

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UNB  
CAMPUS GAMA – FCTE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

**EFEITOS ELETROCARDIOGRÁFICOS DA NEUROVESPINA, UM PEPTÍDEO BIOINSPIRADO COM AÇÃO  
ANTIEPILÉPTICA, EM CAMUNDONGOS**

**LAYANE DAMASCENO FERREIRA**

**ORIENTADOR: PROF. DR. JAIR TRAPÉ GOULART**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UNB  
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM ENGENHARIA / FCTE



**EFEITOS ELETROCARDIOGRÁFICOS DA NEUROVESPINA, UM PEPTÍDEO  
BIOINSPIRADO COM AÇÃO ANTIEPILEPTICA, EM CAMUNDONGOS**

**LAYANE DAMASCENO FERREIRA**

ORIENTADOR: PROF. DR. JAIR TRAPÉ GOULART

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM  
ENGENHARIA BIOMÉDICA

PUBLICAÇÃO: 203A/2025  
BRASÍLIA/DF, AGOSTO DE 2025

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB  
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM ENGENHARIA / FCTE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

**EFEITOS ELETROCARDIOGRÁFICOS DA NEUROVESPINA, UM PEPTÍDEO  
BIOINSPIRADO COM AÇÃO ANTIEPILÉPTICA, EM CAMUNDONGOS**

LAYANE DAMASCENO FERREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

APROVADA POR:

---

DR. JAIR TRAPÉ GOULART  
(ORIENTADOR)

---

DR<sup>a</sup>. FLAVIA MARIA GUERRA DE SOUSA ARANHA OLIVEIRA  
(EXAMINADORA INTERNA)

---

DR<sup>a</sup>. VERA REGINA FERNANDES DA SILVA MARAES  
(EXAMINADORA SUPLENTE)

---

DR<sup>a</sup>. LILIAN DOS ANJOS CARNEIRO  
(EXAMINADORA EXTERNA)

**BRASÍLIA/DF, AGOSTO DE 2025**

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

**FERREIRA, LAYANE DAMASCENO**

Efeitos eletrocardiográficos da Neurovespina, um peptídeo bioinspirado com ação antiepiléptica, em camundongos [Distrito Federal], 2025.

45p., 210 x 297 mm (FCTE/UnB Gama, Mestrado em Engenharia Biomédica, 2025).

Dissertação de Mestrado em Engenharia Biomédica, Faculdade de Ciências e Tecnologias em Engenharia / FCTE, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

1. Peptídeo sintético

2. Epilepsia

3. Eletrocardiograma (ECG)

4. Cardioproteção

I. FCTE UnB

II. Efeitos eletrocardiográficos da Neurovespina, um peptídeo bioinspirado com ação antiepiléptica, em camundongos (mestrado)

## **REFERÊNCIA**

Ferreira, Layane Damasceno (2025). Efeitos eletrocardiográficos da Neurovespina, um peptídeo bioinspirado com ação antiepiléptica, em camundongos. Dissertação de mestrado em Engenharia Biomédica, Publicação 203A/2025, Programa de Pós-Graduação, Faculdade de Ciências e Tecnologias em Engenharia / FCTE, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 45p.

## **CESSÃO DE DIREITOS**

Autor: Layane Damasceno Ferreira

Título: Efeitos eletrocardiográficos da Neurovespina, um peptídeo bioinspirado com ação antiepiléptica, em camundongos

Grau: Mestre

Ano: 2025

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender essas cópias somente para propósitos acadêmicos e

científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

---

[Laydamascenoferreira@gmail.com](mailto:Laydamascenoferreira@gmail.com)

Brasília, DF – Brasil

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que pela intercessão de Nossa Senhora, me sustentou nos momentos de incerteza, me concedeu forças nos dias difíceis e iluminou meu caminho durante toda esta jornada.

Ao meu filho, Gael, por ser luz em minha vida, por me dar um sentido e direção para tudo que faço e para onde vou, por ter me tornado forte, por ser o meu maior motivo e amor. Aos meus familiares, em especial meus pais, Nilda e Lailton, e minha irmã Lorrane, pelo amor incondicional, pelo apoio emocional e por acreditarem em mim mesmo quando eu duvidei. Sem vocês, eu não teria chegado até aqui.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jair Trapé Goulart, pela orientação precisa, pela paciência, pela compreensão, pelo carinho e respeito, por sua genialidade e sensatez, por acreditar no meu potencial desde o início, por não “soltar a minha mão” em nenhum momento. Sua dedicação foi, e ainda é, essencial para minha construção acadêmica e pessoal.

Às professoras Márcia Mortari e Andreza de Bem, minha sincera gratidão pelo apoio acadêmico, incentivo e troca de saberes. De maneira especial, agradeço à Professora Dra. Márcia Mortari, por sua trajetória inspiradora na ciência, por sua generosidade intelectual e, sobretudo, pela descoberta da Neurovespina - uma contribuição notável para a neurociência, que ampliou horizontes e influenciou diretamente os rumos desta pesquisa.

Aos laboratórios de Neurofarmacologia e Laboratório de Bioenergética e Metabolismo (Lab de Bem), e todos os Laboratórios que de um jeito ou de outro contribuíram para meu crescimento intelectual, pelos recursos disponibilizados, pelo ambiente de pesquisa acolhedor e pela oportunidade de crescimento acadêmico e profissional. Aos colegas de laboratório, departamento e de vida, que se tornaram amigos e parceiros de jornada, agradeço pelas ideias, ajuda nos experimentos, conversas, cafés e apoio nos momentos de tensão. Em especial, a Vinícius Loyola, Ana Dutra, Daniel Leal e Maria Luíza, pela contribuição nos experimentos, padronizações e coletas — os resultados são nossos. Às instituições de fomento (CAPES e FAPDF), pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa, essenciais para a realização deste trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, deixo aqui o meu mais profundo agradecimento.

## RESUMO

A epilepsia é um distúrbio neurológico crônico que afeta milhões de pessoas globalmente, frequentemente associado a complicações cardiovasculares, como arritmias, devido à hiperexcitabilidade neuronal e disfunção autonômica. A Neurovespina, um peptídeo sintético derivado da peçonha da vespa *Polybia occidentalis*, demonstrou propriedades anticonvulsivantes e potencial modulador de canais de cálcio tipo L, sugerindo possíveis benefícios cardiovasculares. Este estudo investigou os efeitos da Neurovespina em parâmetros eletrocardiográficos de camundongos saudáveis, comparando-os com controles tratados com salina e Diazepam (4mg/kg), sob condições basais e após indução arritmica com dobutamina e cafeína. Foram utilizados camundongos Swiss machos (n=9), distribuídos aleatoriamente em grupos tratados com salina, Diazepam (4mg/kg), Neurovespina (4 mg/kg e 40 mg/kg). Os animais foram submetidos a registros eletrocardiográficos (ECG) antes e após a administração dos tratamentos, seguidos por indução arritmica. Os parâmetros analisados incluíram frequência cardíaca, intervalos RR, QT, QTc, PR, complexo QRS e segmento TP, além da taxa de sobrevivência. Os resultados demonstram que a Neurovespina (4 mg/kg) apresentou menor taxa de mortalidade, enquanto o Diazepam (4mg/kg) registrou a maior mortalidade. Os grupos tratados com Neurovespina mantiveram estabilidade nos parâmetros eletrocardiográficos após a indução arritmica, sem alterações significativas na frequência cardíaca, intervalos RR ou QTc. Em contraste, o grupo Diazepam (4mg/kg) exibiu aumento da frequência cardíaca e redução do intervalo RR, indicando hiperatividade simpática. Além disso, a Neurovespina não afetou a condução atrioventricular (intervalo PR) ou a despolarização ventricular (complexo QRS), sugerindo um perfil seguro e potencialmente cardioprotetor. Por fim, em conjunto, os achados deste estudo trazem evidências de que a Neurovespina, particularmente na dose de 4 mg/kg, possui efeitos estabilizadores na eletrofisiologia cardíaca, atenuando respostas arritmicas induzidas por estresse adrenérgico. Tais resultados destacam o potencial deste peptídeo como agente duplo, combinando propriedades anticonvulsivantes e cardioprotetoras, embora estudos futuros em modelos epiléticos e com análises moleculares sejam necessários para elucidar seus mecanismos de ação e validar sua aplicabilidade clínica.

Palavras-chave: Peptídeo sintético, epilepsia, eletrocardiograma, ECG, arritmias, cardioproteção.

## **.Modulatory Effects of Neurovespina, a Bioinspired Antiepileptic Peptide, on Murine Cardiac Electrophysiology**

### **ABSTRACT**

Epilepsy is a chronic neurological disorder affecting millions worldwide, often associated with cardiovascular complications such as arrhythmias due to neuronal hyperexcitability and autonomic dysfunction. Neurovespin, a synthetic peptide derived from the venom of the wasp *Polybia occidentalis*, has demonstrated anticonvulsant properties and potential modulation of L-type calcium channels, suggesting possible cardiovascular benefits. This study investigated the effects of Neurovespin on electrocardiographic parameters in healthy mice, comparing them with saline- and Diazepam (4mg/kg)-treated controls under baseline conditions and after arrhythmia induction with dobutamine and caffeine. Male Swiss mice (n=9) were randomly allocated into groups treated with saline, Diazepam (4mg/kg), or Neurovespin (4 mg/kg and 40 mg/kg). Electrocardiographic (ECG) recordings were performed before and after treatment administration, followed by arrhythmia induction. Analyzed parameters included heart rate, RR intervals, QT, QTc, PR intervals, QRS complex duration, TP segment, and survival rates. The results demonstrate that Neurovespin (4 mg/kg) had the lowest mortality rate, whereas Diazepam (4mg/kg) recorded the highest mortality rate. Neurovespin-treated groups maintained stable ECG parameters post-arrhythmia induction, with no significant changes in heart rate, RR intervals, or QTc. In contrast, the Diazepam (4mg/kg) group displayed increased heart rate and reduced RR intervals, indicating sympathetic hyperactivity. Additionally, Neurovespin did not affect atrioventricular conduction (PR interval) or ventricular depolarization (QRS complex), suggesting a safe and potentially cardioprotective profile. In summary, these findings provide evidence that Neurovespin, particularly at 4 mg/kg, stabilizes cardiac electrophysiology and attenuates adrenergic stress-induced arrhythmic responses. The results highlight its dual potential as both an anticonvulsant and cardioprotective agent. However, further studies in epileptic models and molecular analyses are needed to elucidate its mechanisms of action and validate clinical applicability.

**Keywords:** Synthetic peptide, epilepsy, electrocardiogram, ECG, arrhythmias, cardioprotection.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
1.1	Objetivos.....	167
1.1.1	Objetivo Geral .....	17
1.1.2	Objetivos Específicos.....	17
<b>2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
2.1	Modelo animal.....	18
2.2	Modelo experimental.....	18
2.2.1	Implantação de eletrodos e aquisição do eletrocardiograma (ecg) .....	18
2.2.2	Protocolo Experimental e Administração de Fármacos .....	19
2.2.3	Análise do eletrocardiograma (ecg) .....	20
2.2.4	Análise de sobrevivência e Eventos arritmogênicos .....	22
2.2.5	Análise estatística.....	22
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>23</b>
3.1	Resultados.....	23
3.2	Discussões .....	32
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>39</b>
	<b>LISTA DE REFERÊNCIAS.....</b>	<b>40</b>

## **LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1 – Desenho experimental e cronograma de registro do ECG
- Figura 2 – Parâmetros do ECG em camundongos saudáveis
- Figura 3 – Taxa de sobrevivência dos grupos após os tratamentos
- Figura 4 – Parâmetros eletrocardiográficos basais dos grupos
- Figura 5 – Frequência cardíaca após indução arritmica nos diferentes grupos
- Figura 6 – Intervalo RR nos grupos tratados
- Figura 7 – Intervalo QTc nos grupos tratados
- Figura 8 – Intervalo PR nos grupos tratados
- Figura 9 – Duração do complexo QRS nos grupos tratados
- Figura 10 – Segmento TP nos grupos tratados

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Fórmula de correção do intervalo QT (QTc) segundo Mitchell

$$QT_c = \frac{QT}{\sqrt{RR/100}} \times 1000$$

# 1 INTRODUÇÃO

A epilepsia é um distúrbio neurológico crônico que se caracteriza pela predisposição do cérebro em gerar descargas elétricas anormais e excessivas, o que pode resultar em convulsões espontâneas e recorrentes. Trata-se de uma condição de alta prevalência, afetando cerca de 50 milhões de pessoas em todo o mundo, com impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes e suas famílias (Beghi, 2020; WHO, 2024). Além de ser uma das doenças neurológicas mais comuns em diferentes faixas etárias, a epilepsia representa um problema de saúde pública global, dada sua complexidade clínica, a carga econômica associada e o estigma ainda presente em diversas sociedades (Mortari et al., 2023; Quintanilha et al., 2024).

A etiologia da epilepsia é multifatorial, podendo envolver causas genéticas, adquiridas, estruturais, infecciosas, metabólicas ou imunes. As crises epiléticas decorrem da hiperexcitabilidade neuronal e da hipsincronização da atividade elétrica cerebral, que podem se manifestar de formas diversas, desde breves lapsos de consciência até episódios convulsivos tônico-clônicos generalizados. Segundo Beghi (2020), a condição acomete ambos os sexos, embora com uma leve predominância em indivíduos do sexo masculino, e tende a apresentar maior incidência em extremos etários, especialmente em crianças e idosos. Em idosos, a epilepsia frequentemente coexiste com outras doenças neurológicas ou sistêmicas, o que pode agravar o prognóstico e aumentar a vulnerabilidade cardiovascular (Beghi, 2020).

As crises epiléticas não apenas representam episódios agudos de disfunção cerebral, mas também estão associadas a uma série de complicações sistêmicas, incluindo morbidades cardiovasculares (Costagliola et al., 2021). A literatura tem demonstrado uma crescente correlação entre a epilepsia e condições cardíacas adversas, reforçando a necessidade de uma abordagem multidisciplinar no cuidado desses pacientes (Marinowic; Kunrath, 2024). Ainda que doenças cardiovasculares sejam, isoladamente, a principal causa de morte no mundo (WHO, 2024), pacientes com epilepsia apresentam risco aumentado de arritmias cardíacas e outros distúrbios eletrofisiológicos, sugerindo que as alterações cerebrais recorrentes também podem impactar diretamente o funcionamento do coração (Costagliola et al., 2021).

Estudos clínicos e observacionais vêm corroborando essa hipótese. Por exemplo, Wang e colaboradores (2023) relataram que indivíduos com epilepsia possuem maior susceptibilidade ao desenvolvimento de arritmias, como taquicardias, bradicardias e bloqueios de condução, o

que pode justificar a necessidade de monitoramento eletrocardiográfico constante desses pacientes. Essa maior propensão pode estar relacionada a múltiplos fatores, incluindo alterações autonômicas centrais, efeitos adversos de medicamentos antiepiléticos e, possivelmente, efeitos diretos das descargas elétricas anormais sobre centros cerebrais que regulam a função cardíaca.

Adicionalmente, observações histológicas e moleculares em modelos experimentais revelaram alterações significativas no tecido cardíaco de animais submetidos a indução de crises convulsivas (Liu et al., 2025). Liu e colaboradores (2025) relataram que, em modelos murinos epilepsia, foi identificada fibrose miocárdica, alterações na expressão de proteínas estruturais cardíacas e disfunções eletrofisiológicas. Tais mudanças podem estar associadas a processos inflamatórios crônicos, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial decorrentes da atividade convulsiva persistente. Essas descobertas sugerem que a epilepsia, em sua forma crônica, pode desencadear uma cascata de eventos que culminam em remodelação cardíaca e aumento da vulnerabilidade a eventos arrítmicos.

Nesse contexto, faz-se necessário o interesse em estudar compostos que, além de atuarem como anticonvulsivantes, também apresentem perfil seguro e potencialmente protetor sobre o sistema cardiovascular. A Neurovespina surge como um desses candidatos promissores, pois, até o momento, a Neurovespina foi testada apenas em modelos de epilepsia e neuroproteção (Campos, 2020; Dourado et al., 2021), sem avaliação de seus efeitos cardiovasculares, não havendo registros de estudos que integrem epilepsia e proteção contra arritmias cardíacas, o que torna esta investigação inédita. A Neurovespina trata-se de um peptídeo sintético bioinspirado na peçonha de vespas sociais da espécie *Polybia occidentalis*. Estudos prévios demonstraram que extratos brutos dessa peçonha, quando desnaturados, conferem proteção contra convulsões induzidas por quimioconvulsivantes, abrindo caminho para o isolamento de moléculas bioativas com potencial terapêutico (Campos, 2020).

Entre as moléculas encontradas no extrato bruto da peçonha da vespa *Polybia occidentalis*, destaca-se a Occidentalina-1202, um peptídeo constituído por nove aminoácidos (Glu-Gln-Tyr-Met-Val-Ala-Phe-Trp-Met-NH<sub>2</sub>), que demonstrou efeito protetor contra crises epiléticas em modelos animais. Posteriormente, esse peptídeo serviu de base para o desenvolvimento da Neurovespina, que apresenta modificações estruturais visando melhorar sua estabilidade, biodisponibilidade e eficácia. A Neurovespina possui a sequência PyrGlu-Gln-Met-Trp-Ala-Val-Phe-Trp-Met-NH<sub>2</sub>, com a substituição do ácido glutâmico inicial por

ácido piroglutâmico (PyrGlu), o que visa aumentar sua resistência à degradação enzimática e sua afinidade por receptores do sistema nervoso central (Mortari; Carneiro, 2014; Campos, 2020).

Além disso, alterações adicionais foram realizadas, como a troca da tirosina pela metionina na terceira posição e a inserção de um triptofano na quarta posição (Tyr→Met e Met→Trp), aumentando a hidrofobicidade do peptídeo e facilitando sua penetração pela barreira hematoencefálica (Lima, 2025). Essas modificações tornaram a Neurovespina não apenas mais eficaz em termos farmacodinâmicos, mas também mais interessante do ponto de vista farmacocinético. A Neurovespina foi patenteada em 2014 (Registro: BR1020140047280) e, recentemente, a empresa Biointech Biotecnologia Ltda., sediada no Distrito Federal, adquiriu a licença para a comercialização e uso deste peptídeo em pesquisas científicas.

Em testes pré-clínicos, a Neurovespina demonstrou propriedades anticonvulsivantes robustas, com capacidade de prevenir ou atenuar crises convulsivas induzidas por diversos agentes químicos (Campos, 2020). Além disso, seu perfil neuroprotetor foi evidenciado em modelos de isquemia retiniana e de neurodegeneração induzida, como na doença de Parkinson (Dourado et al., 2021; Campos, 2020). A capacidade da Neurovespina em reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio em células neurais é outro ponto a favor de seu potencial terapêutico. A relevância clínica deste efeito antioxidante torna-se evidente quando consideramos o papel central das espécies reativas de oxigênio – incluindo o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila ( $OH\cdot$ ) – na fisiopatologia de diversas condições crônicas. No contexto cardiovascular, o excesso de espécies reativas de oxigênio compromete a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), um potente vasodilatador endógeno, desencadeando uma cascata de eventos deletérios. Esse desequilíbrio redox favorece a ativação de processos inflamatórios, promove alterações estruturais como fibrose e hipertrofia miocárdica, e prejudica a função contrátil cardíaca (Barbosa et al., 2010).

Além disso, as espécies reativas de oxigênio desempenham um papel crucial na oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), um passo fundamental na formação de placas ateroscleróticas e no desenvolvimento de doença arterial coronariana (Fei et al., 2022; Valaitienė & Cibulskienė, 2024). Paralelamente, no sistema nervoso, o estresse oxidativo tem sido consistentemente associado a doenças neurodegenerativas, sugerindo que o efeito antioxidante da Neurovespina pode representar um mecanismo neuroprotetor adicional (Silva et al., 2024).

Um outro aspecto particularmente intrigante da Neurovespina refere-se à sua ação sobre canais de cálcio do tipo L (Campos, 2020). Ensaios realizados *in vitro* em linhagens celulares heterólogas HEK 293T que expressam canais de  $\text{Ca}^{2+}$  com a subunidade alfa de  $\text{Ca}_v1.2$ , os mesmos predominantemente expressos em cardiomiócitos, demonstraram que o peptídeo, em concentrações micromolares, é capaz de reduzir a amplitude das correntes de cálcio em até 30%, dados estes demonstrados na tese de doutorado de Campos (2020) por meio de modelo gráfico da corrente de cálcio do tipo L. Esse achado sugere um mecanismo de ação por modulação iônica, o que se aproxima da atividade farmacológica de fármacos antiarrítmicos que são denominados como fármacos do tipo classe IV, que possuem um mecanismo de ação bloqueador de canais de cálcio (Ritter et al., 2023). Tal propriedade amplia o interesse no estudo da Neurovespina, não apenas como agente anticonvulsivante, mas também como potencial regulador da atividade elétrica cardíaca.

No entanto, ainda é necessário esclarecer se essa ação inibitória sobre canais de cálcio tipo L observada em linhagens celulares por Campos (2020) também se traduz em efeitos semelhantes em cardiomiócitos nativos ou em tecidos cardíacos intactos. Por isso, estudos experimentais *in vivo* se tornam fundamentais para validar esses achados preliminares e avaliar o perfil eletrofisiológico do peptídeo em um sistema fisiológico completo.

Neste contexto, o presente estudo utiliza o modelo de camundongo (*Mus musculus*), o qual é amplamente adotado em pesquisas biomédicas devido à sua homologia genética com humanos, tamanho reduzido, fácil manejo e vasta disponibilidade de ferramentas genéticas e moleculares. No que tange à pesquisa cardiovascular, camundongos apresentam anatomia cardíaca semelhante à humana, contendo todos os tipos celulares relevantes, como cardiomiócitos contráteis, células nodais, endoteliais, fibroblastos e células do sistema de condução elétrica (Dobrev; Wehrens, 2018). Além disso, o coração dos camundongos é particularmente responsivo a alterações iônicas e farmacológicas, o que os torna ideais para o estudo de efeitos eletrofisiológicos de novas substâncias.

A avaliação da atividade elétrica cardíaca foi feita por meio do eletrocardiograma (ECG) de superfície, uma ferramenta clássica e amplamente utilizada tanto em modelos humanos quanto animais. O ECG registra a atividade elétrica do coração através de ondas e intervalos bem caracterizados: a onda P reflete a despolarização atrial, o complexo QRS representa a despolarização ventricular, e a onda T marca a repolarização dos ventrículos (Dobrev et al., 2019). Alterações nesses parâmetros podem indicar desde bloqueios de

condução até arritmias graves, sendo uma medida sensível para a detecção de efeitos adversos cardíacos de fármacos em desenvolvimento (Dobrev et al., 2019; Calvet; Seebeck, 2023).

O presente trabalho se propôs, portanto, a investigar os possíveis efeitos eletrofisiológicos da Neurovespina sobre o coração de camundongos, utilizando um modelo farmacológico de indução de arritmia baseado na administração de dobutamina e cafeína, juntas, essas substâncias criam um estado de hiperexcitabilidade cardíaca, mimetizando condições propícias ao surgimento de arritmias (Zhang; Zhang, 2020; Fernandez-Ruocco et al., 2019). A dobutamina, um agonista beta-adrenérgico, aumenta a frequência e a contratilidade cardíaca, enquanto a cafeína atua como antagonista de receptores de adenosina e inibidor da fosfodiesterase, potencializando o influxo de cálcio intracelular (Zhang; Zhang, 2020; Fernandez-Ruocco et al., 2019). Essa estratégia foi escolhida como forma de estresse cardíaco controlado para avaliar se a Neurovespina possui efeito protetor, neutro ou tóxico sobre o sistema cardiovascular em situações de desafio eletrofisiológico.

Importante destacar que os animais utilizados no estudo estavam em condição saudável, sem histórico de epilepsia ou alterações cardíacas prévias, justamente para que os efeitos observados fossem atribuíveis exclusivamente à administração da Neurovespina e ao desafio farmacológico imposto. Futuramente, estudos com modelos epilépticos, tanto genéticos quanto induzidos, poderão ser conduzidos para verificar se os efeitos cardíacos da Neurovespina são alterados em contextos patológicos específicos.

A escolha de avaliar a eletrofisiologia cardíaca de camundongos saudáveis tratados com Neurovespina, frente a um protocolo de indução arritmogênica, também se justifica diante das evidências crescentes que correlacionam a epilepsia com alterações cardiovasculares (Costagliola et al., 2021; Wang et al., 2023). Segundo Costagliola e colaboradores (2021) e Wang e colaboradores (2023), evidências sugerem que a ativação de circuitos neuronais durante crises epilépticas pode levar à disfunção autonômica, com alterações na frequência cardíaca, variabilidade, episódios de assistolia e taquicardia, os quais são facilmente detectáveis via ECG. Em alguns casos, essa interação cérebro-corção é tão intensa que alguns autores propuseram o termo "Síndrome do Coração Epiléptico", uma condição em que a epilepsia crônica leva a alterações estruturais e funcionais cardíacas (Slater et al., 2024).

Modelos murinos reforçam essa hipótese, indicando que durante crises epilépticas ocorrem episódios de arritmia e apneia, sendo estes mecanismos potenciais para a Morte Súbita e Inesperada na Epilepsia (SUDEP). Segundo Paulhus e Glasscock (2025), tais alterações são



mais comuns durante as crises, mas podem também surgir entre elas, especialmente em pacientes com epilepsia refratária. Isso reforça a necessidade de se desenvolver terapias que não apenas controlem as crises, mas que também ofereçam proteção ao sistema cardiovascular.

Dessa forma, o presente estudo visou avaliar se a Neurovespina, além dos seus efeitos na diminuição da corrente de cálcio em canais de cálcio do tipo L em células HEK 293T (Human Embryonic Kidney SV-40 T-antigen; Banco de Células do Rio de Janeiro – BCRJ) observadas por Campos (2020) e suas propriedades neuromodulatórias já conhecidas (Lima, 2025), apresenta também algum perfil eletrofisiológico benéfico ou deletério no contexto cardíaco, especialmente sob condições de estresse arritmogênico. Através da análise detalhada de parâmetros eletrocardiográficos, espera-se contribuir para a compreensão dos efeitos sistêmicos desse peptídeo promissor, oferecendo subsídios para futuros ensaios pré-clínicos e clínicos em humanos.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo Geral**

Investigar os efeitos da Neurovespina na eletrofisiologia cardíaca de camundongos, por meio de análises eletrocardiográficas comparativas entre grupos tratados com salina (controle negativo), Diazepam (4mg/Kg) e diferentes doses do peptídeo (4 mg/kg e 40 mg/kg), em condições basais e após indução arritmogênica, a fim de identificar possíveis propriedades cardioprotetoras, antiarrítmicas ou efeitos adversos ainda não elucidados.

### **1.1.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar e comparar parâmetros eletrocardiográficos (frequência cardíaca, intervalos RR, QTc, PR, QRS e segmento TP) em camundongos submetidos aos diferentes tratamentos (solução Salina, Diazepam 4mg/kg e Neurovespina em doses de 4 mg/kg e 40 mg/kg), antes e após indução de arritmia por cafeína e dobutamina, visando identificar alterações significativas na condução elétrica cardíaca;
- Avaliar a sobrevivência e a tolerância cardiovascular dos animais expostos ao protocolo de indução arritmogênica, correlacionando os achados eletrocardiográficos com possíveis efeitos protetores ou tóxicos da Neurovespina em comparação aos grupos controle;
- Determinar o potencial cardioprotetor da Neurovespina mediante análise da preservação de parâmetros eletrocardiográficos pós-insulto arritmico, investigando se o peptídeo atenua distúrbios do ritmo cardíaco, como taquiarritmias ou alterações na repolarização ventricular, características de cardiotoxicidade induzida por catecolaminas e estimulantes.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 MODELO ANIMAL

Este estudo utilizou camundongos Swiss machos (n=9), com idades entre 5 e 10 semanas e pesos variando de 28 a 42 g, provenientes do Biotério Central do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (UnB). Os animais foram alojados em caixas de polipropileno (41 × 34 × 16 cm) em grupos de oito indivíduos por caixa, mantidos em condições ambientais controladas: ciclo claro/escuro de 12/12 horas, temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $55 \pm 5\%$ , com água e ração comercial (Nuvilab®) disponíveis *ad libitum*.

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos em conformidade com a Lei nº 11.794/2008 (Lei Arouca) e as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), após aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UnB (Protocolo nº 23106.025943/2022-86). Para minimizar o estresse, os animais foram aclimatados por pelo menos 7 dias antes do início dos experimentos, e todos os procedimentos invasivos foram realizados sob anestesia adequada e analgesia pós-operatória quando necessário (Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, 2016).

### 2.2 MODELO EXPERIMENTAL

#### 2.2.1 IMPLANTAÇÃO DE ELETRODOS E AQUISIÇÃO DO ELETROCARDIOGRAMA (ECG)

Para o registro contínuo do ECG, os animais foram anestesiados com uma combinação de cetamina (Dopalen®, Ceva, 75 mg/kg, i.p.) e xilazina (Anasedan®, Ceva, 15 mg/kg, i.p.), assegurando um plano anestésico adequado para procedimentos não dolorosos de curta duração. Em seguida, três eletrodos de agulha subcutâneos foram posicionados na configuração de derivação D1 (Boukens et al., 2014; Monnerat-Cahli et al., 2014) (Fig. 1A):

- **Eletrodo positivo (LA)** – pata dianteira esquerda
- **Eletrodo negativo (RA)** – pata dianteira direita
- **Eletrodo de referência (LL)** – pata traseira esquerda.

Os sinais eletrocardiográficos foram amplificados (ganho de 1000x), filtrados com um filtro passa-baixa de 500 Hz e digitalizados em um conversor analógico-digital (A/D) de 16 bits, com uma taxa de amostragem de 1 kHz, utilizando o sistema AQCAD (AVS Projetos, São Paulo, Brasil).

### **2.2.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL E ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS**

O experimento foi conduzido em um modelo duplo-cego, onde nem o pesquisador responsável pela aquisição dos dados nem os avaliadores tinham conhecimento prévio dos tratamentos administrados. O delineamento experimental consistiu em (Figura 1): Inicialmente, obtinha-se o registro do ECG inicial dos animais, sem qualquer tratamento; Após 15 minutos de registro era administrado o tratamento oriundo de um eppendorf cifrado (contendo ou Salina, ou Diazepam 4mg/kg, ou Neurovespina 4mg/Kg, ou Neurovespina 40mg/Kg), esperava 10 minutos e fazia uma nova aquisição agora com o animal tratado; Posteriormente, era administrada uma dose combinada intravenosa (i.v.) de dobutamina (50 µg/kg) e intraperitoneal (i.p.) de cafeína (120 mg/kg) para indução arritmica e um novo registro era obtido em seguida. No início de cada dia de experimentação, os animais eram alocados aleatoriamente em um dos grupos de tratamento. Após um intervalo de 72 horas para garantir a metabolização de todos os fármacos utilizados, um novo conjunto de testes era realizado, com os mesmos animais porém distribuídos de forma aleatória entre grupos experimentais distintos e submetidos a um diferente tratamento. Esse ciclo se repetia até que todos os animais tivessem sido submetidos a todas as condições de tratamento. O intervalo de 72 horas entre as sessões foi adotado de forma rigorosa para garantir a completa metabolização e eliminação dos compostos administrados anteriormente, evitando interferências farmacológicas residuais entre os tratamentos e assegurando a independência dos efeitos observados em cada condição.

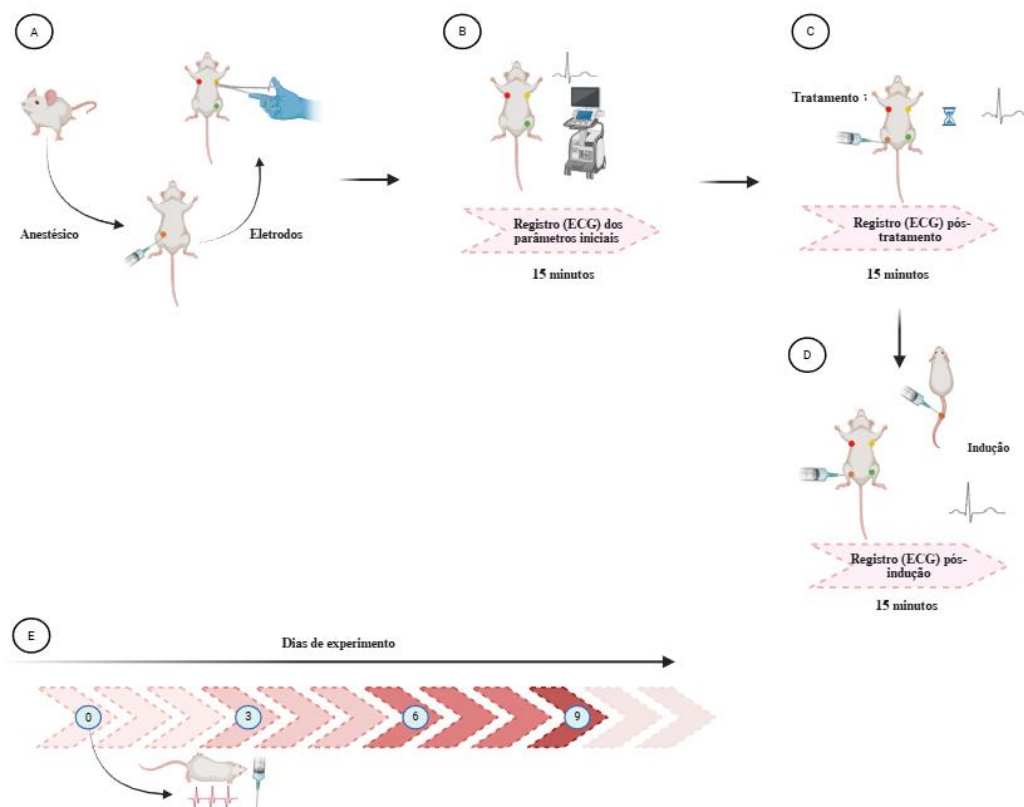


Figura 1. **Desenho experimental.** A. Os animais foram anestesiados para que ocorresse o implante dos eletrodos nas patas dianteiras e traseira; B. Eram submetidos ao registro do Eletrocardiograma (ECG) para que os parâmetros iniciais fossem computados durante 15 minutos; C. O camundongo era submetido ao tratamento correspondente daquele dia (Salina, Diazepam 4mg/kg, Neurovespina 4mg/Kg ou Neurovespina 40mg/Kg) via i.p., após aguardar 10 minutos para efeito efetivo do tratamento administrado, era realizada a aquisição do sinal pós-tratamento por 15 minutos; D. Uma injeção combinada de dobutamina (i.v.) e cafeína (i.p.), são utilizadas para indução arritmica, em seguida uma nova aquisição é feita para aferir possíveis alterações nos parâmetros do sinal; E. Dias do experimento, foram 10 dias ao todo, com tratamentos diferentes a cada 3 dias e aquisição dos sinais (inicial, pós-tratamento e pós-indução). Esquema ilustrativo produzido por meio da plataforma BioRender.com.

### 2.2.3 ANÁLISE DO ELETROCARDIOGRAMA (ECG)

Após a aquisição dos eletrocardiogramas, os dados foram organizados em grupos para análise. Essas análises foram realizadas por meio do software ANCAD (versão ANCAD200) – Análise de Comportamento Autônomo e Dinâmica Cardíaca (AVS Projetos, São Paulo, Brasil), onde os registros eram transferidos e abertos para visualização um a um para que fossem feitas marcações manualmente da onda P, complexo QRS e onda T (Fig. 2).

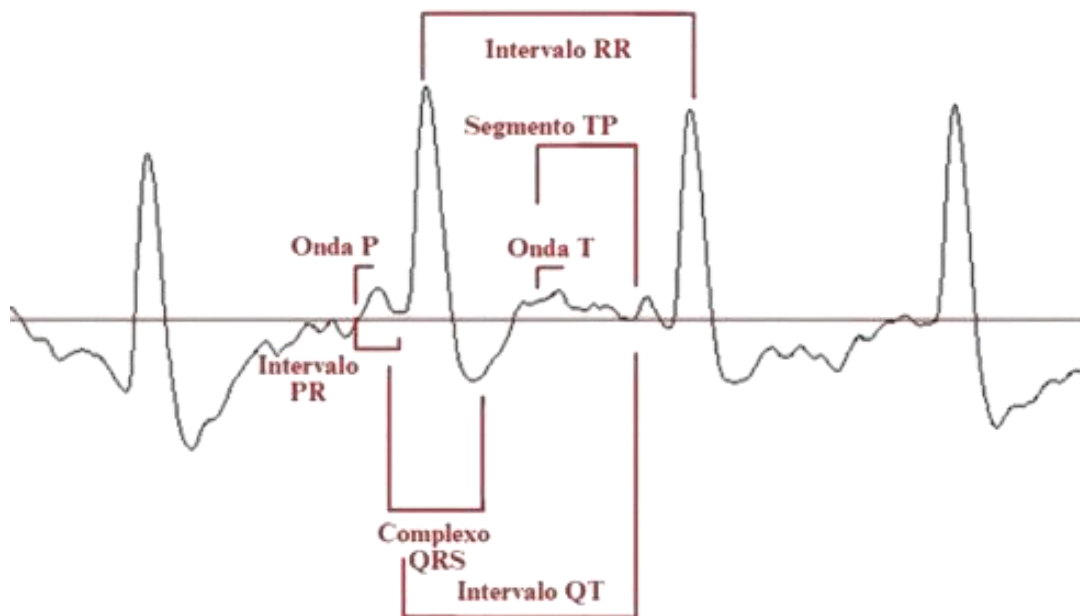


Figura 2. **Parâmetro do ECG.** Representação de um registro de eletrocardiograma (ECG) em um camundongo normal, demonstrando de maneira esquemática todos os parâmetros que foram considerados nesse estudo.

Esses dados foram exportados para uma tabela em Excel, no formato milissegundos (ms), os cálculos foram feitos levando em consideração a média aritmética dos parâmetros obtidos em ao menos 3 ondas completas e bem definidas (Boukens et al., 2014; Monnerat-Cahli et al., 2014). Os parâmetros obtidos para análise foram: intervalo RR, frequência cardíaca (FC), duração do complexo QRS, intervalo PR, segmento TP e intervalo QT (Oestereicher *et al.* 2023), que foi corrigido em frequência (QTc) pela aplicação da seguinte equação derivada por Mitchell (Mitchell *et al.* 1998):

$$QT_c = \frac{QT}{\sqrt{RR/100}} \times 1000 \quad \text{Equação 1}$$

Sendo QTc considerado o intervalo QT corrigido, QT é o intervalo QT medido no registro e RR é o intervalo entre duas ondas R consecutivas.

## 2.2.4 ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA E EVENTOS ARRITMOGÊNICOS

A sobrevivência dos animais foi monitorada durante a execução do protocolo experimental, e os óbitos foram registrados e correlacionados com os tratamentos.

### **2.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Todos os dados foram processados no GraphPad Prism (versão 10.0, GraphPad, San Diego/US). Inicialmente, os conjuntos de dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para determinar a distribuição paramétrica ou não paramétrica. As comparações entre grupos (não pareada) foram realizadas por ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey para comparações múltiplas. As comparações intragrupo (pareada) foram realizadas por ANOVA de uma via para medidas repetidas. A análise de sobrevivência foi realizada por teste de Chi-quadrado para avaliar os percentuais de sobrevivência em cada grupo, após o tratamento e após a indução de arritmias.

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM), e um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 RESULTADOS

Ao longo do estudo, os animais foram submetidos a diferentes protocolos experimentais em dias distintos, sendo observada uma variação nas taxas de sobrevivência entre os grupos tratados. A análise de sobrevivência, representada na Figura 3, revelou padrões distintos entre os grupos experimentais. O tratamento com Salina levou a perda de um único animal após a indução arritmica, possivelmente devido a condições do próprio indivíduo, enquanto os seis animais restantes completaram o protocolo experimental sem apresentar alterações significativas. Em contraste, após o tratamento com Diazepam (4mg/kg), houve a maior incidência de perdas, com dois óbitos registrados: um após a administração do fármaco e outro subsequente à indução arritmica, restando apenas quatro dos seis animais iniciais. Por outro lado, a Neurovespina trouxe um paradigma muito promissor, sendo a dose terapêutica de 4mg/kg não tendo levado a nenhuma perda, com todos os animais passando pelo protocolo de aplicação desse tratamento, enquanto a dose de 40mg/kg registrou apenas um óbito após a indução arritmica, o mesmo observado no grupo controle negativo tratado com Salina. Estes achados trazem novas evidências que sugerem efeitos cardioprotetores da Neurovespina, possivelmente mediados por sua ação modulatória sobre canais de cálcio tipo L em cardiomiócitos (Campos, 2020), indicando um potencial terapêutico relevante na prevenção de complicações cardiovasculares induzidas por estresse arritmico.



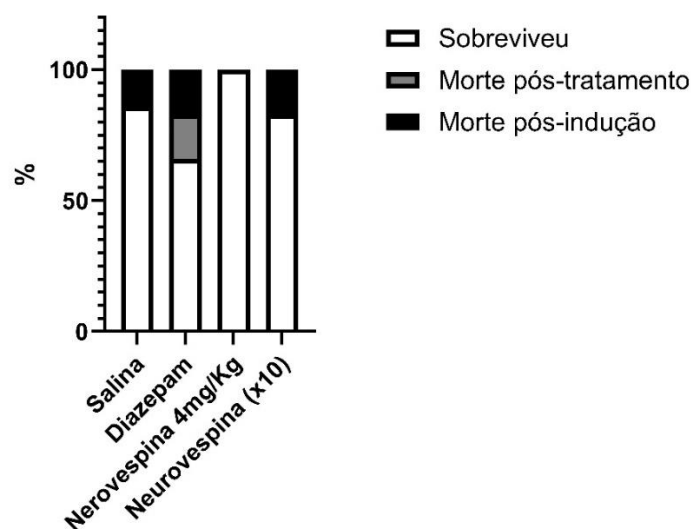
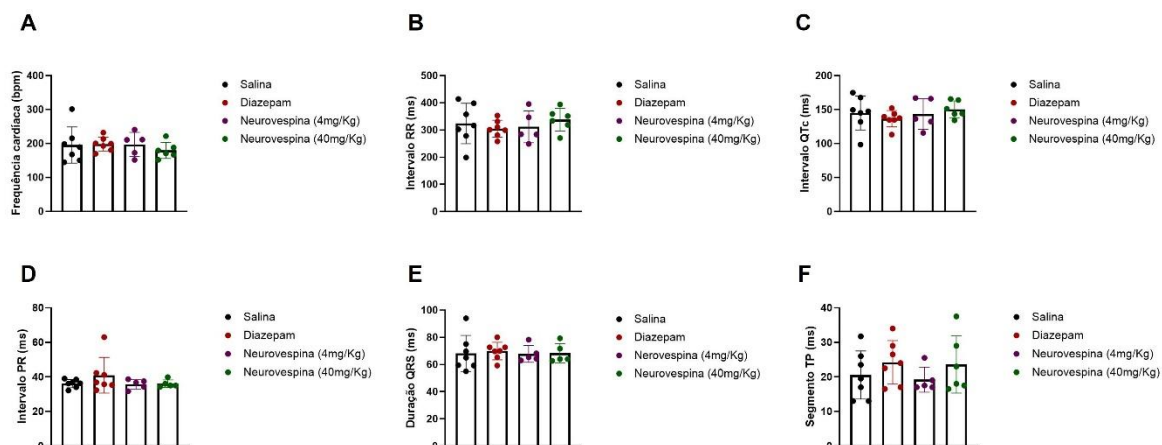


Figura 3. **Desfecho dos animais ao longo do tratamento.** Os animais submetidos ao tratamento com Neurovespina (4mg/Kg) obtiveram uma taxa de sobrevivência em 100%, ou seja, nenhum animal foi a óbito após a injeção do peptídeo; O modelo exposto ao tratamento com Diazepam (4mg/kg) apresentou menores taxas de sobrevivência, de 66%, o que corresponde a uma perda de dois animais, sendo o único grupo em que um animal morreu antes da indução arritmica; os demais grupos, salina e Neurovespina (40mg/Kg), demonstraram menores taxas de mortalidade quando comparados ao grupo Diazepam (4mg/kg), totalizando uma morte no grupo salina e no Neurovespina (40mg/Kg), ambas após a indução arritmica. A análise de contingência entre os grupos foi realizada no *GraphPad Prism (versão 10.0)*, utilizando o teste *Chi-quadrado* para avaliar os percentuais de sobrevivência, indicando diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,0001$ ).

A avaliação dos parâmetros basais, ilustrada na Figura 4, é fundamental para estabelecer a homogeneidade inicial entre os grupos experimentais e garantir a eficácia do protocolo. Todos os animais apresentaram valores consistentes com a normalidade fisiológica, sem diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros eletrocardiográficos iniciais, evidenciando que, antes de qualquer tratamento ou insulto, os animais estavam sob as mesmas condições. A análise detalhada destes parâmetros permitiu caracterizar com precisão as diferentes fases do ciclo cardíaco: a frequência cardíaca, calculada à partir dos intervalos R-R, serviu como indicador primário da atividade elétrica global; o intervalo QT, corrigido pela fórmula de Mitchell (Mitchell et al., 1998; Oestereicher et al., 2023), forneceu informações sobre a repolarização ventricular; enquanto os intervalos PR e a duração do complexo QRS permitiram avaliar os processos de condução atrioventricular e despolarização ventricular, respectivamente. O segmento TP complementou esta análise ao caracterizar o período

diastólico entre ciclos cardíacos consecutivos, oferecendo insights adicionais sobre a estabilidade elétrica do miocárdio (Oestereich et al., 2023).



**Figura 4. Parâmetros eletrocardiográficos iniciais de cada grupo.** Dados gráficos dos parâmetros iniciais obtidos de registro eletrocardiográfico antes de qualquer insulto, os gráficos apresentados, independente do grupo ou parâmetro, demonstraram proximidade sugerindo normalidade e uniformidade dos animais utilizados antes do tratamento e indução. A. Gráfico da Frequência cardíaca (bpm), parâmetro inicial do grupo salina, Diazepam (4mg/kg), Neurovespina (4mg/Kg) e Neurovespina (40mg/Kg), sugerindo frequências parecidas e registros iniciais normais antes dos tratamentos; B. Intervalo entre os picos R (ms), também demonstram normalidade e paridade; C. Intervalo QT corrigido (QTc) (ms), sugere similaridade e normalidade entre grupos pré-tratamento; D. Intervalo PR (ms), não demonstrou diferenças significativas entre os grupos antes de serem tratados; E. Duração do complexo QRS (ms), apresenta simetria comparado aos demais parâmetros; F. Segmento TP (ms), não mostrou disparidade significativa em relação aos outros parâmetros. Realizou-se análise de variância (ANOVA) de uma via e comparação entre grupos no *GraphPad Prism (versão 10.0)*, para relacionar os dados, o valor de  $p > 0.05$  obtido indicou que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

A análise comparativa da frequência cardíaca entre os grupos, apresentada na Figura 5, revelou uma resposta distinta entre os grupos à indução arritmica. Tanto o grupo Salina (Fig. 5A) quanto o grupo Diazepam (4mg/kg) (Fig. 5B) apresentaram aumentos estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) na frequência cardíaca após a administração de cafeína e dobutamina, confirmando a eficácia do protocolo de indução arritmica. Em marcante contraste, os grupos tratados com Neurovespina, tanto na dose de 4mg/kg (Fig. 5C) quanto de 40mg/kg (Fig. 5D), não demonstraram alterações significativas na frequência cardíaca após o insulto arritmico. Esta estabilização da frequência cardíaca sugere fortemente um efeito modulatório da Neurovespina sobre a excitabilidade cardíaca, possivelmente através da ação sobre canais iônicos, conforme postulado em estudos anteriores que demonstraram sua capacidade de bloquear correntes de cálcio em até 30% em modelos celulares (Campos, 2020). A ausência de

resposta taquicárdica à indução arritmica nos grupos tratados com Neurovespina aponta para um potencial efeito antiarrítmico relevante, particularmente em situações de estresse adrenérgico.

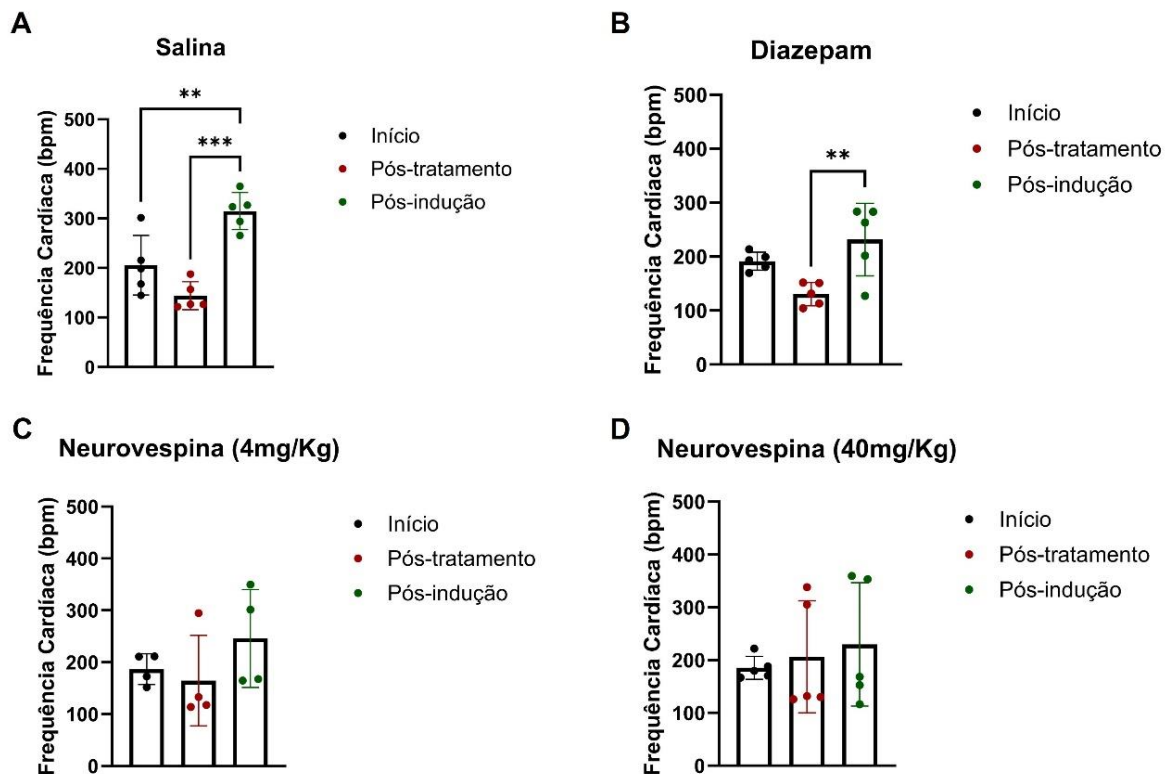


Figura 5. **Frequência cardíaca.** Os resultados sugerem que os animais no tratamento com Salina (A), obteve alteração da frequência cardíaca após a indução, o que demonstra que o modelo de indução funcionou e contribuiu para o aumento da frequência; no grupo Diazepam (4mg/kg) (B) houve aumento significativo da frequência cardíaca após a indução arritmica, enquanto nos grupos tratados com Neurovespina (C e D) não apresentaram alterações nesse parâmetro, destacando um efeito contrário ao observado no grupo Diazepam (4mg/kg) (B). A. Frequência cardíaca (bpm) do grupo tratado com Salina (n=5), dividida em frequência inicial, após o tratamento e após a indução arritmica, valor de  $p < 0.05$  indica significância estatística das comparações; B. Frequência cardíaca (bpm) do grupo tratado com Diazepam (4mg/kg) (n=5), Frequência inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p < 0.05$  indica significância estatística das comparações; C. Frequência cardíaca (bpm) do grupo tratado com Neurovespina (4mg/Kg) (n=4), Frequência inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos; D. Frequência cardíaca (bpm) do grupo tratado com Neurovespina (40mg/Kg) (n=5), dividida em frequência inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não houve diferença estatisticamente significativa. Foi realizada análise de variância (ANOVA) de uma via e comparação entre grupos no *GraphPad Prism (versão 10.0)*, para relacionar os dados.

Os dados complementares sobre os intervalos R-R, apresentados na Figura 6, corroboram e ampliam as observações sobre a frequência cardíaca. Como esperado pela relação inversa entre estes parâmetros, o grupo Diazepam (4mg/kg) (Fig. 6B) apresentou redução nos intervalos R-R após indução arritmica, consistente com o aumento observado na frequência cardíaca. Este achado está em concordância com estudos prévios em corações isolados de ratos, onde o Diazepam (4mg/kg) não demonstrou efeitos cronotrópicos negativos significativos (Medeiros, 2004). Os grupos tratados com Neurovespina (Fig. 6C e 6D), assim como o grupo Salina (Fig. 6A), mantiveram intervalos R-R relativamente estáveis, reforçando a hipótese de um efeito estabilizador da Neurovespina sobre a atividade elétrica cardíaca.

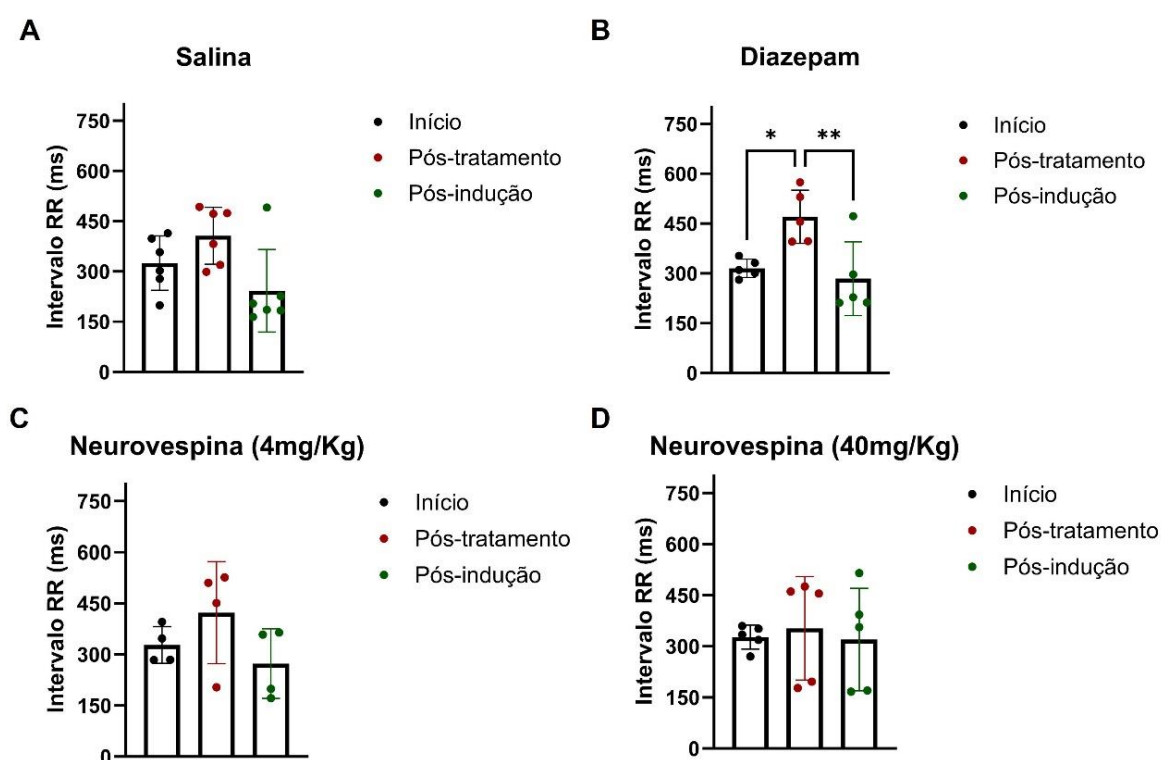


Figura 6. **Intervalo entre os picos RR.** Os dados sugerem que os animais no tratamento com Diazepam (4mg/kg) (B), após indução arritmica, obtiveram uma redução dos intervalos entre os picos RR, que se correlaciona com os dados de aumento da frequência cardíaca desse mesmo grupo; os demais grupos de tratamentos não demonstraram alterações significativas com relação a esse parâmetro. A. Intervalo RR (ms) do grupo tratado com Salina (n=6), Intervalo RR inicial, pós- tratamento e pós- indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indica que não houve diferença estatisticamente significativa das comparações; B. Intervalo RR (ms) do grupo tratado com Diazepam (4mg/kg) (n=5), Intervalo RR inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p < 0.05$  indicando significância estatística das comparações; C. Intervalo RR (ms) do grupo tratado com Neurovespina (4mg/Kg) (n=4), Intervalo RR inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não há diferença

estatisticamente significativa entre os grupos; D. Intervalo RR (ms) do grupo tratado com Neurovespina (40mg/Kg) (n=5), Intervalo RR inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não houve diferença estatisticamente significativa. Foi realizada análise de variância (ANOVA) de uma via e comparação entre grupos no *GraphPad Prism (versão 10.0)*, relacionando os dados.

A análise do intervalo QTc corrigido (Figura 7) forneceu informações valiosas sobre a repolarização ventricular. O grupo Salina (Fig. 7A) apresentou redução significativa do QTc após indução arritmica, padrão esperado em situações de taquicardia. O grupo Diazepam (4mg/kg) (Fig. 7B) mostrou redução menos pronunciada, enquanto os grupos Neurovespina (Fig. 7C e 7D) mantiveram valores estáveis de QTc, sugerindo que o peptídeo pode exercer efeito protetor sobre o período refratário ventricular, aspecto crítico na gênese de arritmias graves (Camanho, 2023). O QTc se demonstrou estável em grupos tratados com Neurovespina sendo este um dado relevante, pois alterações neste parâmetro são marcadores reconhecidos de risco arritmico (Ding *et al.* 2024; Juárez *et al.* 2024).

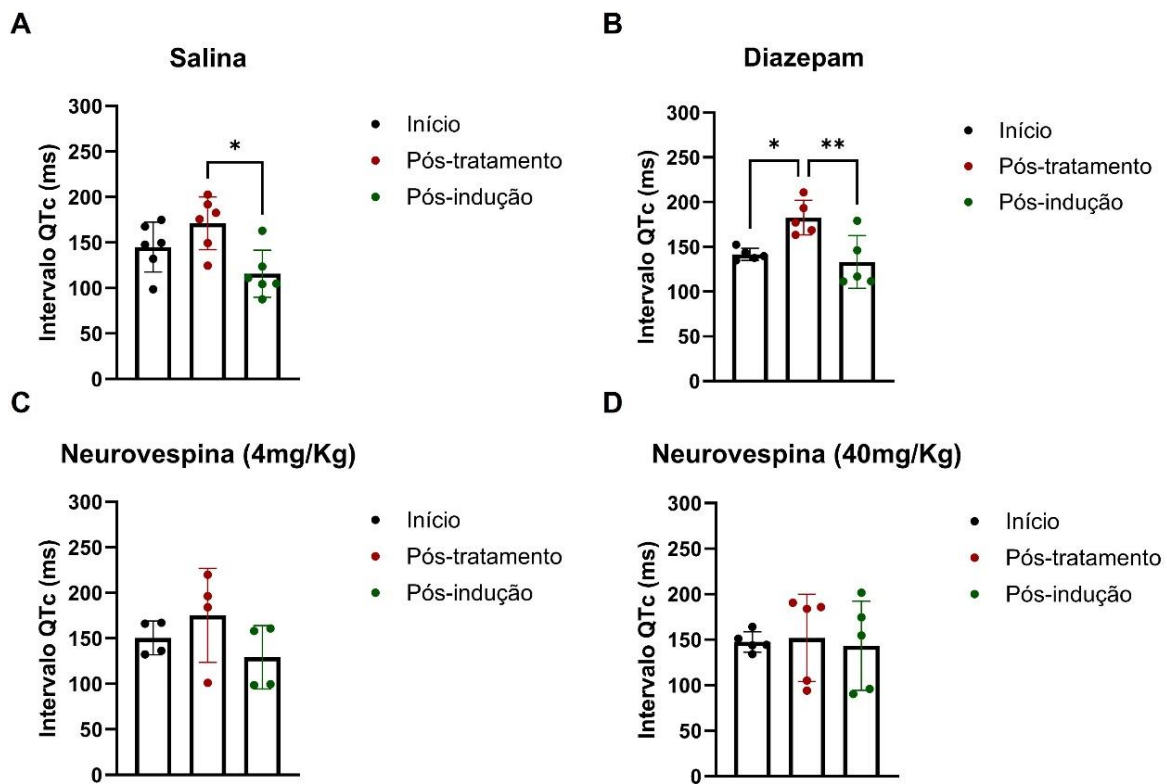


Figura 7. **Intervalo QT corrigido (QTc)**. Os dados sugerem que os animais no tratamento com Salina (A) e Diazepam (4mg/kg) (B), após indução arritmica, obtiveram alteração no intervalo QTc, demonstrando relevância, já que alguns tipos de arritmia estão associadas a alterações no intervalo QTc; os grupos de tratamentos da Neurovespina (C e D) não demonstraram alterações significativas com relação a esse parâmetro. A. Intervalo QTc

(ms) do grupo tratado com Salina (n=6), Intervalo QTc inicial, pós- tratamento e pós- indução arritmica, valor de  $p < 0.05$  indicando significância estatística entre os grupos; B. Intervalo QTc (ms) do grupo tratado com Diazepam (4mg/kg) (n=5), Intervalo QTc inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p < 0.05$  indicando significância estatística das comparações; C. Intervalo QTc (ms) do grupo tratado com Neurovespina (4mg/Kg) (n=4), Intervalo QTc inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não há diferença estatisticamente significativa; D. Intervalo QTc (ms) do grupo tratado com Neurovespina (40mg/Kg) (n=5), Intervalo QTc inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não houve diferença estatisticamente significativa. Foi realizada análise de variância (ANOVA) de uma via e comparação entre grupos no *GraphPad Prism (versão 10.0)*, relacionando os dados.

A avaliação do intervalo PR (Figura 8), que reflete a condução atrioventricular, revelou redução significativa apenas no grupo Salina após indução arritmica (Fig. 8A), enquanto os demais grupos mantiveram valores estáveis (Clark e Prystowsky, 2023; Oestereich et al., 2023). A ausência de alterações significativas na duração do complexo QRS (Figura 9), que representa a despolarização ventricular, em todos os grupos experimentais (Ma et al., 2020), sugere que os tratamentos não afetaram significativamente a condução intraventricular.

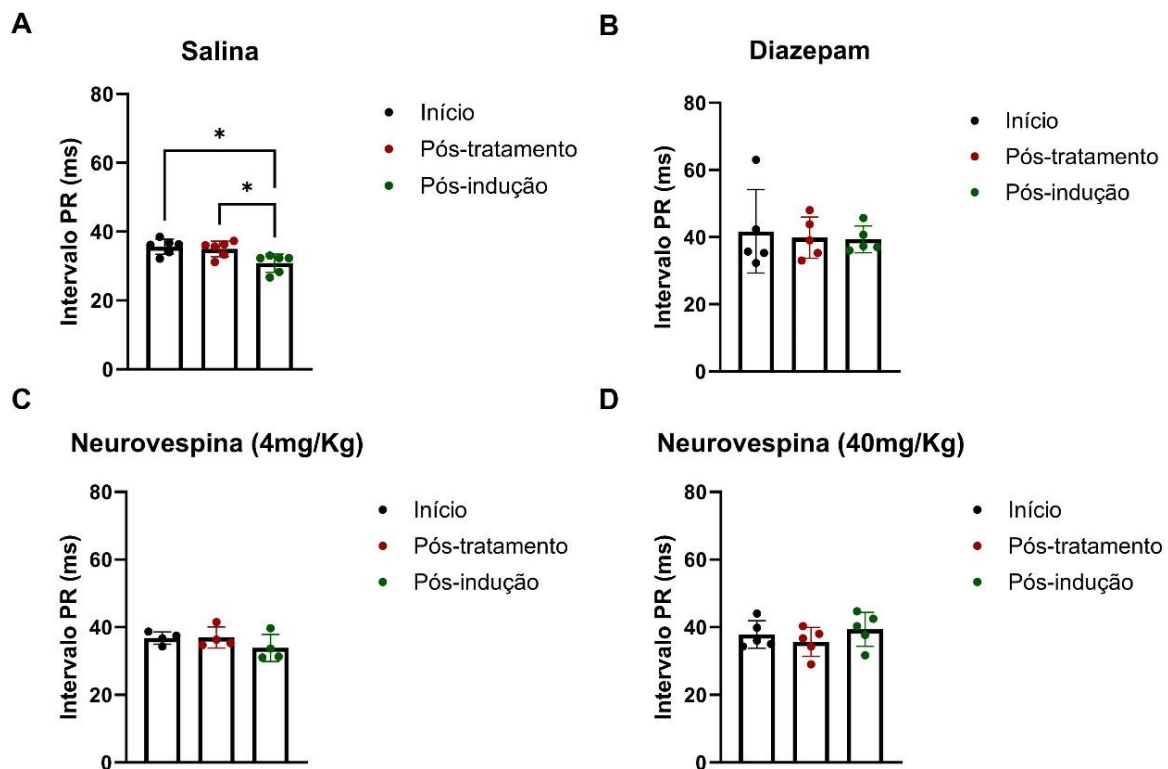


Figura 8. **Intervalo PR.** Os dados sugerem que os animais no tratamento com Salina (A), após indução arritmica, obtiveram alteração no intervalo PR; os demais grupos de tratamentos não demonstraram alterações significativas com relação a esse parâmetro. A. Intervalo PR (ms) do grupo tratado com Salina (n=6), Intervalo PR inicial, pós-

tratamento e pós- indução arritmica, valor de  $p < 0.05$  indicando significância estatística entre os grupos; B. Intervalo PR (ms) do grupo tratado com Diazepam (4mg/kg) (n=5), Intervalo PR inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não houve significância estatística das comparações; C. Intervalo PR (ms) do grupo tratado com Neurovespina (4mg/Kg) (n=4), Intervalo PR inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não há diferença estatisticamente significativa; D. Intervalo PR (ms) do grupo tratado com Neurovespina (40mg/Kg) (n=5), Intervalo PR inicial, pós-tratamento e pós-indução arritmica, valor de  $p > 0.05$  indicando que não houve diferença estatisticamente significativa. Foi realizada análise de variância (ANOVA) de uma via e comparação entre grupos no *GraphPad Prism (versão 10.0)*, relacionando os dados.

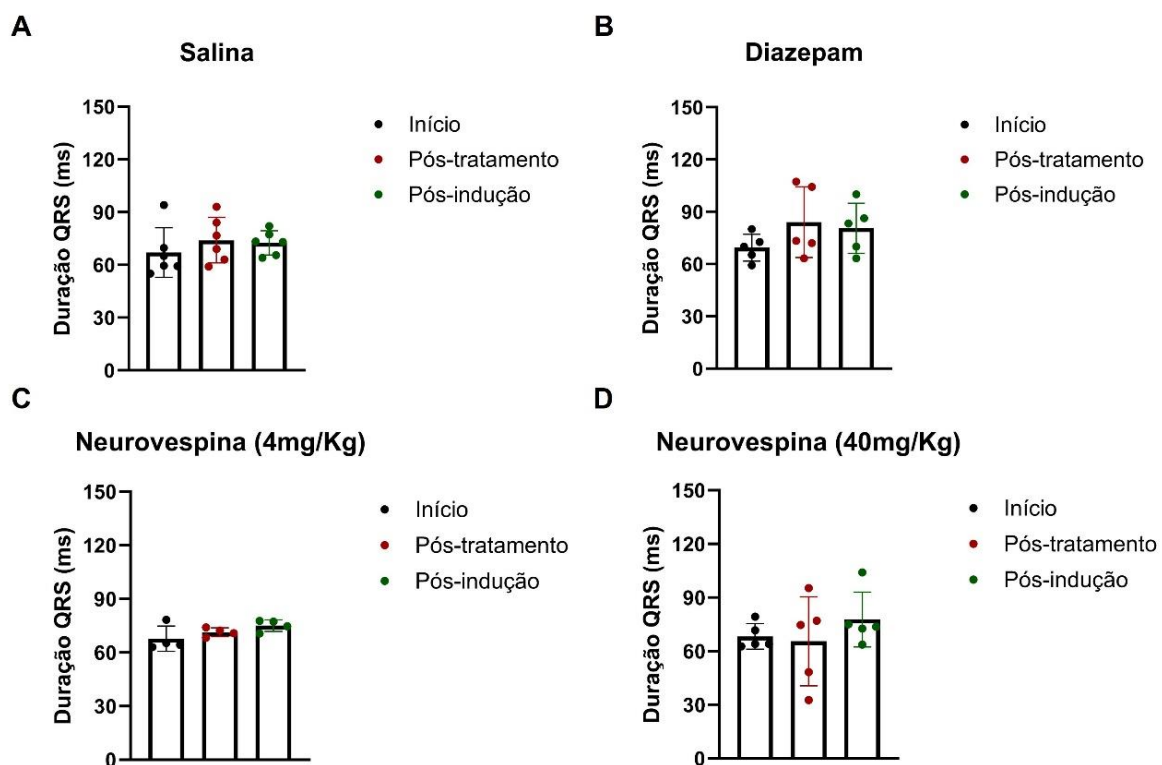


Figura 9. **Duração do complexo QRS.** Os dados demonstraram que não houve alterações significativas com relação à duração do complexo QRS. A. QRS (ms) do grupo tratado com Salina (n=6); B. QRS (ms) do grupo tratado com Diazepam (4mg/kg) (n=5); C. QRS (ms) do grupo tratado com Neurovespina (4mg/Kg) (n=4); D. QRS (ms) do grupo tratado com Neurovespina (40mg/Kg) (n=5). Foi realizada análise de variância (ANOVA) de uma via e comparação entre grupos no *GraphPad Prism (versão 10.0)*, relacionando os dados, os valores de  $p > 0.05$  dos diferentes grupos indicam que não houve diferença estatisticamente significativa das comparações.

Por último, a análise do segmento TP (Figura 10), marcador da diástole elétrica e parâmetro normalmente utilizado na literatura para cálculos de variabilidade da frequência cardíaca, não revelou alterações significativas em nenhum dos grupos experimentais, indicando

que os tratamentos não interferiram significativamente neste parâmetro. A estabilidade observada nos grupos Neurovespina em todos os parâmetros avaliados reforça a hipótese de um efeito cardioprotetor global, possivelmente mediado por múltiplos mecanismos de ação que merecem investigação mais aprofundada em estudos futuros.

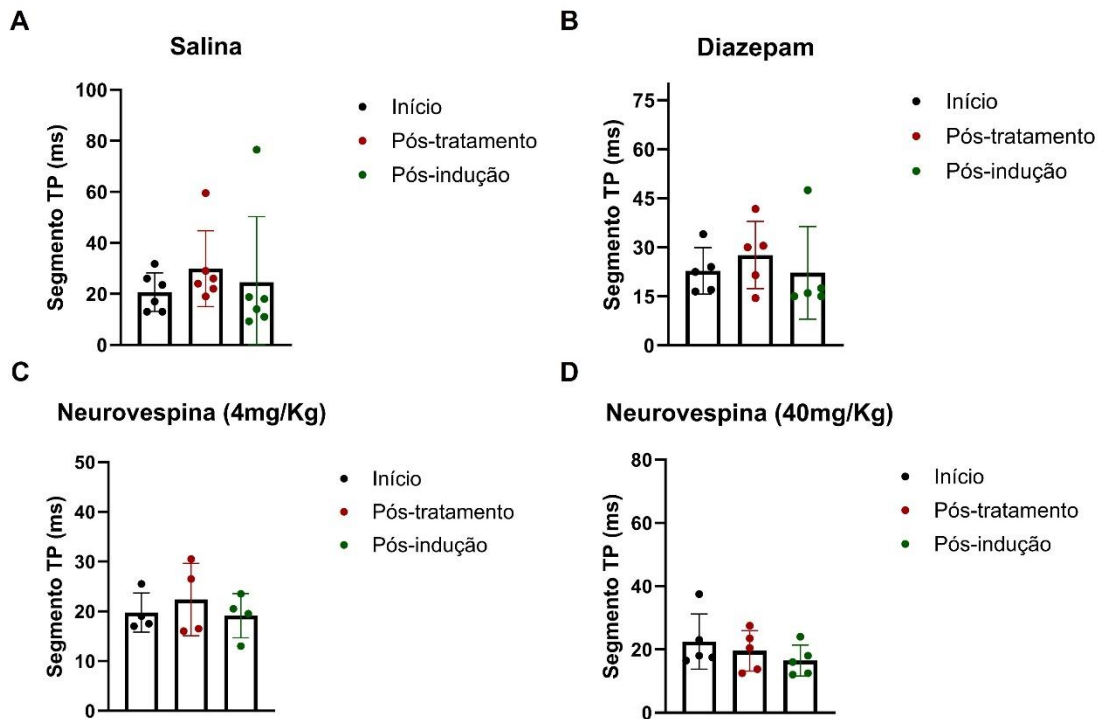


Figura 10. **Segmento TP.** Os dados demonstraram que não houve alterações significativas com relação ao segmento TP. A. Segmento TP (ms) do grupo tratado com Salina (n=6); B. Segmento TP (ms) do grupo tratado com Diazepam (4mg/kg) (n=5); C. Segmento TP (ms) do grupo tratado com Neurovespina (4mg/Kg) (n=4); D. Segmento TP (ms) do grupo tratado com Neurovespina (40mg/Kg) (n=5). Foi realizada análise de variância (ANOVA) de uma via e comparação entre grupos no *GraphPad Prism (versão 10.0)*, relacionando os dados, os valores de  $p > 0.05$  dos diferentes grupos indicam que não houve diferença estatisticamente significativa das comparações.



## 3.2 DISCUSSÕES

Neste estudo, objetivou-se investigar e comparar de forma sistemática o impacto de diferentes tratamentos farmacológicos sobre a eletrofisiologia cardíaca em um modelo experimental com camundongos machos, com especial atenção à identificação de possíveis efeitos adversos associados à administração da Neurovespina. Para isso, foram realizados testes agudos, seguidos por registros eletrocardiográficos, permitindo uma avaliação direta dos parâmetros cardíacos frente às distintas intervenções. O protocolo experimental foi padronizado para garantir reprodutibilidade, com a aplicação de todos os tratamentos em todos os animais incluídos no estudo. Entre cada intervenção, foi respeitado um intervalo mínimo de três dias (72h), com o objetivo de assegurar a completa metabolização do fármaco administrado anteriormente e, assim, evitar possíveis efeitos cruzados ou interações farmacológicas que comprometessem a integridade dos dados obtidos.

A observação inicial da taxa de sobrevivência dos animais ao longo do protocolo experimental demonstrou diferenças significativas entre os grupos de tratamento. O grupo tratado com Diazepam (4mg/kg), utilizado como controle positivo por seu estabelecido perfil anticonvulsivante, apresentou a maior taxa de mortalidade (34%), contrastando acentuadamente com a completa ausência de óbitos no grupo tratado com Neurovespina na dose de 4mg/kg. Este resultado assume particular relevância quando considerado estudos anteriores que sugerem, por exemplo, efeitos cardioprotetores do Diazepam em modelos de estresse oxidativo (Al-Abbasi et al., 2020), indicando que o contexto experimental específico e o modelo de indução arritmica podem influenciar significativamente os resultados obtidos. Os grupos controle (Salina) e Neurovespina na dose mais elevada (40mg/kg) apresentaram taxas intermediárias de mortalidade (17%), sugerindo um possível efeito dose-dependente que merece investigação mais aprofundada em estudos futuros com maior número de pontos de dosagem e tamanho amostral ampliado.

A análise dos parâmetros eletrocardiográficos revelou alterações fisiológicas marcantes que corroboram e ampliam as observações sobre a sobrevivência dos animais. No grupo Diazepam, observou-se um aumento significativo na frequência cardíaca acompanhado pela correspondente redução no intervalo RR após a indução arritmica, padrão consistente com um estado de hiperatividade simpática ou redução do tônus vagal, corroborando com estudos prévios que demonstraram os efeitos do Diazepam na modulação do sistema nervoso autônomo (Zahner et al., 2007; Brigo & Lattanzi, 2020), onde sua ação como agonista alostérico positivo

dos receptores GABA-A no sistema nervoso central pode levar a alterações secundárias no controle autonômico da função cardíaca. Em marcante contraste, os grupos tratados com Neurovespina, tanto na dose de 4mg/kg quanto de 40mg/kg, mantiveram parâmetros notavelmente estáveis tanto na frequência cardíaca quanto no intervalo RR mesmo após o desafio arritmico, sugerindo um possível efeito estabilizador sobre a atividade elétrica cardíaca.

A frequência cardíaca (FC) constitui um dos parâmetros eletrofisiológicos mais fundamentais para a avaliação da função cardiovascular, servindo como um marcador sensível do equilíbrio autonômico e da integridade do sistema de condução cardíaco. Como indicador primário da atividade do nó sinoatrial, o marcapasso primário do coração, a análise da FC e, em estudos futuros, de sua variabilidade, pode proporcionar insights valiosos sobre a regulação neurovegetativa da função cardíaca e a eficácia dos mecanismos homeostáticos, portanto com esse dado inicial obtido nesse estudo, fica aberto um horizonte para que com mais pesquisas sejam avaliados e elucidados também parâmetros como HRV, derivadas dos intervalos RR, como análises no domínio do tempo (como SDNN ou RMSSD) ou espectrais (LF ou HF) (Ho et al., 2011; Oestereich et al., 2023), no entanto, aqui observamos apenas parâmetros basais do ECG e os efeitos do peptídeo nesses parâmetros. A análise FC em nosso estudo revelou padrões distintos de resposta entre os grupos experimentais: enquanto os grupos Salina e Diazepam apresentaram aumentos significativos na FC após a indução arritmica, demonstrando a eficácia do protocolo de desafio cardiovascular, os grupos tratados com Neurovespina mantiveram sua FC mesmo após o insulto arritmico, demonstrando certa estabilidade. Este achado assume particular relevância quando considerado a literatura existente sobre os efeitos cardiovasculares do Diazepam, que embora classicamente descrito como um modulador GABAérgico central, demonstra complexos efeitos periféricos na regulação da FC, incluindo alterações na variabilidade da frequência cardíaca (Hughes, 2020) e modulação do tônus autonômico (Panprom et al., 2024). Curiosamente, enquanto alguns estudos sugerem efeitos cardioprotetores pelo Diazepam em contextos específicos de estresse oxidativo (Medeiros et al., 2004; Jiang et al., 2021), nossos resultados indicam que, no modelo de indução arritmica por catecolaminas, que este fármaco parece exacerbar as respostas taquicárdicas. Em contraste marcante, a estabilidade da FC observada nos grupos Neurovespina, mesmo após o desafio arritmico, sugere um efeito modulador distinto, possivelmente mediado por sua ação nos canais de cálcio tipo L (Campos, 2020). Esta possível ação seletiva sobre os canais Cav1.2, que desempenham papel crucial no acoplamento excitação-contração em cardiomiócitos (Bers,

2002), pode explicar a notável capacidade da Neurovespina em manter a estabilidade eletrofisiológica mesmo em condições de estresse cardiovascular agudo, reforçando seu potencial como candidato terapêutico com duplo benefício - antiepilético e cardioprotetor.

A análise do intervalo RR, que é um parâmetro diretamente associado à frequência cardíaca, sendo considerados praticamente dados semelhantes, demonstrou no grupo tratado com Diazepam uma redução marcante após a indução arritmica, alteração que apresenta uma relação fisiológica direta e inversamente proporcional com o aumento concomitante da frequência cardíaca registrado no mesmo grupo, como discutido acima. O intervalo RR corresponde ao período entre dois complexos QRS consecutivos, apresenta, por óbvio, relação inversa com a frequência cardíaca, evidenciando no fundo o mesmo resultado: quando a atividade cardíaca se acelera, os intervalos entre os batimentos necessariamente se encurtam, e vice-versa. Este padrão de resposta foi claramente observado no grupo Diazepam, onde a taquicardia induzida pelo protocolo experimental se manifestou através da significativa redução dos intervalos RR. Em contraste notável, os grupos tratados com Neurovespina, tanto na dose de 4mg/kg quanto de 40mg/kg, mantiveram intervalos RR estáveis mesmo após o desafio arritmico, demonstrando uma resistência às alterações na periodicidade cardíaca. A concordância entre estes dois parâmetros, frequência cardíaca e intervalo RR, evidencia que os achados sustentam a proposição de que a Neurovespina pode possuir propriedades cardioprotetoras relevantes em contextos de desafio arritmico.

Foi feita a avaliação do intervalo QT corrigido (QTc) que forneceu informações adicionais sobre a repolarização ventricular, sendo este, um parâmetro utilizado na avaliação do risco arritmico. O grupo Diazepam apresentou alterações significativas no QTc após a indução arritmica, padrão que tem sido associado a maior risco de arritmias ventriculares graves em estudos clínicos e experimentais presentes na literatura (Gussak et al., 2001; Camanho, 2023), sugerindo que variações no QT podem facilitar a formação de circuitos de reentrada e reduzir o período refratário miocárdico, criando condições propícias para que o impulso elétrico encontre vias de condução parcialmente repolarizadas, desencadeando assim ciclos arrítmicos sustentados. Em contraste, os grupos Neurovespina mantiveram valores estáveis de QTc, reforçando a possibilidade de um efeito protetor sobre os processos de repolarização ventricular. Esta estabilidade eletrofisiológica se faz relevante se considerarmos que, de acordo com a literatura, alterações no QTc constituem um dos principais indicativos

quando se trata da morte súbita em pacientes epiléticos (SUDEP) (Costagliola et al., 2021; Wang et al., 2023).

O tratamento com Diazepam, provavelmente promove um predomínio da atividade simpática que pode criar um ambiente eletrofisiológico instável que favorece o desenvolvimento de taquiarritmias, particularmente em condições de estresse ou em indivíduos com predisposição genética (Patel et al., 2010). Essa modulação autonômica explica não apenas as alterações no intervalo QT, mas também o aumento da frequência cardíaca e as possíveis modificações nos processos de repolarização ventricular. Quando utilizado em concentrações mais elevadas, o Diazepam pode modular diretamente canais iônicos cardíacos, alterando o potencial de ação em cardiomiócitos (Hara et al., 2001). Esses achados indicam que, além de seus efeitos centrais, o Diazepam pode exercer influência direta sobre a atividade elétrica cardíaca, potencializando seu risco arritmico. Por outro lado, os dados obtidos com a Neurovespina revelam um perfil distinto. Embora os mecanismos moleculares exatos desse peptídeo ainda estejam em investigação, estudos preliminares indicam sua ação moduladora sobre canais de cálcio cardíacos (Campos, 2020). A ausência de alterações significativas nos parâmetros eletrocardiográficos nos grupos tratados com Neurovespina, mesmo após o desafio arritmico, sugere um potencial efeito estabilizador e protetor desse composto sobre a atividade cardíaca.

Observamos que parâmetros associados aos sistemas de condução cardíaca (complexo QRS e intervalo PR) não demonstraram alterações em nenhum dos tratamentos testados. O complexo QRS, que representa a despolarização ventricular, reflete especificamente a propagação do impulso elétrico através do sistema His-Purkinje, incluindo o feixe de His, seus ramos e a rede de fibras de Purkinje. Paralelamente, o intervalo PR, medido desde o início da onda P até o início do complexo QRS, corresponde ao tempo necessário para a transmissão do impulso elétrico desde os átrios até os ventrículos, passando pelo nó atrioventricular (Samesima et al. 2022). Com base na literatura, a estabilidade observada nos parâmetros do sistema de condução pode indicar que os tratamentos não estão exercendo efeitos significativos sobre os canais de sódio cardíacos (Nav1.5), que são primariamente responsáveis pela fase rápida de despolarização nos miócitos ventriculares (Kumagai, 1991; Chaudhary, 2024). Tal observação reforça a hipótese de que os mecanismos de ação destas substâncias estariam mais relacionados à modulação de outros sistemas iônicos, particularmente os canais de cálcio no caso da Neurovespina (Campos, 2020), ou aos efeitos sobre o sistema nervoso autônomo no caso do

Diazepam. É importante considerar, contudo, que a interpretação destes resultados deve levar em conta o possível efeito confundidor do protocolo anestésico utilizado. A combinação de xilazina e cetamina, embora amplamente empregada em modelos experimentais com roedores por sua eficácia e segurança relativa, é conhecida por influenciar diversos parâmetros cardiovasculares (Lairez et al., 2013; Lee & Jones, 2018). Especificamente, estes anestésicos podem alterar a condução atrioventricular e a despolarização ventricular através de múltiplos mecanismos, incluindo modulação do tônus autonômico e efeitos diretos sobre os canais iônicos cardíacos. Portanto, a ausência de alterações significativas nos parâmetros de condução observada em nosso estudo pode refletir, pelo menos em parte, um efeito da anestesia utilizada que pode exercer um efeito de mascarar potenciais modificações induzidas pelos tratamentos em estudo.

Esta consideração metodológica sobre o protocolo anestésico é particularmente relevante para a interpretação dos resultados com a Neurovespina, pois sugere que estudos futuros realizados em condições não anestesiadas ou utilizando diferentes protocolos anestésicos poderiam revelar efeitos mais sutis sobre o sistema de condução cardíaca que não foram detectados no presente modelo experimental. Apesar desta limitação, a estabilidade dos parâmetros de condução observada com a Neurovespina, mesmo após o desafio arritmico, reforça seu perfil farmacológico favorável e sua potencial segurança cardiovascular em comparação com outros agentes anticonvulsivantes.

O Diazepam ainda é utilizado para o tratamento de crises convulsivas agudas (Brigo; Lattanzi, 2020), mas existem outros tipos de anticonvulsivos mais amplamente utilizados em tratamento crônicos da doença. Estes anticonvulsivantes apresentam um espectro diversificado de efeitos cardiovasculares (Nei et al., 2025):

- Fenitoína: Atua através do bloqueio de canais de sódio, mecanismo que lhe confere propriedades antiarrítmicas. No entanto, sua administração intravenosa rápida pode precipitar arritmias graves e hipotensão, enquanto a via oral em doses terapêuticas geralmente mantém parâmetros eletrocardiográficos estáveis;
- Carbamazepina: Similarmente à fenitoína, modula canais de sódio, mas com maior tendência a induzir bradiarritmias, incluindo bloqueios atrioventriculares completos e assistolia em doses elevadas, conforme demonstrado em modelos animais;

- Valproato: Combina aumento da atividade GABAérgica com bloqueio de canais de sódio, apresentando menor impacto agudo no ECG, mas com possíveis riscos arrítmicos em uso prolongado;
- Fenobarbital: Potencializa a ação GABAérgica e bloqueia receptores AMPA glutamatérgicos, associando-se a hipotensão, depressão respiratória e alterações no intervalo QT;
- Topiramato: Com ação pleiotrópica em múltiplos canais iônicos, mostra perfil eletrocardiográfico mais estável.

Esta revisão comparativa, somada aos estudos anteriores sobre a Neurovespina (Campos, 2020; Dourado et al., 2021; Mortari et al., 2023), sugere que, além da sua eficácia na contenção de crises epiléticas agindo como anticonvulsivante eficiente, o peptídeo também apresenta vantagens significativas em termos de segurança cardiovascular quando comparado aos anticonvulsivantes tradicionais. Enquanto estes últimos frequentemente exigem monitoramento hemodinâmico rigoroso, especialmente em doses elevadas ou durante crises convulsivas (Nei et al., 2025), a Neurovespina demonstra um perfil mais favorável, com efeitos cardioprotetores adicionais que podem ser particularmente relevantes para pacientes com comorbidades cardiovasculares.

O presente estudo representou uma investigação pioneira sobre os efeitos da Neurovespina na eletrofisiologia cardíaca, fornecendo dados preliminares importantes sobre seu potencial modulador. Contudo, como toda pesquisa exploratória, nossos achados devem ser interpretados considerando algumas limitações metodológicas inerentes ao desenho experimental. O tamanho amostral relativamente pequeno, embora adequado para uma análise inicial, pode ter limitado nossa capacidade de detectar efeitos mais sutis do peptídeo, particularmente em relação a parâmetros com maior variabilidade intrínseca. Esta limitação foi agravada pela perda de alguns animais durante os experimentos, reduzindo ainda mais o poder estatístico para certas análises e potencialmente afetando a representatividade da variabilidade biológica natural entre os indivíduos. Como discutido anteriormente, outro aspecto relevante diz respeito à utilização de protocolo anestésico, uma necessidade metodológica que, embora indispensável para a realização dos procedimentos, pode ter influenciado alguns dos parâmetros cardiovasculares avaliados. O uso de anestésicos foi uma limitação técnica inevitável dado os recursos disponíveis e as condições experimentais necessárias para a aquisição dos dados eletrofisiológicos.

A decisão de utilizar animais não epiléticos, embora tenha permitido isolar os efeitos cardiovasculares da Neurovespina sem a interferência da condição patológica de base, representa simultaneamente uma limitação e uma oportunidade para pesquisas futuras. Por um lado, este modelo "saudável" nos permitiu caracterizar o perfil de segurança cardiovascular do peptídeo; por outro, abre caminho para investigações posteriores em modelos animais de epilepsia, onde poderemos avaliar a interação entre os efeitos anticonvulsivantes e cardioprotetores em condições mais próximas da realidade clínica.

Análises moleculares complementares poderão, no futuro, elucidar melhor os mecanismos subjacentes aos efeitos observados. A quantificação de marcadores de estresse oxidativo, proteínas relacionadas à homeostase do cálcio ou à modulação autonômica poderão fornecer correlações importantes entre os parâmetros eletrofisiológicos e os processos celulares envolvidos (Campos, 2020; Fei et al., 2022). Esta lacuna aponta para a necessidade de estudos futuros mais abrangentes, que combinem avaliações funcionais com análises moleculares detalhadas.

As perspectivas de pesquisa que emergem deste estudo revelam um horizonte científico amplo e promissor. A investigação sistemática da relação dose-resposta da Neurovespina em diferentes modelos animais, utilizando tamanhos amostrais adequadamente dimensionados permitirá estabelecer com maior precisão tanto sua janela terapêutica ideal quanto seu perfil de segurança cardiovascular em diferentes cenários fisiopatológicos. A aplicação do peptídeo em modelos de maior complexidade fisiológica, em animais com epilepsia crônica em modelos tratados com pilocarpina (Lima, 2025) e, conseqüentemente, um quadro cardíaco associado, será fundamental para avaliar seu verdadeiro potencial translacional, considerando a conhecida interação entre os sistemas nervoso e cardiovascular nestas condições (Wang et al., 2023; Slater et al., 2024). Complementarmente, estudos mecanísticos aprofundados que explorem as vias de sinalização molecular envolvidas nos efeitos observados – particularmente aquelas relacionadas ao estresse oxidativo e à homeostase do cálcio (Campos, 2020; Fei et al., 2022) – poderão não apenas validar nossos achados, mas também fundamentar o desenvolvimento de abordagens terapêuticas inovadoras que aliem controle da excitabilidade neuronal e proteção cardiovascular em pacientes epiléticos.

## 4 CONCLUSÃO

Os dados obtidos nesta pesquisa representam uma contribuição significativa para o entendimento dos efeitos cardiovasculares da Neurovespina, particularmente no que diz respeito à sua capacidade de estabilizar parâmetros eletrofisiológicos críticos. Nossos resultados demonstraram que, na dose terapêutica de 4mg/kg, a Neurovespina exerceu efeitos cardioprotetores claramente evidenciados pela estabilização da frequência cardíaca, intervalos RR e o QTc corrigido. Estes achados sugerem fortemente que o peptídeo possui uma ação moduladora sobre o sistema cardiovascular, possivelmente mediada tanto por efeitos sobre a modulação autonômica quanto por mecanismos celulares diretos de proteção miocárdica. A partir destas observações, torna-se imperativo conduzir investigações futuras que explorem de forma mais abrangente o potencial terapêutico da Neurovespina, não apenas em modelos cardiovasculares experimentais, mas também em condições clínicas complexas que envolvam disfunções autonômicas ou elevado risco arritmico.



## LISTA DE REFERÊNCIAS

- [1] Al-Abbasi, F. A., *et al.* “Biochemical and toxicological effect of Diazepam in stress-induced cardiac dysfunctions”. *Toxicology Reports*, vol. 7, janeiro de 2020, p. 788–94. *ScienceDirect*, <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.06.004>.
- [2] Barbosa, K. B. F., *et al.* “Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios”. *Revista de Nutrição*, vol. 23, nº 4, agosto de 2010, p. 629–43, <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>.
- [3] Beghi, E. “The Epidemiology of Epilepsy”. *Neuroepidemiology*, vol. 54, nº 2, 2020, p. 185–91, <https://doi.org/10.1159/000503831>.
- [4] Boukens, B. J., *et al.* “Misinterpretation of the mouse ECG: ‘musing the waves of *Mus musculus*’”. *The Journal of Physiology*, vol. 592, nº Pt 21, novembro de 2014, p. 4613–26. *PubMed*, <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.279380>.
- [5] Brigo, F., e S. Lattanzi. “Anticonvulsant Agents: Benzodiazepines (Clobazam, Clonazepam, Diazepam, Lorazepam, Midazolam)”. *NeuroPsychopharmacotherapy*, Springer, Cham, 2021, p. 1–8. *link.springer.com*, [https://doi.org/10.1007/978-3-319-56015-1\\_440-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-56015-1_440-1).
- [6] Calvet, C., e P. Seebeck. “What to consider for ECG in mice—with special emphasis on telemetry”. *Mammalian Genome*, vol. 34, nº 2, 2023, p. 166–79. *PubMed*, <https://doi.org/10.1007/s00335-023-09977-0>.
- [7] Camanho, L. E. M. “Revisitando o Intervalo QT: Um Antigo Marcador para uma Nova Doença?” *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, vol. 120, fevereiro de 2023, p. e20220878. *SciELO*, <https://doi.org/10.36660/abc.20220878>.
- [8] Campos, G. A. A. “Investigação do mecanismo de ação e do alvo farmacológico do peptídeo neuroprotetor Neurovespina”, Julho de 2020. *repositorio.unb.br*, <http://repositorio.unb.br/handle/10482/39165>.
- [9] Chaudhary, K. W., *et al.* “An Overview of Drug-induced Sodium Channel Blockade and Changes in Cardiac Conduction: Implications for Drug Safety”. *Clinical and Translational Science*, vol. 17, nº 12, dezembro de 2024, p. e70098, <https://doi.org/10.1111/cts.70098>.
- [10] Clark, B. A., e E. N. Prystowsky. “Electrocardiography of Atrioventricular Block”. *Cardiology Clinics*, vol. 41, nº 3, agosto de 2023, p. 307–13, <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2023.03.007>.
- [11] Conahan, S. T., e W. H. Vogel. “The Effect of Diazepam Administration on Heart Rate and Mean Arterial Blood Pressure in Resting and Stressed Conscious Rats”. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, vol. 53, nº 3, setembro de 1986, p. 301–17.

- [12] Costagliola, G., *et al.* “The Brain-Heart Interaction in Epilepsy: Implications for Diagnosis, Therapy, and SUDEP Prevention”. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, vol. 8, nº 7, julho de 2021, p. 1557–68. *PubMed*, <https://doi.org/10.1002/acn3.51382>.
- [13] Ding, Q., *et al.* “QTc interval prolongation and risk of atrial fibrillation recurrence: a meta-analysis and observational cohort study”. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, vol. 11, novembro de 2024, p. 1483591, <https://doi.org/10.3389/fcvm.2024.1483591>.
- [14] Dobrev, D., e X. H. T. Wehrens. “Mouse models of cardiac arrhythmias”. *Circulation research*, vol. 123, nº 3, julho de 2018, p. 332–34. *PubMed Central*, <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313406>.
- [15] Dourado, L. F. N., *et al.* “Ischemia-Induced Retinal Injury Is Attenuated by Neurovespina, a Peptide from the Venom of the Social Wasp *Polybia Occidentalis*”. *Neuropeptides*, vol. 85, fevereiro de 2021, p. 102113. *PubMed*, <https://doi.org/10.1016/j.npep.2020.102113>.
- [16] Fei, J., *et al.* “Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Diseases: An Update”. *Exploration of Medicine*, vol. 3, nº 2, abril de 2022, p. 188–204. *www.explorationpub.com*, <https://doi.org/10.37349/emed.2022.00085>.
- [17] Fernandez-Ruocco, J. *et al.* “High thyrotropin is critical for cardiac electrical remodeling and arrhythmia vulnerability in hypothyroidism”. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, v. 29, n. 7, p. 934–945, 2019, [10.1089/thy.2018.0709](https://doi.org/10.1089/thy.2018.0709).
- [18] Gomes, L. A. “Avaliação da atividade antiamiloidogênica de peptídeos isolados da peçonha de vespas sociais em um modelo murino da doença de Alzheimer”. outubro de 2019. *repositorio.unb.br*, <http://repositorio.unb.br/handle/10482/35541>.
- [19] Gussak, I., *et al.* “Idiopathic Short QT Interval: A New Clinical Syndrome?” *Cardiology*, vol. 94, nº 2, 2000, p. 99–102, <https://doi.org/10.1159/000047299>.
- [20] Hara, Y., *et al.* “Negative Inotropic Effect of Diazepam in Isolated Guinea Pig Heart.” *Journal of Veterinary Medical Science*, vol. 63, nº 2, 2001, p. 135–43, <https://doi.org/10.1292/jvms.63.135>.
- [21] Ho, D., *et al.* “Heart Rate and Electrocardiography Monitoring in Mice”. *Current protocols in mouse biology*, vol. 1, março de 2011, p. 123–39. *PubMed*, <https://doi.org/10.1002/9780470942390.mo100159>.
- [22] Hughes, D. A. “Acute Chloroquine Poisoning: A Comprehensive Experimental Toxicology Assessment of the Role of Diazepam”. *British Journal of Pharmacology*, vol. 177, nº 21, novembro de 2020, p. 4975–89, <https://doi.org/10.1111/bph.15101>.
- [23] Jiang, T., *et al.* “Diazepam ameliorated myocardial ischemia-reperfusion injury via inhibition of C-C chemokine receptor type 2/tumor necrosis factor- $\alpha$ /interleukins and Bcl-2-associated X protein/caspase-3 pathways in experimental rats”. *The Journal of Veterinary Medical Science*, vol. 83, nº 12, dezembro de 2021, p. 1965–76. *PubMed*, <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0344>.

- [24] Juárez, K. C., *et al.* “Novel Risk Predictor of Arrhythmias for Patients with Potassium Channel-Related Congenital Long QT Syndrome”. *Heart Rhythm*, vol. 22, nº 6, junho de 2025, p. 1562–71. *PubMed*, <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2024.12.015>.
- [25] Kumagai, K., *et al.* “Antiarrhythmic and Proarrhythmic Properties of Diazepam Demonstrated by Electrophysiological Study in Humans”. *Clinical Cardiology*, vol. 14, nº 5, maio de 1991, p. 397–401. *PubMed*, <https://doi.org/10.1002/clc.4960140507>.
- [26] Lairez, O., *et al.* “Anesthetic Regimen for Cardiac Function Evaluation by Echocardiography in Mice: Comparison between Ketamine, Etomidate and Isoflurane versus Conscious State”. *Laboratory Animals*, vol. 47, nº 4, outubro de 2013, p. 284–90, <https://doi.org/10.1177/0023677213496236>.
- [27] Lee, C., e T. A. Jones. “Effects of Ketamine Compared with Urethane Anesthesia on Vestibular Sensory Evoked Potentials and Systemic Physiology in Mice”. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 2018, <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-17-000131>.
- [28] Lima, L. S. de. “Avaliação do peptídeo antiepilético Neurovespina nos processos neuroinflamatórios de um modelo animal de epilepsia do lobo temporal”, Abril de 2025. *repositorio.unb.br*, <http://repositorio.unb.br/handle/10482/52090>.
- [29] Liu, Z., *et al.* “Cardiac Structural and Molecular Alterations in Rodent Models of Temporal Lobe Epilepsy”. *Epilepsia Open*, vol. 10, nº 3, junho de 2025, p. 809–21, <https://doi.org/10.1002/epi4.70032>.
- [30] Ma, J., *et al.* “Association between Changes in QRS Width and Echocardiographic Responses to Cardiac Resynchronization Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis”. *Medicine*, vol. 99, nº 2, janeiro de 2020, p. e18684, <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018684>.
- [31] Marinowic, D. R., e V. D. Kunrath. “Correlação entre epilepsia e complicações cardiogênicas: uma análise abrangente da epidemiologia e fisiopatologia”. *Estudos Avançados sobre Saúde e Natureza*, vol. 18, julho de 2024. *www.periodicojs.com.br*, <https://doi.org/10.51249/easn18.2024.2127>.
- [32] Medeiros, C. G. S. de, *et al.* “Análise comparativa dos efeitos do Diazepam, midazolam, propofol e etomidato na contratilidade miocárdica e no fluxo coronariano: estudo em corações isolados de ratos”. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, vol. 19, junho de 2004, p. 157–64. *SciELO*, <https://doi.org/10.1590/S0102-76382004000200010>.
- [33] Mitchell, G. F., *et al.* “Measurement of Heart Rate and Q-T Interval in the Conscious Mouse”. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol. 274, nº 3, março de 1998, p. H747–51, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1998.274.3.H747>.
- [34] Monnerat-Cahli, G., *et al.* “Bone marrow mesenchymal stromal cells rescue cardiac function in streptozotocin-induced diabetic rats”. *International Journal of Cardiology*, vol.

171, nº 2, fevereiro de 2014, p. 199–208. *ScienceDirect*, <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.12.013>.

[35] Mortari, M. R., *et al.* “A new class of peptides from wasp venom: a pathway to antiepileptic/neuroprotective drugs”. *Brain Communications*, vol. 5, nº 1, fevereiro de 2023, p. fcad016. *PubMed*, <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcad016>.

[36] Mortari, M. R., e L. D. A. Carneiro. “Peptídeo modificado da peçonha de vespa social e seu uso como antiepiléptico e neuroprotetor”. *Instituto Nacional da Propriedade Industrial Ministério da Economia*, <https://busca.inpi.gov.br/pePI/>.

[37] Nei, M., *et al.* “Cardiovascular Effects of Antiseizure Medications for Epilepsy”. *CNS Drugs*, vol. 39, nº 4, abril de 2025, p. 383–401. *Springer Link*, <https://doi.org/10.1007/s40263-025-01163-x>.

[38] Nerbonne, J. M., e R. S. Kass. “Molecular Physiology of Cardiac Repolarization”. *Physiological Reviews*, vol. 85, nº 4, outubro de 2005, p. 1205–53, <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2005>.

[39] Oestereich, M. A., *et al.* “Comprehensive ECG reference intervals in C57BL/6N substrains provide a generalizable guide for cardiac electrophysiology studies in mice”. *Mammalian Genome*, vol. 34, nº 2, 2023, p. 180–99. *PubMed*, <https://doi.org/10.1007/s00335-023-09995-y>.

[40] Panprom, C., *et al.* “The Effects of Anesthetic Drug Choice on Heart Rate Variability and Echocardiography Parameters in Cats”. *Scientific Reports*, vol. 14, nº 1, janeiro de 2024, p. 316, <https://doi.org/10.1038/s41598-024-51162-z>.

[41] Patel, C., *et al.* “Short QT Syndrome: From Bench to Bedside”. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, vol. 3, nº 4, agosto de 2010, p. 401–08, <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.109.921056>.

[42] Paulhus, K., e E. Glasscock. “Seizures and Premature Death in Mice with Targeted Kv1.1 Deficiency in Corticolimbic Circuits”. *Brain Communications*, vol. 7, nº 1, 2025, p. fcae444. *PubMed*, <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcae444>.

[43] Quintanilha, M. V. T., *et al.* “Evaluating a Venom-Bioinspired Peptide, NOR-1202, as an Antiepileptic Treatment in Male Mice Models”. *Toxins*, vol. 16, nº 8, agosto de 2024, p. 342, <https://doi.org/10.3390/toxins16080342>.

[44] Ritter, J. M. *Rang & Dale Farmacologia*. 9º ed, Grupo Gen, 2023.

[45] Samesima, N., *et al.* “Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre a Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos – 2022”. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, vol. 119, setembro de 2022, p. 638–80. *SciELO*, <https://doi.org/10.36660/abc.20220623>.

- [46] Silva, M. F. D., *et al.* “Impacto do Estresse Oxidativo na Saúde Cardiovascular”. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, vol. 6, nº 3, março de 2024, p. 2443–61, <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n3p2443-2461>.
- [47] Silverthorn, D. U. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. 7. ed., Porto Alegre: Artmed, 2017.
- [48] Slater, J. D., *et al.* “The Brain-Heart Connection: Value of Concurrent ECG and EEG Recordings in Epilepsy Management”. *Epilepsy & Behavior Reports*, vol. 28, 2024, p. 100726. *PubMed*, <https://doi.org/10.1016/j.ebr.2024.100726>.
- [49] Valaitienė, J., e A. Laučytė-Cibulskienė. “Oxidative Stress and Its Biomarkers in Cardiovascular Diseases”. *Artery Research*, vol. 30, nº 1, dezembro de 2024, p. 1–12. *arteryresearch.biomedcentral.com*, <https://doi.org/10.1007/s44200-024-00062-8>.
- [50] Wang, J., *et al.* “Epilepsy and Long-Term Risk of Arrhythmias”. *European Heart Journal*, vol. 44, nº 35, setembro de 2023, p. 3374–82. *PubMed*, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad523>.
- [51] WHO. “Epilepsy”. *World Health Organization*, Fevereiro de 2024, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>.
- [52] Zahner, M. R., *et al.* “Benzodiazepine Inhibits Hypothalamic Presympathetic Neurons by Potentiation of GABAergic Synaptic Input”. *Neuropharmacology*, vol. 52, nº 2, fevereiro de 2007, p. 467–75, <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2006.08.024>.
- [53] Zhao, T., *et al.* “An Early Warning of Atrial Fibrillation Based on Short-Time ECG Signals”. *Journal of Healthcare Engineering*, organizado por Yang Gao, vol. 2022, janeiro de 2022, p. 1–7, <https://doi.org/10.1155/2022/2205460>.
- [54] Zhang, C.; Zhang, Y. “Caffeine and dobutamine challenge induces bidirectional ventricular tachycardia in normal rats”. *Heart rhythm O2*, v. 1, n. 5, p. 359–367, 2020, [10.1016/j.hroo.2020.08.005](https://doi.org/10.1016/j.hroo.2020.08.005).