP, Green LH. Contractile state of the left ventricle in man as evaluated from end-systolic pressure-volume relations. *Circulation* 1977; 56: 845-52.
33. Marsh JD, Green LH, Wynne J, Cohn PF, Grossman W. Left ventricular end-systolic pressure-dimension and stress-length relations in normal human subjects. *Am J Cardiol* 1979; 44: 1311-17.
34. Reichek N, Wilson J, Sutton MJ. Noninvasive determination of left ventricular end-systolic stress: validation of the method and initial application. *Circulation* 1982; 65: 99-108.
35. Sagawa K. The end-systolic pressure-volume relation of the ventricle: definition, modification and clinical use. *Circulation* 1981; 63: 1223-7.
36. Oh JK, Appleton CP, Hatle LK. The noninvasive assessment of left ventricular diastolic function with two dimensional and Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*, 1997.
37. Little WC, Ohno M, Kitzman DW, Thoma JD, Cheng CP. Determination of left ventricular chamber stiffness from the time for deceleration of early left ventricular filling. *Circulation* 1995; 92: 1933-9.
38. Kjekshus JK. Importance of heart rate in determining beta-blocker efficacy in acute and long-term acute myocardial infarction intervention trials. *Am J Cardiol* 1986; 57: 43F-9F.
39. Cohn J, Johnson G, Shabetai R, et al, for the V-HeFT VA Cooperative Studies Group. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption, cardiothoracic ratio, ventricular arrhythmias and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure. *Circulation* 1993; 87(suppl VI): VI-5-16.
40. Nul DR, Doval HC, Grancelli HO, et al. Heart rate is a marker of amiodarone mortality reduction in severe heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 1199-205.
41. Anderson B, Lomsky M, Waagstein F. The link between acute haemodynamic adrenergic beta-blockade and long-term effects in patients with heart failure. *Eur Heart J* 1993; 14: 1375-85.
42. Eichhorn EJ. The paradox of beta adrenergic blockade for the management of congestive heart failure. *Am J Med* 1992; 92: 527-38.
43. Cohn JN, Johnson G, Ziesche S, et al. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325: 303-10.
44. Packer M, Carver JR, Rodeheffer RJ, et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325: 1468-75.
45. Waagstein F, Bristow M, Swedberg K, et al, for the Metoprolol in Dilated Cardiomyopathy (MDC) Trial Study Group. Beneficial effects of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1441-6.
46. Arsura EL, Brunner NG, Namba T, Grob D. Adverse cardiovascular effects of anticholinesterase medications. *Am J Med Sci* 1987; 293: 18-23.
47. Borland RG, Brennan DH, Nicholson AN, Smith PA. Studies on the possible central and peripheral effects in man of a cholinesterase inhibitor (pyridostigmine). *Hum Toxicol* 1985; 4: 293-300.
48. Epstein Y, Aron R, Moran D, Seidman DS, Danon Y. Effect of pyridostigmine on the exercise-heat response of man. *Eur J Appl Physiol*, 1990; 61: 128-32.
49. Epstein Y, Seidman DS, Moran D, Aron R, Arad M, Varssano D. Heat-exercise performance of pyridostigmine-treated subjects wearing chemical protective clothing. *Aviat Space Environ Med* 1990; 61: 310-3.
50. Caldwell RW, Lowensohn HS, Chryssanthos MA, Nash CB. Interactions of pyridostigmine with cardiopulmonary systems and their relationships to plasma cholinesterase activity. *Fundam Appl Toxicol* 1989; 12: 432-41.
51. Arad M, Roth A, Zelinger J, Zivner Z, Rabinowitz B, Atsmon J. Safety of pyridostigmine in hypertensive patients receiving beta blockers. *Am J Cardiol* 1992; 69: 518-22.
52. Harrison MR, Clifton GD, Pennell AT, DeMaria NA. Effect of heart rate on left ventricular diastolic transmitral flow velocity patterns assessed by Doppler echocardiography in normal subjects. *Am J Cardiol* 1991; 67: 622.
53. Martin P. Atrial inotropic responses to brief vagal stimuli: Frequency-force interactions. *Am J Physiol* 1980; 239: H333.
54. Ram Z, Molcho M, Danon YL, et al. The effect of pyridostigmine on respiratory function in healthy and asthmatic volunteers. *Isr J Med Sci* 1991; 27: 664-8.
55. Forster EM, Barber JA, Parker FR Jr, Whinnery JE, Burton RR, Boll P. Effect of pyridostigmine bromide on acceleration tolerance and performance. *Aviat Space Environ Med* 1994; 65: 110-6.
56. Gawron VJ, Schiflett SG, Miller JC, Slater T, Ball JF. Effects of pyridostigmine bromide on in-flight aircrew performance. *Hum Factors* 1990; 32: 79-94.
57. Roach JM, Eliasson AH, Phillips YY. The effect of pyridostigmine on bronchial hyperreactivity. *Chest* 1993; 103: 1755-8.
58. Reis AF, Bastos BG, Mesquita ET, Romão LJM, Nóbrega ACL. Disfunção parassimpática, variabilidade da frequência cardíaca e estimulação colinérgica após infarto agudo do miocárdio. *Arq Bras Cardiol* 1998; 70: 193.
59. Pontes PV. Estudo das variáveis hemodinâmicas e da função ventricular sistólica e diastólica com o emprego de piridostigmina (tese de Mestrado). Niterói: Universidade Federal Fluminense, 1997, 55p.
60. Pontes PV, Bastos BG, Mesquita ET, Romão LJM, Nóbrega ACL. Cholinergic stimulation with pyridostigmine: echocardiographic analysis in healthy subjects. In: *III World Congress of Cardiology*. Rio de Janeiro, 1998.