

O Efeito da Privação de Sono na Função Cardíaca e Tolerância à Lesão de Isquemia-Reperfusão em Ratos

The Effect of Sleep Deprivation on Cardiac Function and Tolerance to Ischemia-Reperfusion Injury in Male Rats

Sajad Jeddi¹, Amir Nezami Asl², Alireza Asgari², Asghar Ghasemi¹

Endocrine Physiology Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences¹; Aerospace Medicine Research Center, Medical Faculty of Aerospace and Subaquatic Medicine, AJA Medical Sciences University², Tehran – Iran

Resumo

Fundamento: A privação de sono (PS) acha-se fortemente associada a alto risco cardiovascular.

Objetivo: Determinar o efeito da PS nas funções hemodinâmicas basais e tolerância à lesão miocárdica de isquemia-reperfusão (IR) em ratos machos.

Método: A PS foi induzida com o método da plataforma única por 4 dias. Utilizou-se o modelo de perfusão de coração isolado de Langendorff, medindo-se os seguintes parâmetros nas condições basais e após IR: pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE), frequência cardíaca (FC) e taxa máxima de aumento e redução da pressão do ventrículo esquerdo ($\pm dp/dt$). O nível cardíaco de NO_x, o tamanho do infarto e os níveis de CK-MB e LDH no efluente coronário foram medidos após IR. A pressão arterial sistólica (PAS) foi medida no início e no final do estudo.

Resultados: No grupo PS, os valores basais de PDVE (19%), $+dp/dt$ (18%) e $-dp/dt$ (21%) foram significativamente mais baixos ($p < 0,05$), e a FC (32%) significativamente mais alta em comparação aos dos controles. Após isquemia, os corações do grupo PS apresentavam um significativo aumento da FC além de uma menor recuperação da função hemodinâmica em comparação aos dos controles. No grupo PS, os níveis de NO_x no coração e de CK-MB e LDH no efluente coronário, além do tamanho do infarto, foram significativamente maiores após IR. O grupo PS também apresentou maior PAS após 4 dias.

Conclusão: Os corações do grupo PS apresentaram menor função cardíaca basal e menor tolerância à lesão de IR, o que pode estar relacionado ao aumento da produção de NO após IR. (Arq Bras Cardiol. 2016; 106(1):41-48)

Palavras-chave: Privação do Sono; Distúrbios do Início e Manutenção do Sono; Disfunção Ventricular; Isquemia Miocárdica; Traumatismo por Reperfusão Miocárdica; Óxido Nítrico; Ratos.

Abstract

Background: Sleep deprivation (SD) is strongly associated with elevated risk for cardiovascular disease.

Objective: To determine the effect of SD on basal hemodynamic functions and tolerance to myocardial ischemia-reperfusion (IR) injury in male rats.

Method: SD was induced by using the flowerpot method for 4 days. Isolated hearts were perfused with Langendorff setup, and the following parameters were measured at baseline and after IR: left ventricular developed pressure (LVDP); heart rate (HR); and the maximum rate of increase and decrease of left ventricular pressure ($\pm dp/dt$). Heart NO_x level, infarct size and coronary flow CK-MB and LDH were measured after IR. Systolic blood pressure (SBP) was measured at start and end of study.

Results: In the SD group, the baseline levels of LVDP (19%), $+dp/dt$ (18%), and $-dp/dt$ (21%) were significantly ($p < 0.05$) lower, and HR (32%) was significantly higher compared to the controls. After ischemia, hearts from SD group displayed a significant increase in HR together with a low hemodynamic function recovery compared to the controls. In the SD group, NO_x level in heart, coronary flow CK-MB and LDH and infarct size significantly increased after IR; also SD rats had higher SBP after 4 days.

Conclusion: Hearts from SD rats had lower basal cardiac function and less tolerance to IR injury, which may be linked to an increase in NO production following IR. (Arq Bras Cardiol. 2016; 106(1):41-48)

Keywords: Sleep Deprivation; Sleep Initiation and Maintenance Disorders; Ventricular Dysfunction; Myocardial Ischemia; Myocardial Reperfusion Injury; Nitric Oxide; Rats.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Nezami-Asl A •

Aerospace Medicine Research Center, Medical Faculty of Aerospace and Subaquatic Medicine, AJA Medical Sciences University, Tehran – Iran

E-mail: sajad.jeddy62@gmail.com

Artigo recebido em 24/06/15; revisado em 04/08/15; aceito em 06/08/15.

DOI: 10.5935/abc.20150137

Introdução

Isquemia cardíaca é a principal causa de morte humana no mundo^{1,2} e sua taxa cresce devido a comorbidades, como diabetes e obesidade, e ainda envelhecimento.³ A isquemia cardíaca em geral é induzida pela oclusão das artérias coronárias e, embora a reperfusão possa salvar o coração isquêmico, ela produz efeitos colaterais, conhecidos como lesões de isquemia-reperfusão (IR).⁴

O sono é um regulador vital da função cardiovascular, tanto no estado fisiológico quanto nas doenças.⁵ Estudos de coorte e caso-controle indicaram que os distúrbios do sono acham-se relacionados com elevada prevalência de doença cardiovascular, sendo até um fator de risco independente para o desenvolvimento daquela doença.^{6,7} Os distúrbios do sono exercem efeitos nocivos em vários sistemas, com alterações óbvias nas vias endócrina, metabólica e imune, relacionadas a desfechos de saúde desfavoráveis, como diabetes, hipertensão e obesidade, que sabidamente contribuem para o desenvolvimento de doença cardiovascular.^{6,7}

O óxido nítrico (NO) é sintetizado pela enzima NO-sintase no coração e desempenha papel vital nas funções cardíacas. A despeito da evidência enfatizando o papel da isquemia na elevação da produção de NO,^{8,9} nenhum estudo examinou as alterações no conteúdo de NO dos corações de ratos submetidos a privação do sono (PS) e sua contribuição para a lesão de IR. Além disso, até onde sabemos, não há estudo sobre os efeitos da PS na função cardíaca basal e na tolerância cardíaca após a lesão de IR. Assim, este estudo teve por objetivo determinar o efeito da PS nas funções hemodinâmicas basais e na tolerância à lesão de IR miocárdica em ratos machos. Além disso, avaliaram-se as alterações nos metabólitos de NO (NOx) após lesão de IR.

Métodos

Animais

Este estudo utilizou 16 ratos machos Wistar de 2 meses de idade obtidos no biotério do Instituto de Pesquisa em Ciências Endócrinas (RIES), da Universidade de Ciências Médicas Shahid Beheshti. Todos os animais foram alojados em gaiolas, com controle de temperatura e luz ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo claro/escuro de 12 horas), tendo livre acesso a alimento e água todo o tempo.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê Institucional de Cuidado e Uso de Animais do RIES (Protocolo: 12 EC RIES 93/11/27), da Universidade de Ciências Médicas Shahid Beheshti, Teerã, Irã.

Indução de privação do sono REM

Os ratos foram submetidos à privação de sono REM (*rapid-eye-movement*) por 96 horas. A PS REM foi induzida usando-se a técnica da plataforma única.¹⁰ Em resumo, os ratos foram colocados em um tanque com uma plataforma de 7 cm de diâmetro circundada por água até 1 cm abaixo dessa plataforma. A água do tanque foi trocada toda manhã. Antes de serem submetidos à PS, os ratos foram treinados

por 1-2 horas para que ficassem firmes na plataforma sem cair na água. Após o treino, no dia do experimento, eles foram retirados das gaiolas e colocados individualmente no tanque de água.

Para o experimento, os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos ($n = 8$ cada): controle e PS.

Preparação de coração isolado

Todos os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de cetamina e xilazina (50 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente). Uma vez anestesiados, o tórax foi aberto, sendo o coração dos ratos dos dois grupos rapidamente excisado e imerso em um tampão de perfusão gelada. A aorta foi então canulada e toda a preparação montada em um aparelho de perfusão de Langendorff. A aorta foi perfundida com solução de Krebs-Henseleit, sob pressão constante (75 mmHg) e pH de 7,4, contendo (em mM/l): NaCl 118; NaHCO_3 25; KCl 4,7; MgCl_2 1,2; CaCl_2 2,5; KH_2PO_4 1,2; e glicose 11. A solução de Krebs foi borbulhada com uma combinação de 95% O_2 e 5% CO_2 , a 37°C . Todos os corações isolados foram estabilizados por 20 minutos para a obtenção dos dados basais. Após estabilização, os corações foram submetidos a isquemia global por 30 minutos, seguindo-se reperfusão por 45 minutos. Os parâmetros hemodinâmicos do ventrículo esquerdo foram medidos através de um balão de látex inserido naquele ventrículo. Ajustou-se a capacidade do balão para, através de seu enchimento com água, criar pressão diastólica final de 5-10 mmHg em todos os corações. Os parâmetros hemodinâmicos [pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE), frequência cardíaca (FC), pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE), e taxa máxima de aumento e redução da pressão do ventrículo esquerdo ($\pm dp/dt$)] foram registrados em um sistema de aquisição de dados (Power Lab, AD Instrument, Austrália).

Medida de NOx

Após os 45 minutos de reperfusão, amostras do ventrículo esquerdo foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C . Determinou-se o conteúdo de NOx nos homogeneizados de coração com o método Griess.¹¹ Em resumo, após a homogeneização das amostras em solução salina com tampão fosfato (1:5, w/v), os homogeneizados foram centrifugados a 15.000 g por 20 minutos a 4°C . Os sobrenadantes foram removidos e desproteinizados pela adição de sulfato de zinco (15 mg/mL). Amostras de tecidos e 100 μL de sobrenadante foram distribuídos na placa de microtitulação, e 100 μL de cloreto de vanádio (III) (8 mg/mL) foram adicionados a cada poço da placa de microtitulação para redução de nitrato a nitrito. Seguiu-se a adição de 50 μL de sulfanilamida (2%) e 50 μL de dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina (NEED) (0,1%). Após incubação por 30 minutos a 37°C , mediu-se a absorvância a 540 nm, usando-se um leitor de ELISA (BioTek, Powerwave XS2). As concentrações de NOx no homogeneizado de coração foram medidas a partir de uma curva linear padrão estabelecida com 0-100 $\mu\text{mol/L}$ de nitrato de sódio. Os níveis de NOx no coração foram apresentados em $\mu\text{mol/L}$. O coeficiente de variação intra-ensaio foi 4,9%.

Medida do tamanho do infarto

Ao final do período de reperfusão, o tamanho do infarto foi determinado como descrito previamente. As amostras de coração congeladas foram cortadas em finas seções (2-3 mm) e incubadas por 10 minutos em solução de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio a 1% em 20 mM/L de tampão fosfato, pH 7,4 a 37°C. As seções foram imersas em solução de formol a 10% por 24 horas para identificação do miocárdio viável corado em vermelho, facilmente diferenciado do tecido necrótico não corado. As seções foram então fotografadas com uma câmara digital (Samsung, Japão, versão DV101). O tamanho do infarto foi medido com o programa Photoshop CS6, versão 13, e expresso como uma porcentagem da área total.²

Medida da creatina quinase (CK) e desidrogenase láctica (LDH)

Amostras do fluxo coronário foram coletadas por 5 minutos após início da reperfusão para medir a liberação das enzimas miocárdicas CK-MB e LDH.¹² Os níveis de CK-MB e LDH no efluente coronário foram determinados por espectrofotometria com os kits CK-MB e LDH (Pars Azmoon, Irã), sendo os resultados expressos como U/L.

Análise estatística

Todos os valores foram expressos como médias \pm EPM. A análise estatística foi realizada com o programa SPSS (SPSS, Chicago, IL, EUA; versão 20). O teste de Shapiro-Wilk foi usado para avaliar a normalidade dos dados do estudo, sendo os testes paramétrico ou não paramétrico usados para analisar a distribuição normal ou não normal de dados, respectivamente.¹³ Logo, utilizou-se análise de variância (ANOVA) com repetição de medida para comparar os parâmetros hemodinâmicos (PDVE, PDFVE, \pm dp/dt e FC) em momentos diferentes. Usou-se o teste *t* de Student para comparar pressão arterial, tamanho do infarto, níveis de NOx no coração e fluxo coronário de CK-MB e LDH entre os grupos controle e PS. Valores de *p* bilateral $<$ 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados

Em comparação ao grupo controle, os ratos submetidos a 96 horas de PS apresentaram significativa elevação da pressão arterial sistólica (PAS) (Figura 1).

A Tabela 1, a Figura 2 e a Figura 3 mostram os efeitos da PS nos parâmetros hemodinâmicos do coração isolado durante os períodos de estabilização e de IR. Durante o período de estabilização, os corações dos ratos submetidos a PS apresentaram PDVE e \pm dp/dt basais significativamente mais baixas e FC mais altas ($p <$ 0,05) em comparação aos do grupo controle (Tabela 1). Na presença de isquemia, houve rápida redução e manutenção de PDVE, \pm dp/dt e FC nos corações isolados. Nos dois grupos, a PDFVE aumentou gradualmente durante os 30 minutos de isquemia, mas, no grupo PS, esse aumento foi significativo ($p <$ 0,05) quando comparado ao do grupo controle (Figura 2). No período pós-isquêmico, as PDVE e \pm dp/dt foram significativamente mais baixas e a FC mais alta no grupo PS ($p <$ 0,05) do que no grupo controle (Figure 3-A, B, C e D).

A IR induziu um acentuado aumento no nível de NOx no coração no grupo PS em comparação ao grupo controle (Figura 4).

Os níveis de CK-MB e LDH no efluente coronário foram significativamente mais elevados ($p <$ 0,05) no grupo PS em comparação aos do grupo controle ($p <$ 0,05) (Figura 5).

A PS aumentou de maneira significativa o tamanho do infarto no grupo PS em comparação ao grupo controle (Figura 6).

Discussão

Este estudo mostrou pela primeira vez que a PS por 96 horas induz efeitos negativos inotrópicos e cronotrópicos em corações isolados de ratos machos, além de aumentar a lesão induzida por IR no coração de ratos, o que pode estar ligado à elevação da produção de NO após IR.

Neste estudo, a PAS foi maior no grupo PS do que no grupo controle. Vários estudos relataram que a PS experimental eleva a pressão arterial, o que está de acordo com os nossos achados. Neves et al¹⁴ mostraram que ratos com PS REM por 72 horas apresentaram maior pressão arterial do que os controles. Joukar et al,¹⁵ usando um método similar, relataram que a PS resultou em um significativo aumento da pressão arterial em ratos. Além disso, De Mesquita e Hale¹⁶ mostraram que a PS REM em ratos por 114 horas levou a aumento da pressão arterial. Outros autores informaram que a elevação da pressão arterial durante a PS pode dever-se ao aumento da descarga simpática para o coração ou para a periferia, ou ao aumento da sensibilidade barorreflexa, ou a uma combinação dos dois.^{6,17,18}

A FC anterior à isquemia e à reperfusão foi maior no grupo PS do que no grupo controle, o que é consistente com outros relatos. Sgoifo et al,¹⁹ Carvalho et al²⁰ e Almeida et al²¹ relataram que ratos submetidos a PS exibiam elevada FC e eram vulneráveis a arritmias ventriculares. Os mecanismos de ação da PS na FC durante a perfusão e a reperfusão não está completamente esclarecida. Estudos mostraram que a PS aumenta a FC através de vários mecanismos. Uma possível causa para o significativo aumento da FC de ratos submetidos a PS antes e depois da isquemia pode ser o estresse da imobilidade induzida pela técnica da plataforma única. A PS afeta a atividade basal do sistema do estresse através da elevação das concentrações de corticosterona e hormônio adrenocorticotrófico e da subsequente resposta a uma supressão aguda no sistema autônomo cardíaco e no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.^{19,22}

Registramos valores basais mais baixos de PDVE e \pm dp/dt no grupo PS, indicando que a PS possa afetar a função cardíaca normal. Os exatos mecanismos da PS sobre a função cardíaca basal não foram elucidados por completo, mas sugeriu-se que a PS aumente indiretamente a doença cardiovascular ao aumentar a inflamação e a secreção de cortisol, alterando o metabolismo do hormônio de crescimento e os níveis circulantes de grelina e leptina.⁷ Além disso, este estudo mostrou pela primeira vez que, após isquemia, os corações do grupo PS apresentaram uma recuperação significativamente baixa da função hemodinâmica em comparação à dos controles, indicando que esses corações são suscetíveis à lesão de IR, como confirmado pelo aumento nos níveis de LDH e CK-MB no efluente coronário e pelo aumento do tamanho do infarto.

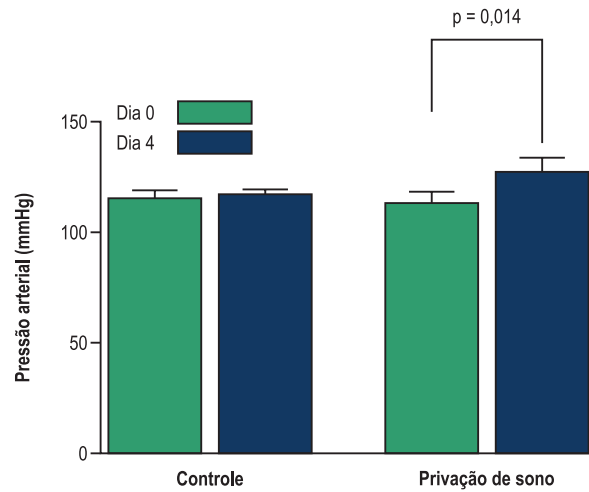


Figura 1 – Comparação das alterações na pressão arterial sistólica nos grupos controle e de privação de sono. Valores expressos como média ± EPM.

Tabela 1 – Função cardíaca no período de estabilização (dados basais)

| | Controle | Privação de sono | Valor de p |
|---------|----------------|------------------|------------|
| PDVE* | 93,14 ± 4,9 | 75,5 ± 3,5 | 0,035 |
| FC* | 262,2 ± 11,1 | 347,5 ± 19,7 | 0,003 |
| +dp.dt* | 2897,1 ± 75,1 | 2367 ± 222,7 | 0,021 |
| -dp.dt* | 2555,3 ± 227,6 | 1788,8 ± 105,9 | 0,046 |

Dados apresentados como média ± EPM. PDVE: pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo; FC: frequência cardíaca; ± dp/dt: taxas máximas de alterações positivas e negativas na pressão do ventrículo esquerdo; *p < 0,05.

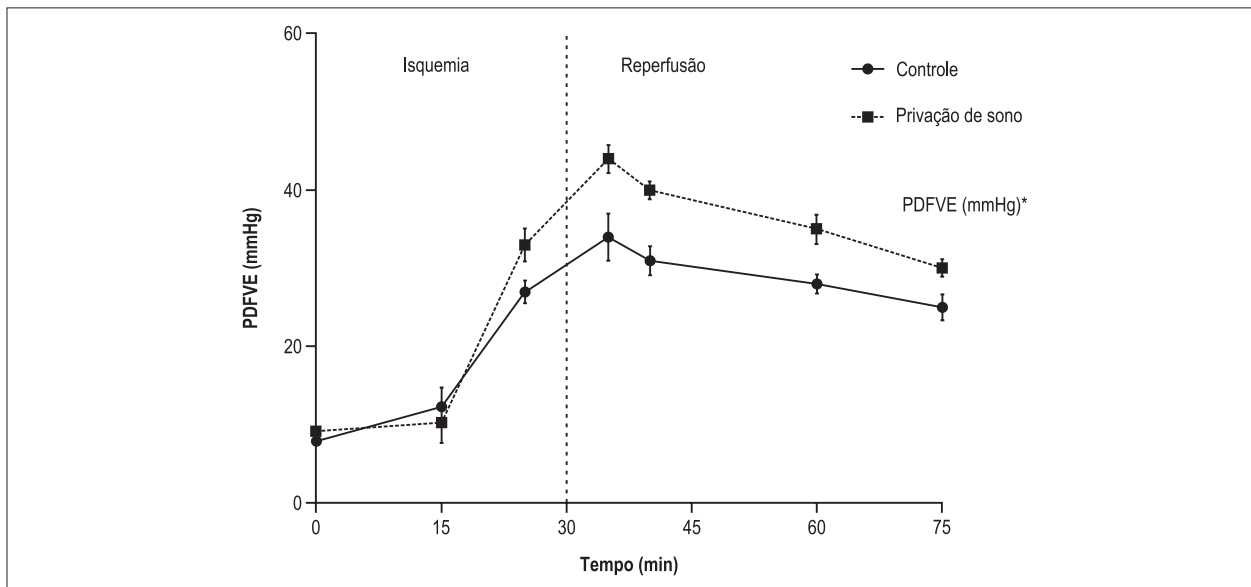


Figura 2 – Alteração da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) (contração isquêmica) durante o experimento. Valores expressos como média ± EPM (n = 8 ratos).

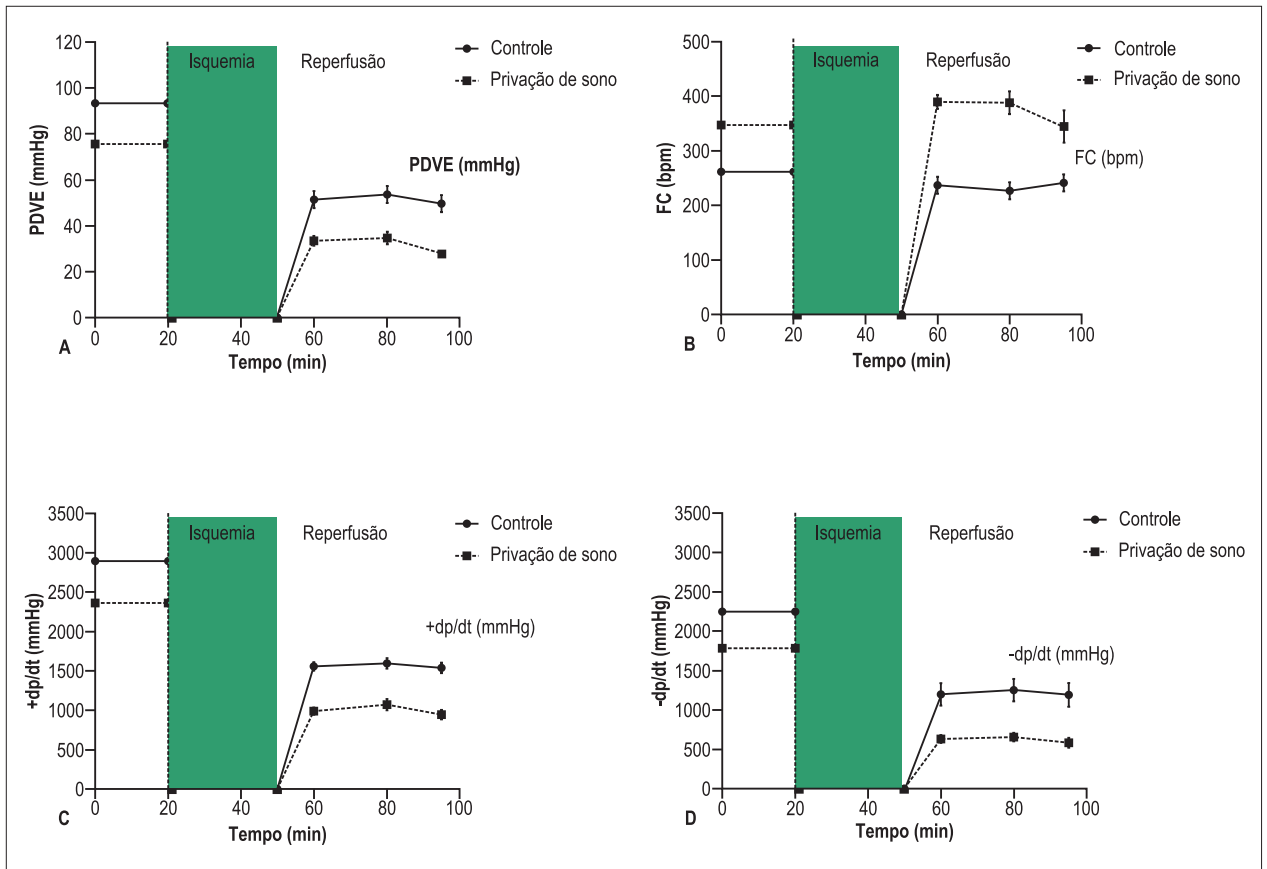


Figura 3 – Recuperação da função cardíaca após lesão de isquemia-reperfusão. A. Pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE); B. Frequência cardíaca (FC); C. Taxas máximas de alterações positivas na pressão do ventrículo esquerdo (+dp/dt); D. Taxas máximas de alterações negativas na pressão do ventrículo esquerdo (- dp/dt). Valores expressos como média \pm EPM (n = 8 ratos).

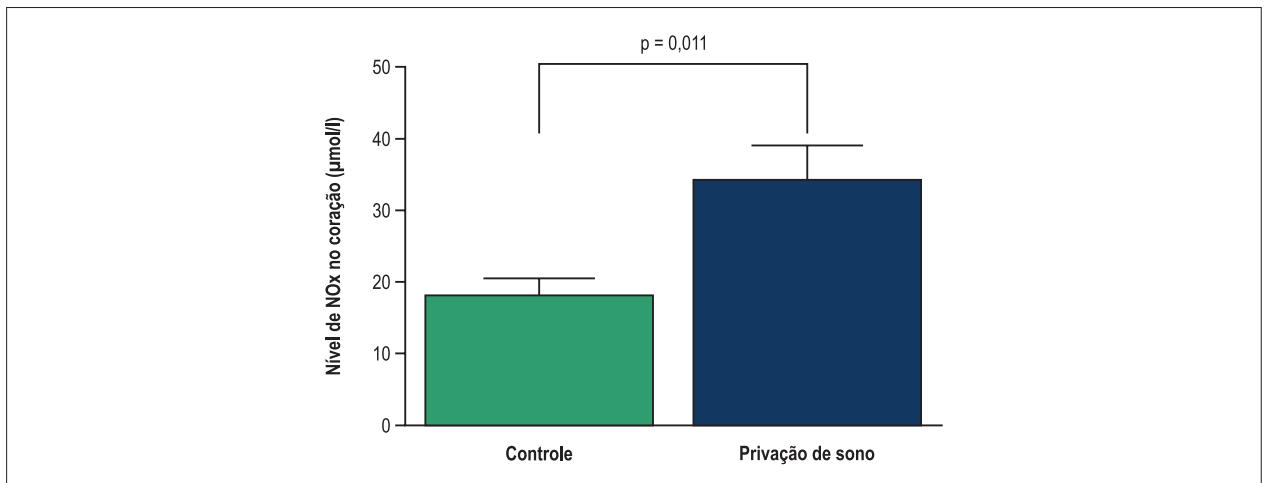


Figura 4 – Alterações nos níveis de NOx no coração após isquemia nos grupos controle e de privação de sono. Valores expressos como média \pm EPM (n = 8 ratos).

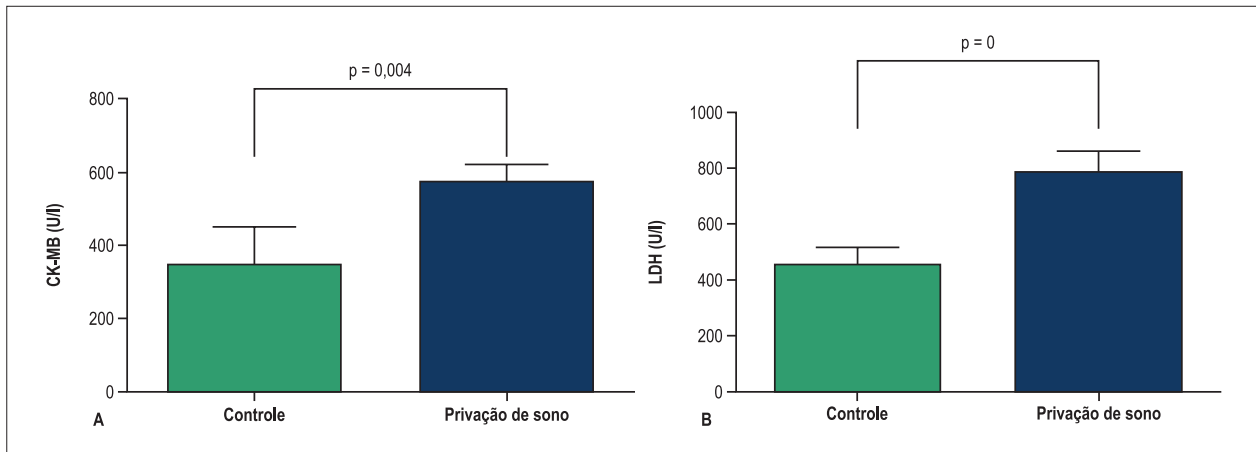


Figura 5 – Alterações no fluxo coronário de CK-MB (A) e LDH (B) no início da reperfusão nos grupos controle e de privação de sono. Valores expressos como média \pm EPM (n = 8 ratos).

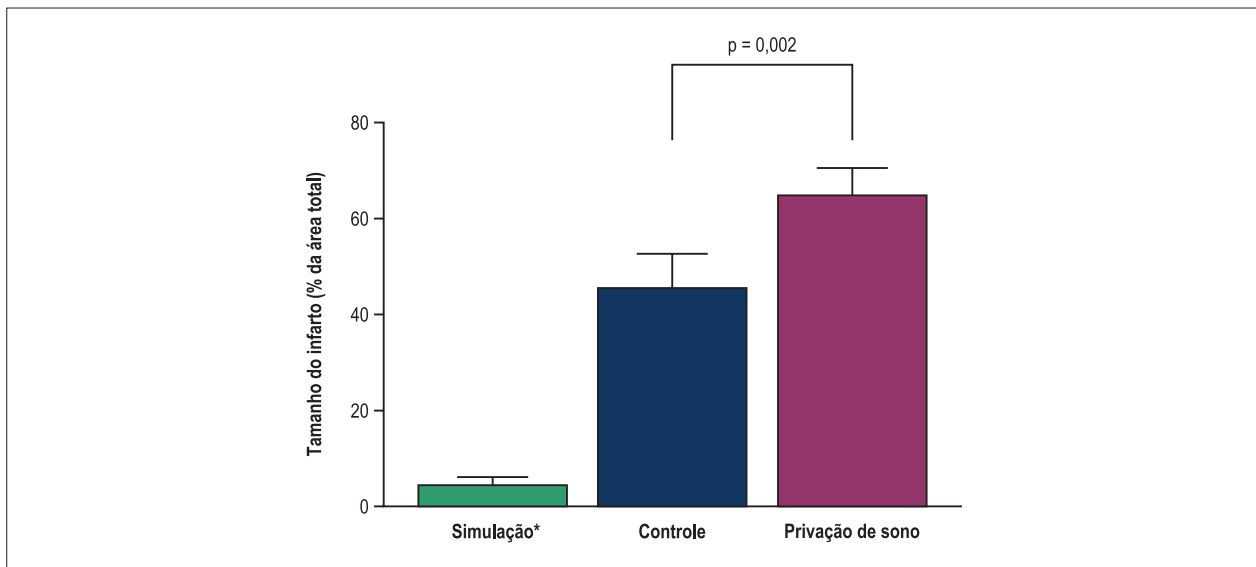


Figura 6 – Alterações no tamanho do infarto nos corações de ratos nos grupos controle e de privação de sono. Valores expressos como média \pm EPM (n = 8 ratos).

Neste estudo, à semelhança de outros estudos sobre condições patológicas, como hipertireoidismo,⁹ diabetes²³ e hipotireoidismo materno,² a isquemia aumentou os níveis de CK-MB e LDH e o tamanho do infarto no grupo PS, que apresentou necrose de células cardíacas. Tais células contraem durante a isquemia longa ou grave e o início da reperfusão, causando rigidez mecânica e necrose tissular. As células contraídas exercem pressão nas vizinhas, causando sua decomposição e desenvolvimento de contração, disseminando a necrose.^{12,24}

Neste estudo, a capacidade do balão no ventrículo esquerdo foi mantida constante durante o período de IR, de modo que o aumento na PDFVE resultou de rigidez na parede ventricular esquerda ou de contração ventricular. Em consequência, pode-se dizer que a PS aumente a contração e, portanto, aumente significativamente a necrose

subsequente no período de IR nos corações de ratos submetidos à PS. Há relato de que a crescente concentração de Ca^{2+} nas células cardíacas e a depleção de ATP sejam importantes fatores da contração isquêmica.²⁵

A função do NO no sistema cardiovascular após isquemia ainda não foi completamente esclarecida. Alguns estudos aventaram um papel negativo para o NO na lesão miocárdica de IR, enquanto outros relataram um papel protetor. Estudos recentes mostraram que o nível de NO nas células miocárdicas é baixo nas condições basais, aumentando durante a lesão de IR. Enquanto um pequeno aumento na produção de NO pode ser cardioprotetor, um grande aumento parece ser deletério. Em altos níveis, o NO reage com superóxido e produz peroxinitrito, que é um agente altamente tóxico e possível indutor de apoptose nas

células cardíacas.^{8,9} Nossos resultados mostram que a PS aumenta as lesões induzidas por IR nos corações de ratos, e essas lesões podem estar ligadas aos elevados níveis de NO após isquemia. Assim, pode-se levantar a hipótese de que a PS leve à lesão de reperfusão através do aumento da produção de NO.

Quanto às limitações deste estudo, utilizou-se isquemia global, comumente usada no modelo de perfusão de coração isolado de Langendorff. Entretanto, há relato de que o uso do modelo de isquemia regional seja clinicamente mais relevante.²⁶ Além disso, nossos resultados acham-se limitados a ratos machos, enquanto a PS afeta as funções cardíacas nos dois sexos.²⁷

Conclusão

Em conclusão, os corações de ratos submetidos a PS apresentaram, nas condições basais, menor função cardíaca e menor tolerância à lesão de IR, o que foi confirmado pelo aumento nos níveis de LDH e CK-MB no efluente coronário. Além disso, o aumento no tamanho do infarto pode ser atribuído ao aumento na produção de NO após IR.

Referências

- Hausenloy DJ. Signalling pathways in ischaemic postconditioning. *Thromb Haemost.* 2009;101(4):626-34.
- Ghanbari M, Jeddi S, Bagheripour F, Ghasemi A. The effect of maternal hypothyroidism on cardiac function and tolerance to ischemia-reperfusion injury in offspring male and female rats. *J Endocrinol Invest.* 2015;38(8):915-22.
- Yin X, Zheng Y, Zhai X, Zhao X, Cai L. Diabetic inhibition of preconditioning- and postconditioning-mediated myocardial protection against ischemia/reperfusion injury. *Exp Diabetes Res.* 2012;2012:198048.
- Silvestri P, Di Russo C, Rigattieri S, Fedele S, Todaro D, Ferraiuolo G, et al. MicroRNAs and ischemic heart disease: towards a better comprehension of pathogenesis, new diagnostic tools and new therapeutic targets. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov.* 2009;4(2):109-18.
- Halperin D. Environmental noise and sleep disturbances: a threat to health? *Sleep Science.* 2014;7(4):209-12.
- Mullington JM, Haack M, Toth M, Serrador JM, Meier-Ewert HK. Cardiovascular, inflammatory, and metabolic consequences of sleep deprivation. *Prog Cardiovasc Dis.* 2009;51(4):294-302.
- Cappuccio FP, Cooper D, D'Elia L, Strazzullo P, Miller MA. Sleep duration predicts cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur Heart J.* 2011;32(12):1484-92.
- Jeddi S, Zaman J, Ghasemi A. Effects of ischemic postconditioning on the hemodynamic parameters and heart nitric oxide levels of hypothyroid rats. *Arq Bras Cardiol.* 2015;104(2):136-43.
- Zaman J, Jeddi S, Ghasemi A. The effects of ischemic postconditioning on myocardial function and nitric oxide metabolites following ischemia-reperfusion in hyperthyroid rats. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2014;18(6):481-7.
- Arthaud S, Varin C, Gay N, Libourel P, Chauveau F, Fort P, et al. Paradoxical (REM) sleep deprivation in mice using the small-platforms-over-water method: polysomnographic analyses and melanin-concentrating hormone and hypocretin/orexin neuronal activation before, during and after deprivation. *J Sleep Res.* 2015;24(3):309-19.
- Ghasemi A, Zahediasl S. Preanalytical and analytical considerations for measuring nitric oxide metabolites in serum or plasma using the Griess method. *Clin Lab.* 2012;58(7-8):615-24.
- Amani M, Jeddi S, Ahmadiasl N, Usefzade N, Zaman J. Effect of HEMADO on level of CK-MB and LDH enzymes after ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart. *Bioimpacts.* 2013;3(2):101-4.
- Ghasemi A, Zahediasl S. Normality tests for statistical analysis: a guide for non-statisticians. *Int J Endocrinol Metab.* 2012;10(2):486-9.
- Neves FA, Marson O, Baumgratz RP, Bossolan D, Ginos M, Ribeiro AB, et al. Rapid eye movement sleep deprivation and hypertension: genetic influence. *Hypertension.* 1992;19(2 Suppl):II202-6.
- Joukar S, Ghorbani-Shahrbabaki S, Hajali V, Sheibani V, Naghsh N. Susceptibility to life-threatening ventricular arrhythmias in an animal model of paradoxical sleep deprivation. *Sleep Med.* 2013;14(12):1277-82.
- DeMesquita S, Hale GA. Cardiopulmonary regulation after rapid-eye-movement sleep deprivation. *J Appl Physiol* (1985). 1992;72:970-6.
- Kato M, Phillips BG, Sigurdsson G, Narkiewicz K, Pesek CA, Somers VK. Effects of sleep deprivation on neural circulatory control. *Hypertension.* 2000;35(5):1173-5.
- Ogawa Y, Kanbayashi T, Saito Y, Takahashi Y, Kitajima T, Takahashi K, et al. Total sleep deprivation elevates blood pressure through arterial baroreflex resetting: a study with microneurographic technique. *Sleep.* 2003;26(8):986-9.
- Sgoifo A, Buwalda B, Roos M, Costoli T, Merati G, Meerlo P. Effects of sleep deprivation on cardiac autonomic and pituitary-adrenocortical stress reactivity in rats. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(2):197-208.
- Carvalho RS, Perry JC, Campos RR, Andersen ML, Tufik S, Bergamaschi CT. Paradoxical sleep deprivation increases mortality in myocardial infarcted rats. *Sleep and Biol Rhythms.* 2014;12(3):216-9.
- Almeida FR, Perry JC, Futuro-Neto HA, Almeida VR, Sebastião RM, Andersen ML, et al. Cardiovascular function alterations induced by acute paradoxical sleep deprivation in rats. *Clin Exp Hypertens.* 2014;36(8):567-71.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Sra. N. Shiva pela editoração em inglês deste manuscrito.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa, Análise e interpretação dos dados E Redação do manuscrito: Jeddi S, Asl AN, Asgari A, Ghasemi A; Obtenção de dados: Jeddi S; Análise estatística: Jeddi S, Asgari A; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Asl AN, Asgari A, Ghasemi A.

Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Artigo Original

22. Andersen ML, Martins PJ, D'Almeida V, Bignotto M, Tufik S. Endocrinological and catecholaminergic alterations during sleep deprivation and recovery in male rats. *J Sleep Res.* 2005;14(1):83-90.
23. Badalzadeh R, Mohammadi M, Najafi M, Ahmadiasl N, Farajnia S, Ebrahimi H. The additive effects of ischemic postconditioning and cyclosporine-A on nitric oxide activity and functions of diabetic myocardium injured by ischemia/reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2012;17(2):181-9.
24. Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol.* 2005;100(2):179-90.
25. Segal J, Masalha S, Schwalb H, Merin G, Borman JB, Uretzky G. Acute effect of thyroid hormone in the rat heart: role of calcium. *J Endocrinol.* 1996;149(1):73-80.
26. Zaman J, Jeddi S, Daneshpour MS, Zarkesh M, Daneshian Z, Ghasemi A. Ischemic postconditioning provides cardioprotective and antiapoptotic effects against ischemia-reperfusion injury through iNOS inhibition in hyperthyroid rats. *Gene.* 2015;570(2):185-90.
27. Ferrara M, Bottasso A, Tempesta D, Carrieri M, De Gennaro L, Ponti G. Gender differences in sleep deprivation effects on risk and inequality aversion: evidence from an economic experiment. *PLoS One.* 2015;10(3):e0120029.