

**Função ventricular direita de corações
isolados de ratos com e sem sinais de
insuficiência cardíaca oito semanas após infarto
agudo do miocárdio**

Viviane G. C. de Moura

Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas
(Fisiologia Cardiovascular)

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, Novembro de 2007

Moura , Viviane G Carvalho, 1978

Função ventricular direita de corações isolados de ratos com e sem sinais de insuficiência cardíaca oito semanas após infarto agudo do miocárdio. [Vitória] 2007

106 p., 29,7 cm (UFES, M. Sc., Ciências Fisiológicas, 2007)

Dissertação, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGCF.

1. Infarto do Miocárdio 2. Insuficiência Cardíaca 3. Coração isolado 4. Ratos

**Função ventricular direita de corações
isolados de ratos com ou sem sinais de
insuficiência cardíaca oito semanas após infarto
agudo do miocárdio**

Viviane G. C de Moura

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas – Fisiologia Cardiovascular

Aprovada em 13/11/2007 por:

Prof.^a Dr^a Ivanita Stefanon - Orientadora, UFES

Prof. Dr. Dalton Valentim Vassallo - UFES

Prof. Dr. Aloir Queiroz de Araújo Sobrinho - UFES

Coordenador do PPGCF: Prof. Dr. Luiz Carlos Schenberg

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Vitória, Novembro de 2007

*“Não tenho palavras para agradecer Tua bondade.
Dia após dia me cercas com fidelidade.
Nunca me deixes esquecer que tudo que tenho,
tudo que sou, e o que vier a ser
vem de Ti, Senhor...”*
(APV)

*Este trabalho é dedicado
à minha mãe, minha grande mestre, Ivone, e
ao meu amor, Gamaliel.*

Agradecimentos

Ao meu amigo fiel, socorro bem presente em todos os momentos vividos: Deus, a quem devo a minha existência.

À minha querida mamãe, que me proporcionou, durante anos de dedicação e abdicção, condições de me tornar quem hoje sou.

Ao amor da minha vida, Gamaliel, meu oásis nos momentos de deserto e a quem, cada dia, amo com mais intensidade.

À Prof^a Dr^a Ivanita Stefanon por ter me aceito no laboratório e com muita paciência, compartilhado comigo parte de seu vasto conhecimento, e, além disso, pelo exemplo de extrema dedicação naquilo que faz!

Ao Prof. Dr. Dalton Valentim Vassallo, o nosso precioso “CHEFE”, por tantos momentos de incentivo e por sua intrigante capacidade de se tornar tão querido em tão pouco tempo.

Ao Enildo pela disponibilidade nas primeiras análises hemodinâmicas e a realização dos infartos e eletrocardiogramas.

À minha grande amiga Juliana. Obrigada por todo apoio nos momentos em que mais precisei, e por ter compartilhado comigo tanto os momentos difíceis quanto os alegria!

Às minhas grandes amigas Edna e Fabiana por sempre me apoiarem além dos valiosíssimos conselhos e oportunidades compartilhadas.

À Luciana pela paciência e compreensão em dividir seus conhecimentos e a preparação do Langendorff.

À Aurélia pela amizade e disposição e, sobretudo pelo seu excelente trabalho que frutificou neste.

Aos demais amigos do LEMC que torceram por mim e se tornaram minha terceira família: Alessandra, Altemar, Antídeo, Eduardo, Fernanda, Gabriel, Guilherme, Juli Kelly, Karina, Larissa, Lélia, Lili, Lorena, Miriam, Nelson, Priscila, Rogério, Saulo, e Thaís.

Aos professores da pós-graduação em Ciências Fisiológicas, por todos os conhecimentos transmitidos, que foram de particular importância para realização deste trabalho.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES	09
RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	
1.1 DESEMPENHO CONTRÁTIL DO CORAÇÃO NORMAL	14
1.1.1 O CORAÇÃO COMO UM MÚSCULO	15
1.1.2 O CORAÇÃO COMO BOMBA	18
1.2. O CORAÇÃO INSUFICIENTE	23
1.2.1 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	23
1. 2.2 CLASSIFICAÇÕES DA IC	25
1.2.3 FISIOPATOLOGIA DA IC	27
1.2.4 O ESTUDO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA	29
2 OBJETIVOS	
2.1 OBJETIVO GERAL	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS	34
3.2 TÉCNICA CIRÚRGICA DE INDUÇÃO DO INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	34
3.3 AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA	35
3.4 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO CONTRÁTIL DO VENTRÍCULO DIREITO IN VITRO	37
3.4.1 MONTAGEM DA PREPARAÇÃO	37
3.4.2 AVALIAÇÃO DA COMPLACÊNCIA DO BALÃO	40
3.4.3 DETERMINAÇÃO DO DESEMPENHO DAS CÂMARAS VENTRICULARES	40
3.5 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS IN VITRO	41
3.5.1 AVALIAÇÃO DA AUTO-REGULAÇÃO HETEROMÉTRICA	41
3.5.2 AVALIAÇÃO DA AUTO-REGULAÇÃO HETEROMÉTRICA PELO AUMENTO NA CONCENTRAÇÃO EXTRACELULAR DE CÁLCIO	42
3.5.3 AVALIAÇÃO DA AUTO-REGULAÇÃO HETEROMÉTRICA POR	44

UMA DOSE IN BOLUS DE ISOPROTERENOL	
3.6 AVALIAÇÃO DA ÁREA DE INFARTO	45
3.7 AVALIAÇÃO PONDERAL	45
3.8 IDENTIFICAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	46
3.9 FÁRMACOS E REAGENTES	47
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
5 RESULTADOS	
5.1 AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA E PONDERAL	49
5.2 AVALIAÇÃO DA CONTRATILIDADE MIOCÁRDICA DO VD	54
5.2.1 INTERVENÇÃO HETEROMÉTRICA	54
5.2.1 INTERVENÇÕES HOMEOMÉTRICAS	58
5.2.1.1 RESPOSTA INOTRÓPICA AO CÁLCIO	58
5.2.1.2 RESPOSTA INOTRÓPICA AO ISOPROTERENOL	62
6 DISCUSSÃO	
6.1 AVALIAÇÃO PONDERAL E AS ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS	67
6.1.1 AVALIAÇÃO PONDERAL	67
6.1.2 ESTADO HEMODINÂMICO DO VE	67
6.1.3 O REMODELAMENTO DO VE	68
6.1.4 ESTADO HEMODINÂMICO DO VD E SUAS REPERCUSSÕES PULMONARES	71
6.2 DESEMPENHO VENTRICULAR DIREITO <i>IN VITRO</i>	74
6.2.1 AUTO-REGULAÇÃO HETEROMÉTRICA - O MECANISMO DE FRANK-STARLING	74
6.2.1 AUTO-REGULAÇÃO HOMEOMÉTRICA – RESPOSTA INOTRÓPICA POSITIVA AO CÁLCIO	75
6.2.1.1 O PAPEL DO RETICULO SARCOPLASMÁTICO (RS)	76
6.2.1.2 PAPEL DOS CANAIS DE CÁLCIO	80
6.2.2 AUTO-REGULAÇÃO HOMEOMÉTRICA-RESPOSTA INOTRÓPICA POSITIVA AO ISOPROTERENOL	80
7 CONCLUSÃO	84
8 REFERÊNCIAS	85

Lista de abreviaturas, símbolos e unidades:

AI = Área de infarto

bpm = Batimentos por minuto

β_1 , β_2 , β_3 : subtipos de receptores adrenérgicos

Ca^{2+} = Íon cálcio

DC = Débito cardíaco

dP/dt - VD = Primeira derivada negativa de pressão do ventrículo direito

dP/dt + VD = Primeira derivada positiva de pressão do ventrículo direito

EPM = Erro padrão da média

FC = Freqüência cardíaca

g = gramas

IC = Insuficiência Cardíaca

IAM = Infarto agudo do Miocárdio

INF = Infarto sem insuficiência cardíaca

i.p = via intraperitoneal de administração de fármacos

M = Molar

mg = miligramas

mM = Milimolar

mmHg = Milímetros de mercúrio

mmHg/s = Milímetros de mercúrio por segundo

ms = Milissegundos

n = Número de animais

ONU = Organização das Nações Unidas

PAD = Pressão arterial diastólica

PAM = Pressão arterial média

PAS = Pressão arterial sistólica

PC = Peso corporal

PD = Pressão diastólica do ventrículo direito

PDf = Pressão diastólica final

PSVD = Pressão sistólica isovolumétrica do ventrículo direito

Δ PSVD = Pressão sistólica isovolumétrica desenvolvida do ventrículo direito

PPC = Pressão de perfusão coronariana

PP/PC = Razão peso do pulmão e peso corporal

PSVE = Pressão sistólica no ventrículo esquerdo

RS = Retículo sarcoplasmático

s = Segundos

SUS = Sistema Único de Saúde

TnC = Troponina C

TnI = Troponina I

TnT = Troponina T

VD = Ventrículo direito

VD/PC = Razão peso do ventrículo direito e peso corporal

VE = Ventrículo esquerdo

VE/PC = Razão peso do ventrículo esquerdo e peso corporal

RESUMO

Trabalhos recentes deste grupo de pesquisa têm demonstrado que ratos que sofrem infarto agudo do miocárdio (IAM), com a mesma área de infarto, podem evoluir ou não para insuficiência cardíaca (IC). O estudo de tiras isoladas de ventrículo direito demonstrou que a contratilidade está preservada após IAM quando não há evidência de IC em ratos com mesma área de infarto. Restava ainda avaliar se esse mesmo padrão de resposta seria observado no coração como bomba. Na preparação de Langendorff, é possível avaliar, através de intervenções inotrópicas, o desempenho ventricular de forma independente de quaisquer mecanismos extrínsecos de controle da contratilidade. A proposta deste estudo foi investigar a função ventricular direita em corações, contraindo isovolumetricamente, de animais com e sem sinais de IC após 8 semanas de IAM. Para tanto, ratos Wistar, machos, foram subdivididos em 3 grupos: Controle (SHAM, n= 11); Infarto sem sinais de IC (INF, n= 11) e Infarto com sinais de IC (IC, n= 11). Os resultados da análise *in vivo* evidenciaram melhora da função ventricular direita no grupo IC (PSVD: $48 \pm 2,2^*$ mmHg; PDfVD: $4,5 \pm 0,8^*$ mmHg; dP/dt+ VD: $2046 \pm 226^*$ mmHg/s; dP/dt- VD: $1807 \pm 84^*$ mmHg/s; *p<0,05) sem alteração no grupo INF (PSVD: $31 \pm 2,6$ mmHg; PDfVD: $1,2 \pm 0,4$; mmHg; dP/dt+ VD: 1192 ± 165 mmHg/s; dP/dt- VD: 1239 ± 156 mmHg/s). No grupo IC foram incluídos os ratos que apresentaram aumento na PDf VE (IC= $13,0 \pm 1,8^*$ vs INF= $2,6 \pm 0,5$; SHAM= $3,2 \pm 0,4$ mmHg; *p<0,05), hipertrofia do VD e um aumento do peso úmido do pulmão. A área de infarto foi igual entre os grupos (INF= $27,6 \pm 1,2$ e IC= $29,2 \pm 0,8\%$). Os resultados *in vitro*, entretanto, foram diferentes dos observados no animal *in vivo*. Tanto o mecanismo heterométrico de regulação da contratilidade, obtido pela curva estiramento-tensão, (PD de 0 a 30 mmHg), quanto o mecanismo homeométrico, obtido pela curva concentração resposta de $[Ca^{+2}]_e$ (0,62 mM até 3,75 mM) e uma dose *in bolus* de Isoproterenol (5×10^{-5} M) estavam prejudicados no VD dos animais IC. Portanto, os principais achados deste trabalho são: ratos infartados com sinais de IC apresentam um desempenho ventricular direito melhor *in vivo* do que *in vitro*. Tais observações sugerem que no coração insuficiente, os mecanismos de adaptação neuro-humorais são essenciais para manter sua função mecânica em detrimento da

sua função de bomba. Segundo, que os animais INF, com mesma área de infarto que os IC, mantiveram preservada a função ventricular direita *in vivo*. Estes dados sugerem que, nestes animais, a IC não foi dependente da área de infarto.

ABSTRACT

Recent studies performed in our laboratory demonstrated that rats submitted to myocardial infarction (MI), presenting same infarct area, may develop or not heart failure (HF). Moreover, the study of right ventricle (RV) isolated strips showed that contractility is preserved following MI in rats without HF signs with similar infarct area. However, it is unknown if such response occurs in the isolated heart preparation. In Langendorff perfused hearts is possible to evaluate the contractile performance by using inotropic interventions independent of any extrinsic mechanism of contractility control. Thus, the aim of the present study was to investigate the RV performance of hearts under isovolumetric contraction of rats with and without HF signs after 8 weeks of MI. Male Wistar rats were divided in three groups: control (SHAM, n= 11); infarction without HF signs (INF, n= 11) and infarction with HF signs (HF, n= 11). The *in vivo* results showed improvement of RV function in the HF group (RVSP= $48 \pm 2.2^*$ mmHg; RVEDP= $4.5 \pm 0.8^*$; mmHg; dP/dt+= $2046 \pm 226^*$ mmHg/s; dP/dt-= $1807 \pm 84^*$ mmHg/s; *p<0.05). In the INF group the RV function remained unaltered (RVSP= 31 ± 2.6 mmHg; VEDP= 1.2 ± 0.4 mmHg; dP/dt+= 1192 ± 165 mmHg/s; dP/dt-= 1239 ± 156 mmHg/s). The HF group included the animals that presented increase in LVEDP (HF= $13.0 \pm 1.8^*$ vs. INF= 2.6 ± 0.5 ; SHAM= 3.2 ± 0.4 mmHg; *p<0.05), RV hypertrophy and increase on wet weight of lungs. The infarct area was similar between groups (INF= 27.6 ± 1.2 e HF= $29.2 \pm 0.8\%$). Nevertheless, *in vitro* results were different of those obtained *in vivo*. The heterometric mechanism of contractility regulation, obtained by stretch-tension curve (DP= 0 - 30 mmHg, and the homeometric mechanism, obtained by $[Ca^{+2}]_e$ response concentration curve (0.62 mM – 3.75 mM) and isoproterenol administration (5×10^{-5} M), were impaired in the RV HF animals. The main results presented here demonstrated that infarcted rats with HF signs presented better RV performance *in vivo* than *in vitro*. These findings suggest that, in the HF animals, the neurohumoral mechanisms are important to maintain the heart function. Second, INF rats presenting the same infarct area, showed a normal RV function *in vivo*, which suggest that, in these animals, the HF are not dependent on the infarct size.

INTRODUÇÃO:

1. DESEMPENHO CONTRÁTIL DO CORAÇÃO NORMAL

O coração, como elemento do sistema cardiovascular, interage perfeitamente com uma rede de outros sistemas que compõem a complexidade de um organismo em perfeita homeostasia. Para a completa compreensão dos distúrbios de sua função, como no estado fisiopatológico da Insuficiência Cardíaca (IC), é necessário estudar os mecanismos que lhe garantem o funcionamento adequado. Portanto a avaliação do desempenho, função e contratilidade ventriculares são importantes ferramentas que podem ser utilizadas na diagnose bem como no prognóstico de diversas cardiopatias estabelecidas.

O desempenho do coração se restringe a função de bomba do ventrículo refletida no débito cardíaco (DC) expresso em volume por minuto. A função ventricular agrega ao desempenho alguma medida de pré-carga imposta a este como o volume diastólico final (VDf), dimensão, pressão ou estresse de parede. Por fim, a contratilidade, também reconhecida com o estado inotrópico, refere-se à identidade muscular do miocárdio que é refletida pela qualidade da contração da fibra. (Colluci e Braunwald, 1997). Parece importante, dessa forma, a avaliação do coração como um músculo que desempenha uma função de bomba no organismo e auxilia os demais órgãos e tecidos realizarem suas atividades.

1.1 O CORAÇÃO COMO UM MÚSCULO

O coração é constituído por vários tipos celulares, dentre elas, destacam-se as células musculares denominadas miócitos. Nestas é possível identificar a repetição organizada de uma estrutura responsável pela mecânica contrátil: o sarcômero, que ocupa cerca de cinquenta por cento da massa celular. Devido ao perfeito alinhamento entre estas unidades repetidas, o músculo cardíaco se assemelha ao esquelético por sua aparência estriada. A estrutura sarcomérica é por sua vez constituída de proteínas que compõem as miofibrilas. Estas são constituídas por três tipos de proteínas, a saber: proteínas contráteis, responsáveis diretamente pelo processo contrátil; as proteínas regulatórias que modulam a interação entre as proteínas contráteis e as proteínas estruturais, que mantêm a estrutura do sarcômero e fornecem elasticidade e extensibilidade a fibra. Os miofilamentos contráteis incluem o miofilamento fino, composto pela proteína contrátil actina e o complexo regulatório troponina-tropomiosina, bem como o miofilamento grosso, formado por moléculas de miosina. A actina possui sítios ativos que se interagem com a miosina. A interação entre estes miofilamentos gera força e encurtamento do músculo que é assim alcançado devido uma seqüência de eventos subseqüentes à uma excitação elétrica promovida pelo potencial de ação cardíaco. Tal conjunto de eventos, envolvendo estruturas específicas da célula, íons e outras proteínas além dos miofilamentos contráteis é assim denominado acoplamento excitação-contração.

O miócito, como uma célula excitável, é capaz de gerar potenciais de ação através de uma seqüência de alterações tempo e voltagem-dependentes na permeabilidade de sua membrana plasmática aos íons sódio, potássio, cálcio e cloreto. A excitação do sarcolema leva à abertura dos canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes do tipo-L, que irão promover a entrada de pequena quantidade deste íon para dentro da célula. O Ca^{2+} presente no interior da célula, no início da contração, ligar-se-á aos receptores de rianodina do retículo sarcoplasmático (RYR2) que por sua vez promoverá a liberação de uma grande quantidade de Ca^{2+} para ativação dos miofilamentos contráteis, que se denomina de liberação de Ca^{2+} - Ca^{2+} induzida (Fabiato, 1985, Ferrier *et al.*,

2001). Os sítios de ativação da actina estão bloqueados pela tropomiosina, e esta última encontra-se ligada à troponina que, por sua vez, possui três subunidades para ligação com a tropomiosina. Quando a subunidade I da troponina (TnI) interage com a tropomiosina, o sítio ativo da actina é inibido. A subunidade C da troponina (TnC) possui alta afinidade pelo íon Ca^{2+} . Em virtude do aumento de sua concentração no citoplasma do miócito, o cálcio se difunde em direção as miofibrilas e interage no miofilamento fino com a TnC, e conseqüentemente a tropomiosina é afastada removendo a inibição à ligação de actina e miosina. Ainda na presença da ligação Ca^{2+} -troponina C, uma outra subunidade da troponina encontra-se ligada à tropomiosina, a TnT. A interação entre troponina T e tropomiosina faz com que essa última se desloque expondo o sítio de ligação da actina. É então que a miosina se liga à actina promovendo a contração (Langer, 1992; Moss *et al.*, 2004). Durante a diástole uma substancial proporção de pontes cruzadas entre os miofilamentos contráteis está fisicamente bloqueada pelo próprio filamento fino, e também são caracterizadas pontes cruzadas em um estado de ligação fraco e incapaz de gerar força. Durante a sístole o cálcio liga-se a sítios protéicos regulatórios que permitirão a liberação do estado físico de bloqueio dos miofilamentos contráteis (Solaro e Rarick, 1998).

Recentemente foi descrita uma proteína em cardiomiócitos ventriculares que exerce ações inotrópicas através da modulação da homeostase do cálcio e da função dos miofilamentos, a proteína S100A1. Ela está localizada no retículo sarcoplasmático interagindo com o complexo protéico, a bomba de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático-fosfolambam, com os RyR2, também nas mitocôndrias e em associação com a titina no sarcômero. No miocárdio normal parece que sua função inotrópica está envolvida no aumento do efluxo de cálcio do retículo sarcoplasmático, melhorando a função sistólica por um aumento da abertura dos receptores de rianodina durante a sístole. A melhora da função diastólica é explicada por uma diminuição da probabilidade de abertura desses mesmos receptores e aumento da atividade da SERCA2a. Também está evidente que a S100A1 modula a função da titina, e dessa forma aumenta a sensibilidade ao cálcio dos miofilamentos facilitando o desempenho sistólico e diastólico. E por fim, por estar associada à mitocôndria, parece poder acoplar o trabalho

cardíaco com a produção energética mitocondrial dependente de cálcio (Most *et al.*, 2007).

O relaxamento da fibra seguinte à contração ocorre devido à remoção do cálcio que ativa a interação entre os miofilamentos, e é alcançado graças a quatro sistemas de transporte que removem o excesso deste íon do citossol. O principal sistema de transporte de cálcio envolve a ativação de uma proteína do retículo sarcoplasmático que recapta ativamente o cálcio citosólico para o seu interior. Dessa forma, o Ca^{2+} é re-captado ativamente e re-armazenado dentro do retículo sarcoplasmático pela bomba de Ca^{2+} (Ca^{2+} ATPase) do retículo sarcoplasmático (SERCA-2a). O bombeamento do Ca^{2+} pela SERCA-2a é influenciado pelo estado de fosforilação de uma outra proteína que se encontra associada à SERCA-2a, a fosfolambam (Le Peuch *et al.*, 1980; Koss *et al.*, 1996). Quando não fosforilada, a fosfolambam inibe a SERCA-2a. Quando fosforilada a fosfolambam deixa de inibir a SERCA-2a que captará Ca^{2+} para dentro do retículo sarcoplasmático promovendo o relaxamento da fibra (Frank *et al.*, 2003; Yano *et al.*, 2005). Um segundo sistema de extrusão de cálcio é o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ que contribui para a remoção do Ca^{2+} do citoplasma durante a diástole promovendo a troca de 3 Na^+ , entrando, para 1 Ca^{2+} , saindo da célula (Wier *et al.*, 1989; Santi *et al.*, 1995). A força que movimenta este trocador advém do gradiente eletroquímico do Na^+ , mantido pelo bombeamento ativo da Na^+/K^+ -ATPase. Outros dois transportadores de Ca^{2+} do citosol menos significativos quantitativamente são a bomba de Ca^{2+} do sarcolema e o uniporter mitocondrial de Ca^{2+} (Bers, 2000).

O acoplamento excitação-contração é uma cascata de transdução de sinais mediados pelo íon cálcio, e este por sua vez, é capaz de auto-regular tais eventos através da ligação a uma proteína que serve como um sensor intracelular de cálcio, a calmodulina (CaM). Esta proteína citosólica modula eventos celulares através da ativação da proteína quinase (CaMKII) ou por simples ação direta. Devido à ativação desta quinase o estado de fosforilação de outras proteínas é alterado como os canais de rianodina, os canais de cálcio do tipo L, a SERCA e o fosfolambam, e dessa forma é alterada a homeostase do cálcio intracelular (Zhang *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2003). Também tem sido descrita a ação direta da CaM no acoplamento excitação-contração como um importante mecanismo na terminação da liberação de cálcio do retículo

sarcoplasmático. Esta pode ser explicada por uma alteração na cinética dos receptores de rianodina, de forma que reduz sua probabilidade de abertura e aumenta a duração de seu tempo de fechamento (Xu e Meissner, 2004).

Portanto, como músculo o coração desenvolve ciclos de contração-relaxamento que permitem a este órgão realizar sua função de manutenção da homeostasia garantindo a adequada perfusão aos demais tecidos.

1.2 O CORAÇÃO COMO BOMBA:

A avaliação do desempenho ventricular assume a premissa de que, como uma bomba, o coração recebe um determinado volume de sangue e completamente o ejeta através da aorta aos tecidos periféricos tornando-os capazes de desempenharem suas funções no organismo. Logo, a medida do débito cardíaco (DC), que é o volume de sangue ejetado por minuto pelo coração, é uma medida direta da função de bomba que este músculo é capaz de exercer.

Na avaliação do DC, como uma medida do desempenho da bomba miocárdica, é interessante destacar que este é estreitamente dependente da pré e pós-carga além da contratilidade do miocárdio. Para uma melhor compreensão dos conceitos de pré e pós-carga é necessário reportar-se a relação matemática de Laplace, que estabelece que para uma estrutura esférica fechada, como o ventrículo, suas paredes sofrem determinada tensão, que é denominada estresse de parede. Esta, por sua vez, é dependente diretamente da pressão dentro da cavidade e de seu raio interno, e inversamente da espessura da parede ventricular (Jones *et al.*, 2000). Logo, a pré-carga pode ser entendida como o estresse de parede no final do enchimento diastólico e a pós-carga como o estresse de parede durante a ejeção sistólica (Norton, 2001). Depreende-se, portanto que quaisquer alterações que possam influenciar a tensão sofrida pela parede ventricular na diástole e sístole, como um aumento de pressão ou uma dilatação da câmara irão diretamente afetar o DC. É relevante ressaltar que, quando o estresse de

parede aumenta, o aumento da espessura da parede pode compensar os mecanismos que levaram o aumento dessa tensão (Capasso *et al.*, 1992) e, portanto, um remodelamento estrutural ocorre a fim de reduzir a tensão de parede da câmara reduz também a sua demanda energética. (Graham *et al.*, 1968; Mill *et al.*, 2004).

Em relação à contratilidade pode-se defini-la como o estado em que a fibra encontra-se capaz de se contrair e envolve a máxima interação entre os íons cálcio e as proteínas contráteis. Como já considerado, a contratilidade é reconhecida com estado inotrópico do músculo e esta pode influenciar o DC. Intervenções que cursam com aumento do trânsito sarcolemal de cálcio, e, por conseguinte, com o aumento citosólico deste íon, ativam a interação entre os miofilamentos e em última análise, o desenvolvimento de força muscular que culminará com um aumento da ejeção ventricular. Um índice de contratilidade muito utilizado é a taxa de variação da pressão no tempo (dP/dt). Este índice é muito sensível a alterações no estado inotrópico e por isso, podem revelar em intervenções inotrópicas agudas, o grau de contratilidade do músculo e conseqüentemente, o seu desempenho como bomba (Okoshi *et al.*, 1999).

O DC, uma vez influenciado principalmente por estes fatores descritos acima é finamente regulado através de mecanismos intrínsecos e extrínsecos. Estes últimos se referem a uma regulação neuro-humoral, enquanto os mecanismos intrínsecos de controle do DC são aqueles que podem ser desconectados de estímulos circulatórios, e que, portanto são exclusivos do próprio órgão em questão.

Na preparação de coração isolado é possível estudar os mecanismos intrínsecos que podem envolver tanto a auto-regulação heterométrica, como a auto-regulação homeométrica (Sarnoff e Mitchell, 1962). A regulação heterométrica, também denominada de Lei de Frank-Starling do coração, baseia-se na propriedade intrínseca do miocárdio em variar sua força de contração, em poucos batimentos, em função da pré-carga a ele imposta (Patterson e Starling, 1914; Patterson *et al.*, 1914; Allen e Kentish, 1985). Esta capacidade intrínseca foi inicialmente explicada devido a uma superposição ótima dos miofilamentos contráteis que o estiramento das fibras proporciona, possibilitando um maior número de ligações cruzadas entre a miosina e a actina (Huxley e Hanson, 1954). Em seguida, foi demonstrada a ocorrência de

aumento da sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio, dependente do comprimento muscular em repouso (Jewell, 1977; Stefanon *et al.*, 1990) e mais especificamente, verificou-se que a troponina C cardíaca torna-se mais sensível ao cálcio quando o músculo é estirado e, esta sensibilidade é progressivamente aumentada em direção ao centro do sarcômero (Babu e Gulati, 1988; Gulati *et al.*, 1992). Experimentos recentes têm fornecido uma nova hipótese ainda mais elegante para explicar o aumento da sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio e a gênese do aumento da força dependente do estiramento. Esta postula que a sensibilidade ao cálcio, que é a base da relação de Frank-Starling, depende não apenas de alterações no comprimento do sarcômero por si só, mas a redução do espaçamento lateral entre os miofilamentos (Fuchs e Smith, 2001). A modulação deste espaçamento lateral é permitida pela presença da titina, uma proteína que liga o miofilamento grosso a linha z do sarcômero, e que pode ser estirada e assim promover uma aproximação dos miofilamento, e conseqüentemente maior probabilidade de formação de pontes cruzadas (Fukuda *et al.*, 2005).

A relação de Frank-Starling é explicada não só pelo aumento da sensibilidade dos miofilamentos, mas também pelo aumento gradual no transiente de cálcio que ocorre após alguns batimentos seguintes ao estiramento do miocárdio. Postula-se que as alterações na força contrátil dependente do estiramento muscular tenham, portanto, dois componentes: um componente rápido, onde imediatamente após o estiramento a força contrátil é aumentada, que pode ser explicado por aumento da sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio, e um componente lento, que cursa com um aumento lento da força contrátil devido a um aumento gradual do transiente intracelular de cálcio (Allen e Kurihara, 1982). Sendo assim, mudanças na função cardíaca induzidas por estiramento podem também serem explicadas por canais iônicos ativados por estiramento localizados no plasmalema de cardiomiócitos (Tavi *et al.*, 1998). Estes canais têm sido bem descritos e sua probabilidade de abertura tem sido associada ao estresse mecânico da membrana (Morris, 1990). São bem documentados vários tipos de canais ativados por estiramento em cardiomiócitos e parece que a maior parte deles é um tipo de canal com considerável permeabilidade a cátions mono e di-valentes (Sachs, 1988). A sua ativação leva a um aumento direto da concentração intracelular de cálcio e

também de sódio devido a sua permeabilidade a estes íons. O aumento deste último íon ativa o trocador sódio-cálcio no modo reverso promovendo um acúmulo adicional de cálcio na célula. Mais ainda, o aumento de cálcio leva a uma maior recaptção deste íon pelo retículo sarcoplasmático e conseqüentemente uma maior liberação sistólica de cálcio (Tavi *et al.*, 1998; Calaghan e With, 2004).

A auto-regulação homeométrica, que também pode ser identificada como um mecanismo intrínseco de regulação do DC, não está relacionada à alterações no comprimento diastólico da fibra, mas sim à aumentos da pressão aórtica e freqüência cardíaca. Quando a freqüência cardíaca é aumentada, a força de contração ventricular progressivamente também aumenta, em determinados limites, fenômeno conhecido como “Efeito Escada”. A explicação mais provável para tal fato é que repetidas despolarizações do miócito resultam em maior influxo de cálcio pelos canais voltagem dependentes bem como o aumento do sódio citosólico, que por sua vez, também aumenta o cálcio intracelular através do trocador sódio-cálcio (Endoh, 2006). Outro mecanismo envolvendo a auto-regulação intrínseca da contratilidade é o aumento da pressão aórtica na gênese de maior força de contração ventricular, este efeito foi observado em 1912 por Anrep, G von e ficou conhecido como efeito Anrep. Ele se caracteriza por um efeito inotrópico positivo secundário a um súbito aumento da pressão aórtica. (Anrep, 1912; Sarnoff *et al.*, 1960).

É bem estabelecido que a função cardíaca é modulada pelo sistema nervoso autônomo, através de receptores específicos localizados na membrana sarcolemal (Brodde *et al.*, 1999). E sem dúvida, é significativo considerar que a regulação extrínseca do DC através da ativação do sistema nervoso simpático representa um importante mecanismo fisiológico de regulação homeométrica. A ativação simpática libera, como principal neurotransmissor, a noradrenalina dos terminais simpáticos do coração que por sua vez, agirá em seus receptores de membrana. Estes são em sua maioria do tipo β que por sua vez já foram identificados três subtipos (β_1 , β_2 , β_3). Tais subtipos estão acoplados a uma proteína G estimulatória (Gs) que eleva a concentração intracelular de AMPcíclico, e este por sua vez ativará uma cascata de fosforilações de proteínas através da ativação da proteína quinase A (Brodde *et al.*, 2006). O desfecho final é a fosforilação de proteínas regulatórias envolvidas no

acoplamento excitação-contração, incluindo canais de cálcio do tipo L, fosfolambam e proteínas dos miofilamentos (Xiao *et al.*, 1999). Logo a ativação β -adrenérgica promove um aumento tanto na contratilidade quanto no relaxamento muscular (Kang *et al.*, 2007). O aumento do transiente intracelular de cálcio é modulado por fosforilação de canais de cálcio do tipo L. Recentemente em 1995, foi proposto por Charnet e colaboradores, que esta regulação depende de proteínas associadas ao canal de cálcio. Em 1999, Haase e colaboradores, identificaram uma proteína, a Ahnak, que parece ser o alvo de fosforilação da PKA. A Ahnak, quando não fosforilada atua como um supressor do canal de cálcio, e sua fosforilação permite um aumento na probabilidade de abertura dos canais e conseqüentemente aumento da corrente de cálcio (Haase, 2006).

Em preparação de coração isolado pode-se, conseqüentemente, avaliar esse importante mecanismo fisiológico de regulação homeométrica do coração, submetendo a preparação a doses de catecolaminas a fim de mimetizar a atividade simpática e dessa forma estudar sobre as possíveis etapas envolvidas na ativação da contratilidade cardíaca dessas intervenções inotrópicas.

2- O CORAÇÃO INSUFICIENTE:

2.1 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS:

Segundo dados do departamento de informação pública da ONU, publicado em abril do corrente ano, a população mundial chegará a mais de 9,2 bilhões de habitantes em 2050 (Commission on Population and Development-ONU, 2007). Um dos motivos do aumento da população, segundo o estudo, é a maior longevidade da população. Logo, as populações de cada vez mais países vão envelhecer em uma velocidade alarmante. Com isso, o número de pessoas com mais de 60 anos de idade passará dos 673 milhões atuais aos dois bilhões em 2050. Estima-se que no ano de 2025 o Brasil terá a sexta maior população de idosos do planeta (Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da IC, 2002; Mesquita *et al.*, 2004), e que em 2050 deverá apresentar uma estrutura etária semelhante à atual estrutura etária dos países desenvolvidos (Kilsztajn *et al.*, 2003). Do ponto de vista puramente demográfico, o processo, de envelhecimento da população no Brasil deve-se, unicamente, ao rápido e sustentado declínio da fecundidade. Se porventura, no futuro próximo, houver avanços em termos de queda significativa de mortalidade, concentrada nas idades avançadas, haverá aceleração deste processo (Carvalho e Garcia, 2003).

Esta estatística alarmante deve ser considerada tendo em vista as alterações cardiovasculares que ocorrem nesta faixa etária e que aumentam o risco das doenças cardiovasculares (DCV), consideradas a principal causa de morte nos idosos. Também em relação ao gasto com saúde, o envelhecimento da população deverá acarretar um aumento do gasto com saúde em relação ao PIB de aproximadamente 30% até 2050, dos atuais 8,2% para 10,7% (Kilsztajn *et al.*, 2003).

A análise das principais causas de óbito entre os idosos brasileiros, no ano 2002, identifica as doenças do aparelho circulatório (36,0%), as neoplasias (14,7%) e as doenças do aparelho respiratório (12,6%) como as mais

importantes, correspondendo, somente essas três, a mais de 60% do total de óbitos (Maia e cols., 2005).

Dentre as DCV de maior prevalência na população está a insuficiência cardíaca (IC), que a partir da última década do século XX, tornou-se um dos principais problemas em saúde pública (Mano, 2006). A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome endêmica em todo o mundo, que pode se manifestar como doença crônica estável ou descompensada. De acordo com a I Diretriz Latino-Americana de Insuficiência Cardíaca Descompensada, a ICD, pode ser aguda (de recente começo), descompensada propriamente dita (com instabilidade de um quadro crônico), ou refratária, persistente. É justamente a ICD a principal causa de internação nos países desenvolvidos. No Brasil, trata-se da terceira causa geral de internação e a primeira cardiovascular, apresentando alta mortalidade.

A estatística americana estima que a insuficiência cardíaca afete mais de 3 milhões de pacientes nos Estados Unidos — quase 1,5% da população adulta, sendo a principal causa de mortalidade cardiovascular, com 200.000 mortes por ano. Atualmente, é a doença que mais cresce entre as doenças cardiovasculares naquele país, onde 400.000 pessoas desenvolvem insuficiência cardíaca pela primeira vez a cada ano. É responsável pela hospitalização de quase um milhão de americanos anualmente e é a principal causa de hospitalização no idoso (Mano, 2006). Apesar dos avanços na prevenção e tratamento das doenças cardíacas terem reduzido a mortalidade cardiovascular em muitos países ocidentais, a insuficiência cardíaca vem aumentando sua incidência e prevalência. A sobrevida após o diagnóstico permanece pequena, sendo de 1,7 a 3,2 anos para homens e mulheres, respectivamente (Mesquita *et al.*, 2004). Estima-se que, após o diagnóstico, menos de 15% dos pacientes estarão vivos entre 8-12 anos (Bocchi *et al.*, 2005).

No Brasil, apesar da carência de dados a respeito desta afecção, estima-se que 6,4 milhões de brasileiros sofram de IC. As admissões hospitalares por IC representaram no Brasil, aproximadamente 4% de todas as hospitalizações e 31% das internações do aparelho circulatório totalizando cerca de 380 000 hospitalizações/ano e uma média de duração de 5,8. Além disso, contribui com uma taxa de 5,6 a 6,0% de mortalidade hospitalar (DATASUS). Cerca de um

terço dos internados no SUS com doenças cardíacas é portador de IC. Além disso, entre os pacientes com mais de 60 anos, a IC é a principal causa de internação (Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da IC, 2002).

Araújo *et al.*, 2005 avaliaram o custo da IC no Sistema Único de Saúde através de um estudo transversal, retrospectivo, que estimou a utilização e valoração de recursos, no período de 12 meses, nos pacientes em seguimento ambulatorial de Cardiologia da Universidade Federal Fluminense (UFF). O custo total foi de R\$ 444.445,20, sendo que a hospitalização representou 39,7% e a utilização de medicamentos 38,3% do custo direto. Segundo dados recentes do DATASUS, o custo total da IC no Brasil é próximo de 250 milhões de reais ao ano.

2.2 CLASSIFICAÇÕES DA IC:

Em 1928 a “*New York Heart Association*” publicou uma classificação para os pacientes com doença cardíaca baseado na sua severidade clínica e seu prognóstico. Tal classificação tem sido atualizada nas sete edições subseqüentes da “*Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels*” (Little, Brown & Co . 1994). A nona edição revisada foi publicada em 1994, tendo como base o grau de esforço para produzir sintomas, na qual os pacientes são divididos em quatro classes funcionais:

Classe funcional I - Paciente assintomático em suas atividades físicas habituais.

Classe funcional II - Paciente assintomático em repouso. Sintomas são desencadeados pela atividade física habitual.

Classe funcional III – Paciente assintomático em repouso. Atividade menor que a habitual causa sintomas.

Classe Funcional IV - Paciente com sintomas (dispnéia, palpitações e fadiga), ocorrendo às menores atividades físicas e mesmo em repouso.

Um outro tipo de classificação para a insuficiência cardíaca foi proposto pela *American College of Cardiology* e *American Heart Association* (ACC/AHA) (Hunt *et al.*, 2005). Esta classificação ressalta a progressão da IC e é dividida em quatro estágios:

- A. Alto risco / assintomático.
- B. Alterações estruturais assintomáticas.
- C. Disfunção sistólica do ventrículo esquerdo e IC sintomática.
- D. Estágio final da IC.

As manifestações clínicas desta doença variam enormemente e dependem de vários fatores como a exemplo a idade do paciente, a etiologia da doença e as causas precipitantes. Também como já relatado nas diferentes classificações há um amplo espectro de severidade do dano à função cardíaca, indo do mais leve, ao mais avançado, no qual a função bombeadora do coração é incapaz de manter a vida sem ajuda externa. Também, de acordo com as manifestações clínicas, que se originam como consequência do débito cardíaco inadequado e/ou acúmulo de sangue de um ou ambos os ventrículos, inicialmente foram propostas duas diferentes formas de IC. Uma é a insuficiência retrógrada, proposta por James Hooper em 1832, que constitui a insuficiência de um dos ventrículos no esvaziamento efetivo do coração durante a sístole, de modo que o sangue acumula-se retrogradamente no sistema venoso. Mackenzie, em 1932 propôs a teoria da insuficiência anterógrada, que relaciona as manifestações clínicas da IC à liberação inadequada de sangue ao sistema arterial, devido ao menor DC. Parece que ambos os mecanismos atuam na maioria dos pacientes com IC crônica (Braunwald, 1991).

Uma classificação mais utilizada é a insuficiência sistólica e diastólica, que está implícita na definição fisiológica da IC. A disfunção sistólica é a mais comum, correspondendo a 70% dos casos de IC. Esta envolve a diminuição da contratilidade cardíaca e da fração de ejeção e como consequência há um aumento no volume diastólico que leva a uma dilatação cardíaca e elevação da pressão diastólica de VE. A disfunção diastólica por sua vez, corresponde a 30% dos casos de IC. Caracteriza-se pelo menor tamanho da câmara ventricular, hipertrofia e baixa complacência ventricular. Neste caso, a ejeção é normal, porém, à custa de uma elevada pressão de enchimento ventricular. A IC decorrente do IAM é uma combinação das disfunções sistólica e diastólica. A

insuficiência sistólica é causada tanto pela perda crônica do miocárdio por necrose resultante do próprio infarto quanto por perda aguda de contratilidade miocárdica por episódio transitório de isquemia. A insuficiência diastólica é causada pela substituição de tecido muscular normal por tecido fibroso cicatricial com menor distensão e por redução aguda na distensibilidade do miocárdio lesado reversivelmente durante um período de isquemia transitória (Colluci e Braunwald, 1997).

2.3 FISIOPATOLOGIA DA IC:

A IC é uma síndrome clínica complexa classicamente caracterizada por uma anormalidade da função cardíaca que incapacita o coração de bombear sangue de forma compatível com o metabolismo tecidual, ou fazê-lo somente através de elevadas pressões de enchimento (*National Heart, Lung and Blood Institute, 2003*). Pode-se considerá-la como uma síndrome clínica complexa caracterizada por anormalidades na função do ventrículo esquerdo, que é acompanhada por intolerância aos esforços, retenção hídrica e diminuição da expectativa de vida (Colluci e Braunwald, 1997; Mano, 2006). A IC é frequentemente, mas nem sempre, causada por um defeito na contração do miocárdio. Pode ser conseqüente a uma condição, na qual o coração é bruscamente submetido a uma carga que exceda a sua capacidade de trabalho ou que interfiram no enchimento ventricular. Logo a IC pode resultar de três anomalias fundamentais: Um distúrbio da contratilidade ventricular; sobrecargas mecânicas ventriculares de pressão e volume; e distúrbios do enchimento ventricular (Consenso de ICC, 1992).

A fisiologia da IC envolve a interação entre dois fatores; a incapacidade do coração insuficiente em manter o débito cardíaco suficiente para sustentar as funções corporais e o recrutamento de mecanismos compensatórios visando a manutenção da reserva cardíaca (Porth, 2002). Entre os mecanismos compensatórios mais importantes estão o mecanismo de Frank-Starling, a ativação dos mecanismos neuro-humorais bem como o remodelamento e hipertrofia do miocárdio (Colluci e Braunwald, 1997).

O mecanismo de Frank-Starling é ativado pelo aumento da pré-carga, conseqüente a uma retenção de água e sal proporcionada por uma redução do fluxo sanguíneo renal (Colluci e Braunwald, 1997). Entretanto, este mecanismo compensatório torna-se ineficaz, se o coração se enche demais e as fibras se distendem excessivamente. Porém, Holubarsch *et al* (1996) estudaram o mecanismo de Frank-Starling em corações humanos em estágio grave de IC e verificaram que este é mantido, enquanto significantes alterações na distensibilidade diastólica foram evidentes.

Tratando-se do mecanismo neuro-humoral sugere-se que o desenvolvimento da disfunção ventricular é acompanhado por uma ativação de fatores vasoconstritores e vasodilatadores. Os vasoconstritores por sua vez são decorrentes da ativação do sistema nervoso simpático, do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), e também a vasopressina e endotelina. Entre os vasodilatadores estão o fator natriurético atrial, bradicininas e certas prostaglandinas (Consenso de ICC, 1992; Ferrara *et al.*, 2002; Opie, 2002). Observa-se que as forças vasoconstritoras, retentoras de sódio, predominam sobre as vasodilatadoras, natriuréticas, resultando em um aumento da resistência vascular periférica e retenção de sódio e água. A influência neuro-humoral da IC acarreta uma vasoconstrição sistêmica que causa o aumento da resistência vascular sistêmica e diminuição do fluxo sanguíneo aos músculos esqueléticos (Mark, 1995). O trabalho de Francis *et al* (2001) demonstrou que, em ratos com IC, a ativação neuro-humoral e a severidade da disfunção do VE parecem ser variáveis contínuas. O remodelamento descompensatório foi evidenciado por um aumento progressivo no volume diastólico final sem manter o volume sistólico, e, além disso, a resposta humoral demonstrou ser aumentada durante a evolução da doença.

Por fim, o remodelamento ventricular como um dos mecanismos compensatórios requerido na IC, pode ser devido a uma sobrecarga de volume ou de pressão que inicia uma cascata bioquímica de eventos que culminam, em última análise, com o crescimento do miócito e o aumento da síntese de colágeno (Mill *et al.*, 2004). Dentre os mais relevantes estão os sistemas cálcio-calcineurina e o SRAA. A calcineurina é um hormônio peptídico produzido no coração em resposta ao aumento do cálcio citosólico (Shimoyama *et al.*, 1999). Frente a um aumento da pós-carga, a homeostase circulatória só se mantém a

custa de um aumento de força de contração, o que pode ser obtido a partir do influxo de cálcio nas células durante o processo de ativação celular. Isto é conseguido por meio do aumento da corrente de cálcio. É possível que a calcineurina seja um elemento essencial na cascata de desenvolvimento da hipertrofia, pois, em última análise, ela agiria no núcleo desreprimindo genes envolvidos no crescimento celular (Ritter *et al.*, 2002). Em relação ao SRAA, parece que o estiramento por si só, é capaz de aumentar a liberação de angiotensina II pré-formada no coração, que é armazenada em grânulos citoplasmáticos. Este peptídeo parece ter sua ação proliferativa através da ação intracelular da MAP-quinase, que por sua vez, induz a via proliferativa de fibroblastos. (Hattori *et al.*, 2006).

2.4 – O ESTUDO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA:

O progresso alcançado no entendimento da fisiopatologia e tratamento da insuficiência cardíaca congestiva não teria sido possível sem os modelos experimentais em animais, cada um com suas peculiares vantagens e desvantagens (Hasenfuss, 1998). Ratos que sofrem a ligação da artéria coronária descendente anterior e apresentam infarto transmural do miocárdio são utilizados como modelos experimentais de IC. Neste modelo, que simula a causa mais comum de IC em humanos, é possível o estudo dos prejuízos cardiovasculares após o infarto. A magnitude deste prejuízo depende do tamanho do IM (Pfeffer *et al.*, 1979). Em 1991, Pfeffer *et al.* demonstraram que o remodelamento ventricular esquerdo ocorre em diferentes extensões em função tanto do tamanho da lesão bem como do tempo após o infarto. No mesmo ano, Olivetti *et al.*, mostraram que a pressão diastólica final do VE e o estresse de parede diastólico, eram consideravelmente mais acentuados no grupo com área de infarto grande. Os achados destes pesquisadores sugerem que o prejuízo da função ventricular depende da área de infarto, sendo que no grupo com grande área de infarto a magnitude dessa resposta é maior do que no grupo com pequena área.

Este modelo de IC há muito é utilizado. Classicamente, o IAM é capaz de causar de um mínimo prejuízo a uma disfunção ventricular esquerda, em função tanto do tamanho da lesão bem como do tempo após o infarto (Pfeffer *et al.*, 1991, Nahrendorf *et al.*, 2001). Anversa *et al* em 1985 demonstraram que há mecanismos hipertróficos compensatórios no miocárdio remanescente tão precoce quanto 3 dias após o infarto, e a hipertrofia do VD foi associada com o aumento do diâmetro dos miócitos, enquanto que o aumento do diâmetro e do comprimento dos miócitos contribuíram para o crescimento celular do VE. Em 2003, Nahrendorf *et al* também evidenciaram o curso temporal do remodelamento ventricular direito. Hill e Singal (1997), já haviam demonstrado em animais de 8 semanas após infarto, que a IC estava associada a um déficit antioxidante, primeiro no VE e depois no VD. Este ajuste compensatório de antioxidante, observado no VD, poderia servir para preservá-lo contra o estresse oxidativo e sustentar a função cardíaca.

Em 1996, Novaes *et al* estudando as alterações na contratilidade do VD e VE em preparação de músculo isolado, 30 dias após IAM, identificaram uma depressão contrátil do VE enquanto uma preservação no VD. Estes autores sugeriram a existência de diferentes mudanças adaptativas em ambas as câmaras. Stefanon *et al* (1998) demonstraram, no coração isolado, que os animais que sobreviveram 30 dias de IAM, apresentavam sinais de insuficiência cardíaca preservando o mecanismo heterométrico e com uma redução da responsividade ao cálcio no ventrículo direito (VD). Os autores consideraram como sinais de IC a elevação da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDfVE), a hipertrofia do VD bem como a queda no desempenho ventricular esquerdo *in vivo* e *in vitro*. Até então a presença de IC, usando o modelo experimental de infarto, dependia de vários fatores como a área de infarto, o curso temporal da doença e sua localização (Pfeffer *et al.*, 1991; Olivetti *et al.*, 1991; Nahrendorf *et al.*, 2001).

O trabalho de Pereira *et al* (2005) foi o primeiro a identificar que animais que sofriam cirurgia de oclusão da artéria coronária descendente anterior esquerda, apresentando a mesma área de infarto, poderiam ser divididos em dois subgrupos: animais infartados com sinais de insuficiência cardíaca (IC) e animais infartados sem sinais de insuficiência cardíaca (INF). Os autores demonstraram que estes animais apresentavam diferenças marcantes na

reatividade vascular. De acordo com a avaliação hemodinâmica e os sinais de insuficiência, os grupos eram divididos em infartados com e sem sinais de insuficiência. Neste estudo foi observado que em animais sem insuficiência há prejuízo do relaxamento dependente do endotélio e aumento da reatividade à fenilefrina. Já nos animais infartados que evoluíram para a IC, a reatividade à fenilefrina diminuiu. A magnitude das respostas não se correlacionou com a área de infarto, e sim com as alterações hemodinâmicas e vasculares causadas pelo infarto. Também na fase precoce após IM foi possível identificar a distinção entre ratos insuficientes e não-insuficientes, com mesma área de infarto. Apenas o grupo com sinais de insuficiência cardíaca apresenta prejuízo do desempenho ventricular e alteração da reatividade vascular 7 dias após infarto agudo do miocárdio (Faria *et al.*, 2007).

Em 2007, os resultados de Dias *et al.*, pela primeira vez demonstraram a participação da Na⁺K⁺-ATPase (NKA) nas mudanças de reatividade vascular após o 30 dias de INF em anéis isolados de aorta de ratas. Foi verificado que a atividade funcional da NKA, sensível à Ouabaína, em animais IC é modulada pelo endotélio por uma via nitrérgica, assim como nos animais Sham. Embora este mecanismo esteja preservado no grupo IC, ele apresentou-se ausente no INF, o que pode ser atribuído à diminuição da liberação de NO estimulada pela OUA nestes animais. Em ratas na fase aguda do IAM com e sem sinais de insuficiência cardíaca foi observado que a atividade funcional da Na⁺K⁺-ATPase está aumentada nos grupos INF e ICC (Capatto *et al.*, 2007).

Giuberti (2005) estudando a função ventricular direita de ratas 60 dias após IAM demonstraram que com a mesma área de infarto, 50% dos animais apresentavam sinais de IC e estes tinham prejuízo da função mecânica do VD. Subsequentemente, Fernandes (2006) estudaram em ratos infartados de 60 dias a contratilidade miocárdica das câmaras direita e esquerda. Seus resultados evidenciaram que a contratilidade da câmara ventricular esquerda estava prejudicada em ambos os grupos de animais infartados, mas a contratilidade do VD em resposta ao aumento do Ca²⁺ extracelular e ao isoproterenol estava preservada apenas nos animais INF. Estes dados sugerem a existência de diferentes mecanismos adaptativos na câmara ventricular direita de animais com e sem sinais de insuficiência cardíaca decorrente do infarto do miocárdio.

Deste último trabalho ainda restava analisar se as diferenças no VD, observadas nestes dois grupos experimentais, prevaleceriam no coração enquanto bomba. E para tanto, o presente estudo foi conduzido a fim de observar o estado hemodinâmico do VD e em seguida analisar o seu desempenho *in vitro* para uma completa caracterização da dinâmica adaptativa nesta câmara.

OBJETIVOS:

OBJETIVO GERAL:

Avaliar o desempenho ventricular direito, em sua atividade funcional de bomba, em ratos que apresentem ou não sinais de insuficiência cardíaca 8 semanas após IAM, com a mesma área de cicatriz.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

a) estudar a função ventricular direita em uma preparação *in vivo* dos animais 8 semanas após IAM, com e sem sinais de IC;

b) Estudar a função da câmara ventricular direita, na preparação de coração isolado de rato segundo a técnica de Langendorff utilizando as seguintes intervenções inotrópicas:

- Auto-regulação heterométrica da contratilidade cardíaca através da curva de Frank-Starling;
- Regulações homeométricas da contratilidade cardíaca através de dois protocolos experimentais:
 - Aumento da concentração extracelular de cálcio;
 - Uma dose *in bolus* de Isoproterenol capaz de promover máxima resposta inotrópica;

MATERIAIS E MÉTODOS:

1- ANIMAIS EXPERIMENTAIS:

Para a realização desta pesquisa, foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com idades aproximadas de três meses, pesando entre 200-240 gramas. Esses animais foram cedidos pelo biotério do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram mantidos em gaiolas, sob controle de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso de água e ração.

Os experimentos foram realizados conforme os as normas da legislação e ética para a prática Didático-Científico da vivisseção de animais de acordo com a Lei n.º.6.638, de 08 de Maio de 1979. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais Experimentais (EMESCAM Processos 03/2007; 04/2007).

2- TÉCNICA CIRÚRGICA DE INDUÇÃO DO INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO:

Os animais previamente anestesiados em uma cuba de vidro hermeticamente fechada com atmosfera interna saturada de Halotano sofriam o procedimento segundo a técnica descrita por Selye *et al* (1960), e eram mantidos sob anestesia com éter etílico durante toda a intervenção cirúrgica que assim se procedia em no máximo 30 segundos. Entre o terceiro e quarto espaço intercostal esquerdo era feita uma toracotomia, o músculo peitoral era separado e expostas as costelas. O coração era exteriorizado e a artéria coronariana descendente anterior esquerda ligada em uma distância de aproximadamente 3 mm distal à sua origem com o auxílio de um fio mono nylon 6.0. Em seguida o coração era novamente interiorizado ao seu local de origem e o animal cuidadosamente suturado e

retomava a respiração normal. Esta técnica permite a obtenção de infartos transmuralis, nos quais a necrose miocárdica envolve por completo ou quase na sua totalidade a espessura da parede ventricular segundo Pfeffer *et al* (1979).

Um grupo de animais também foi submetido ao mesmo procedimento cirúrgico, exceto pela ligação da artéria coronária, os quais foram identificados neste trabalho como SHAM.

Após a recuperação dos animais estes eram acomodados novamente em gaiolas identificadas que eram mantidas no biotério por 8 semanas sob as condições acima especificadas.

3- AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA:

Este protocolo experimental foi realizado a fim de estudar o sistema cardiovascular *in vivo*. Oito semanas após o IAM ou cirurgia fictícia (Sham) os animais foram anestesiados com injeção intra-peritoneal de uretana (1,2 g/kg i.p.). A artéria carótida esquerda e a veia jugular esquerda foram canuladas com cateter de polietileno (PE-50) e este conectado a um transdutor de pressão STATHAN P23 AA ligado ao sistema de aquisição e registro de dados (MP100 Byopac Systems, Inc; CA-PC Pentium 4). Os cateteres introduzidos dentro da artéria e veia alcançaram os ventrículos esquerdo e direito respectivamente para a aquisição de dados de pressões intra-ventriculares.

Foram registradas a pressão arterial diastólica (PAD), a pressão arterial sistólica (PAS), a pressão arterial média (PAM), a pressão sistólica no ventrículo esquerdo (PSVE), a pressão sistólica no ventrículo direito (PSVD), a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDf VE) e direito (PDf VD), a frequência cardíaca (FC) e a primeira derivada de pressão positiva e negativa do ventrículo direito ($dP/dt+$ VD e $dP/dt-$ VD). A figura 1 mostra um registro típico deste protocolo.

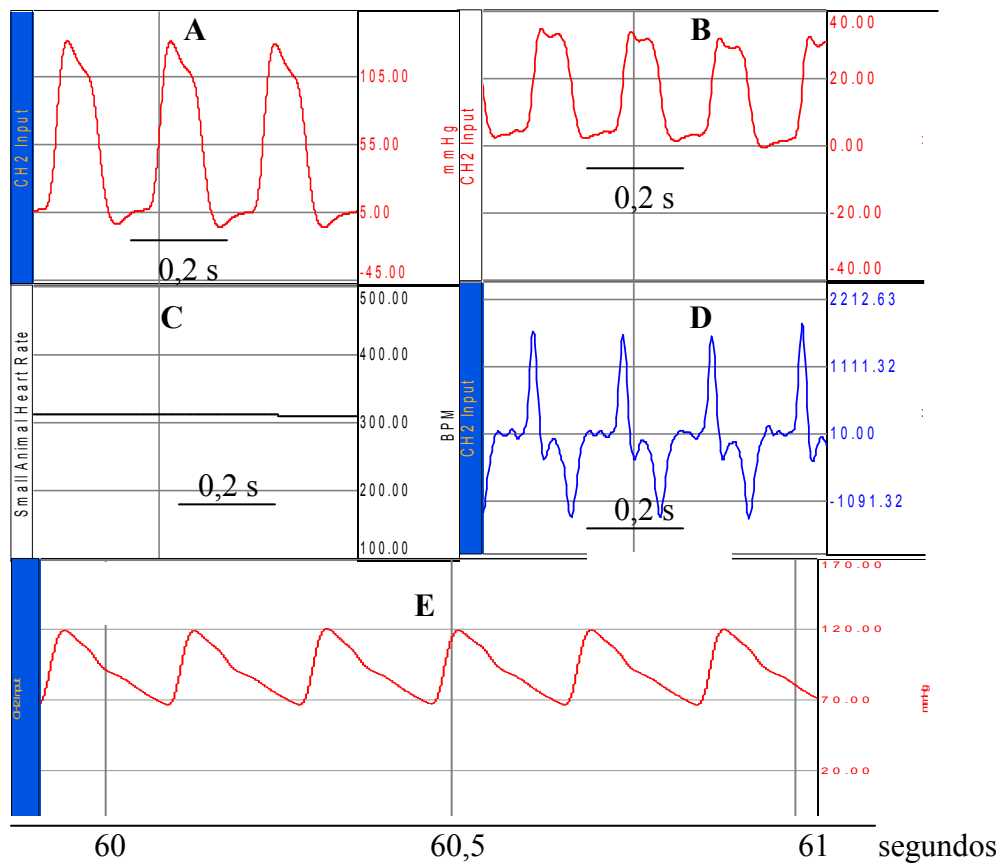


Figura 1: Registros típicos da avaliação hemodinâmica em ratos anestesiados com uretana (1,2 g/kg i.p.). **A**: Pressão intra-ventricular esquerda em mmHg; **B**: Pressão intra-ventricular direita em mmHg; **C**: Frequência cardíaca em bpm; **D**: Primeira derivada de pressão positiva e negativa do ventrículo direito em mmHg/s ($dP/dt+ VD$ e $dP/dt- VD$); **E**: pressão arterial em mmHg.

4- AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO CONTRÁTIL DO VENTRÍCULO DIREITO IN VITRO:

4.1 - MONTAGEM DA PREPARAÇÃO:

Neste trabalho o coração isolado de rato foi perfundido segundo Técnica de Langendorff (*figura2*). Esta preparação envolve a conexão do coto aórtico a um sistema de perfusão com fluxo constante de 10 ml/min através de uma bomba peristáltica onde o músculo cardíaco é nutrido em direção retrógrada do original no corpo do animal (Skrzypiec-Spring *et al.*, 2007).

A retirada do coração do animal durava em média não mais que 40 segundos, e era realizada após avaliação hemodinâmica anteriormente descrita. Cada animal recebia por via intra-peritoneal 40 unidades de heparina sódica, vinte minutos antes de ser sacrificado por deslocamento cervical. Imediatamente após, o tórax era aberto por incisão bilateral na altura do processo xifóide e o coração exposto. Todos os vasos acima do arco aórtico eram ocluídos com auxílio de um fio de nylon deixando livre a aorta abdominal. Imediatamente a oclusão dos vasos, o coração era cuidadosamente retirado, em conjunto com o pulmão, e conectado ao sistema a fim de re-estabelecer a perfusão do músculo cardíaco. Uma vez iniciada a perfusão e a preparação estando em atividade, o pulmão era cuidadosamente removido bem como quaisquer outras estruturas remanescentes. A artéria pulmonar era perfurada a fim de evitar aumento da pressão intra-ventricular que não fosse pelo balão. Também um pequeno orifício foi feito no ápice do ventrículo esquerdo a fim de impedir o acúmulo de líquido referente à circulação de Thebésio, que representa em torno de 5% do total do fluxo coronariano (Weber, 1986). A solução nutritora bem como a cuba de vidro de 50 mL, contendo também solução nutritora onde o coração era acomodado, eram mantidos a temperatura constante em torno de 33° C por meio de um banho-maria.

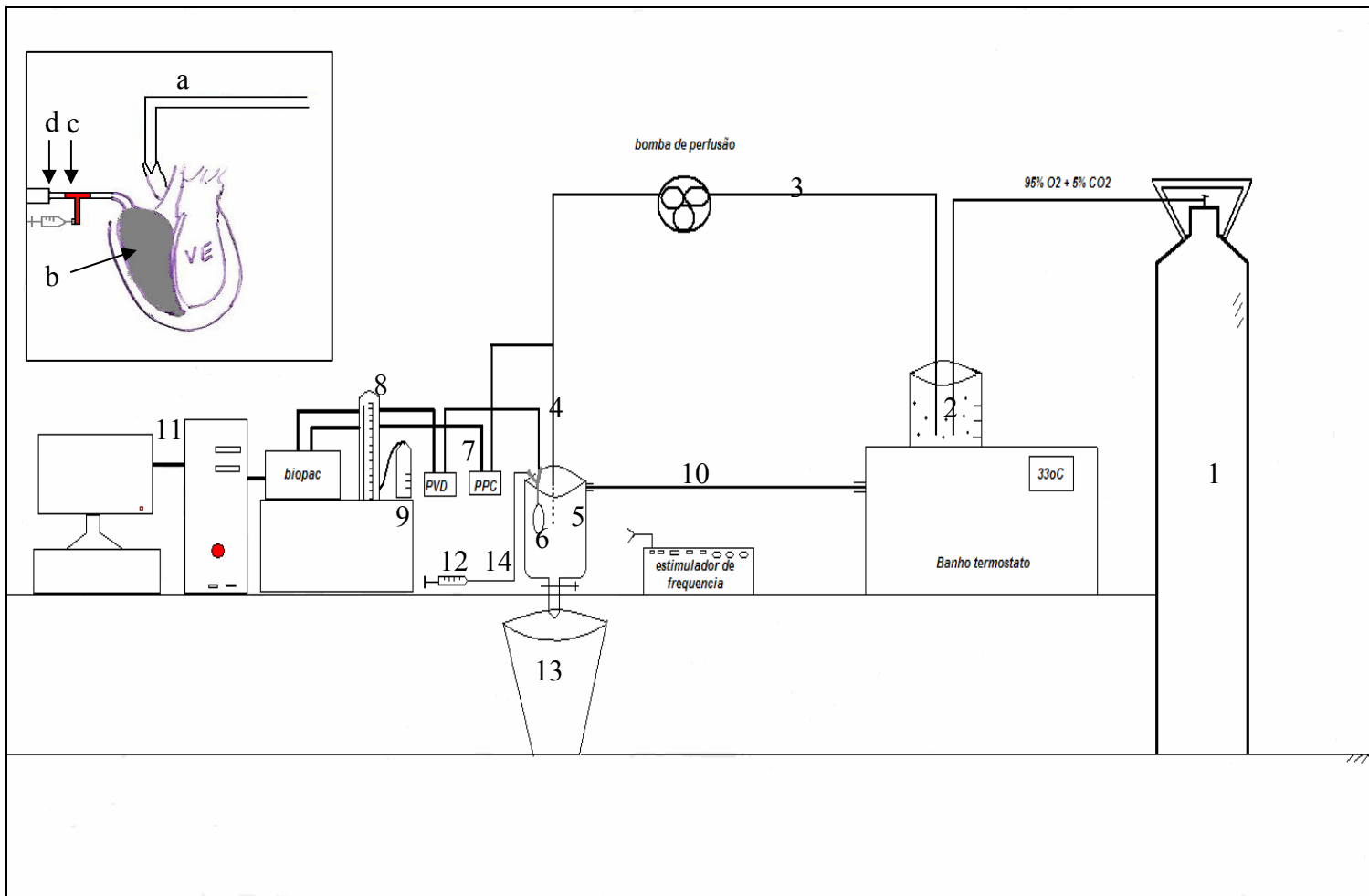
A composição química da solução nutritora era (em mM): NaCl 120; KCl 5,4; CaCl₂ 1,25; MgCl₂ 1,2; NaHCO₃ 24; NaSO₄ 1,2; NaH₂PO₄ 2 e glicose 11, gaseificada por borbulhamento de mistura carbogênica na proporção 95%O₂ e 5% CO₂ mantendo o pH estável na faixa de 7,4 -7,45.

Em todas as preparações os átrios eram removidos e a frequência dos batimentos cardíacos era mantida fixa em 200 bpm com o auxílio de um eletrodo de estimulação (Ag/AgCl) imerso na cuba de vidro que acomodava o coração. Eram usados pulsos de onda quadrada de intensidade uma vez e meia a limiar (5-10 V) e duração de 5 ms.

Em uma preparação ideal, a função contrátil e o ritmo cardíaco regulares retornavam em poucos segundos, e então um balão de látex era introduzido na câmara ventricular direita através da válvula átrio-ventricular. Cada balão estava hermeticamente conectado a um cateter PE 150, ligado a uma peça em Y, onde uma de suas saídas possuía conexão direta com um transdutor de pressão (Statham P23AA). Este permitia o registro das pressões sistólica e diastólica ventricular. A outra extremidade da peça em Y era conectada a uma seringa de polietileno (1 mL) através de uma cânula de PE 50 e todo este sistema permaneceu completamente preenchido de água deionizada a fim de controlar, de forma satisfatória, a pressão diastólica intra-ventricular através da variação do volume do balão.

A pressão de perfusão coronariana foi avaliada através também de um transdutor de pressão (Statham P23AA) acoplado ao sistema de perfusão aórtica. Uma vez considerado o fluxo constante, as variações de pressão indicavam variações na resistência coronariana e este parâmetro foi apenas um controle da atividade funcional da preparação durante a realização dos protocolos.

Na montagem da preparação verificou-se cuidadosamente que a altura do coração, dos transdutores e da coluna de mercúrio através da qual os transdutores eram previamente calibrados, estivessem perfeitamente nivelados. Os transdutores de pressão eram perfeitamente acoplados a um sistema de aquisição e registro de dados (MP 100 Biopac System, Inc; CA e PC Pentium).



- | | |
|--|------------------------------|
| 1- cilindro de carbogênio | a: nutrição a 10 ml/min |
| 2- solução nutritora | b: balão de látex no VD |
| 3- tubulação de PVC | c: conexão de metal em Y |
| 4- nutrição a 10 ml/min | d: transdutor de pressão PVD |
| 5- cuba de vidro | |
| 6- balão de látex | |
| 7- transdutores de pressão] | |
| 8- coluna de mercúrio | |
| 9- reservatório de água | |
| 10- circulação externa do banho termostato | |
| 11- computador | |
| 12- seringa | |
| 13- reservatório de efluente | |
| 14- tubo de PE -50 | |

Figura 2: Ilustração da preparação de coração isolado segundo a técnica de Langendorff. Em detalhe, no painel superior esquerdo a posição do balão no VD.

4.2 – AVALIAÇÃO DA COMPLACÊNCIA DO BALÃO:

O balão de látex era confeccionado 48 horas antes de sua utilização. Este era previamente inflado com água deionizada a um volume em torno de 5ml com a finalidade de aumentar sua complacência. Antes dos experimentos, em cada novo balão produzido, foram realizadas curvas de variação de pressão em função da variação de volume do mesmo para garantir o seu grau de complacência. Foram descartados os balões que, para determinada variação de volume, desenvolvessem pressão superior a 15% daquela desenvolvida pelo balão dentro da câmara ventricular.

4.3 – DETERMINAÇÃO DO DESEMPENHO DAS CÂMARAS VENTRICULARES:

Foi avaliada a atividade mecânica do ventrículo direito a cada protocolo segundo os seguintes parâmetros:

- A Pressão Sistólica Isovolumétrica (PS) e ou variação da pressão Sistólica isovolumétrica desenvolvida (ΔPS) como um índice de função de bomba e músculo do coração;
- A Primeira Derivada Temporal positiva da PS ($dP/dt+$) como um índice de contratilidade do músculo;
- A Primeira Derivada Temporal negativa da PS ($dP/dt-$) como um índice de relaxamento do músculo;

5- PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS IN VITRO:

No coração isolado, o estudo dos mecanismos que controlam de forma intrínseca o desempenho muscular, de maneira independente de estímulos neuro-humorais pode ser realizado através de intervenções inotrópicas. No presente estudo foi avaliado a auto-regulação heterométrica, também conhecida como relação de Frank-Starling, através de uma curva de estiramento-tensão, e também a regulação homeométrica do coração, por meio de duas intervenções:

1. Aumento na concentração extracelular de cálcio na solução nutritora da preparação;
2. Uma dose *in bolus* de isoproterenol, um agonista dos receptores beta-adrenérgicos.

5.1 – AVALIAÇÃO DA AUTO-REGULAÇÃO HETEROMÉTRICA:

Nesta primeira manobra experimental realizada, o desempenho ventricular foi avaliado através da curva estiramento-tensão na câmara ventricular direita, mecanismo conhecido como curva de Frank-Starling, onde a preparação do coração isolado foi mantida sob perfusão a fluxo constante de 10 mL/min com solução de Krebs (Ca^{+2} 1,25 mM). A curva foi obtida aumentando-se a PD de 0 até 30 mmHg em intervalos de 5 mmHg. A *figura 3* ilustra um registro típico deste protocolo experimental.

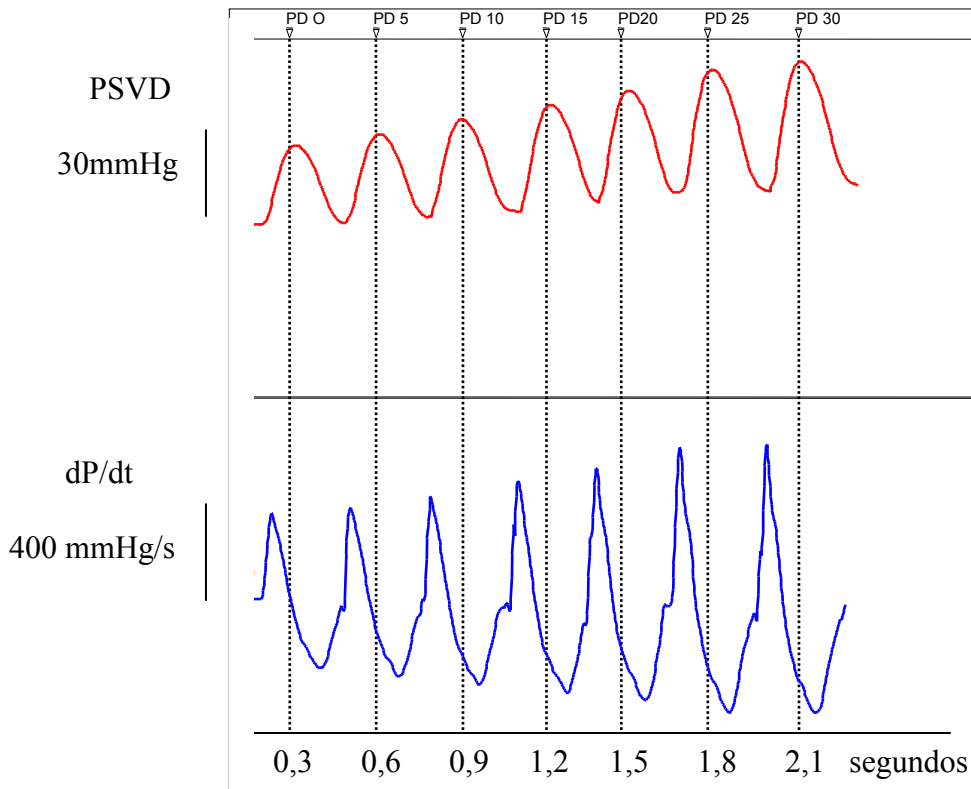


Figura 3: Registro típico da Curva de Frank-Starling no VD. A curva foi obtida aumentando-se a PD de 0 até 30 mmHg em intervalos de 5 mmHg. As condições experimentais eram: perfusão a fluxo constante de 10 ml/min com solução de Krebs (Ca 1,25 mM). A pressão sistólica foi registrada em mmHg e a dP/dt em mmHg/s.

5.2 – AVALIAÇÃO DA REGULAÇÃO HETEROMÉTRICA PELO AUMENTO NA CONCENTRAÇÃO EXTRACELULAR DE CÁLCIO:

Foi construída uma curva concentração-resposta ao cálcio utilizando concentrações extracelulares crescentes de cálcio a fim de avaliar a contratilidade cardíaca (*figura 4*). A PD na câmara ventricular era mantida em 5 mmHg e a solução nutritora foi substituída por outra cuja concentração de cálcio era de 0,62 mM, e novamente era aguardado o período de estabilização funcional da preparação. Em seguida foram analisados os parâmetros já descritos. O mesmo foi realizado em soluções com concentração de cálcio de 1,25 mM; 1,87 mM; 2,5 mM e 3,75 mM.

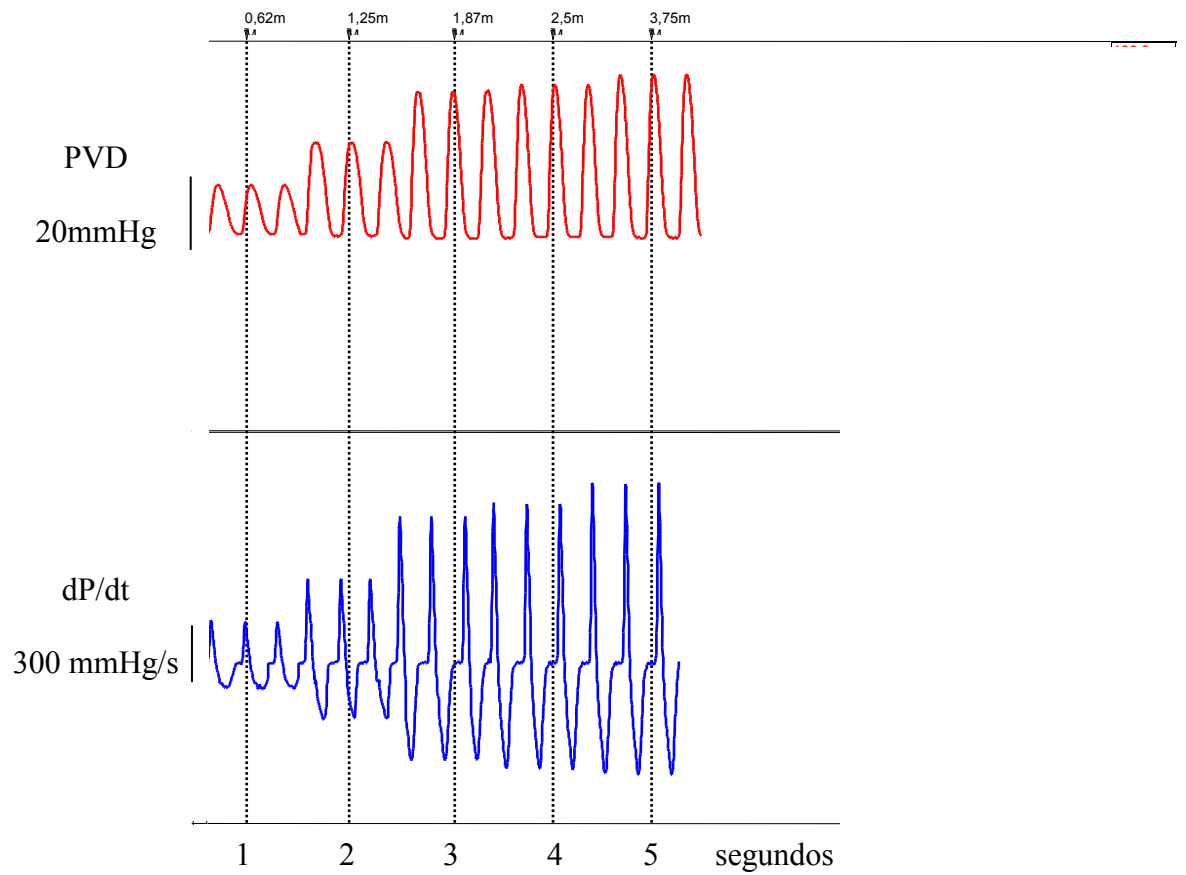


Figura 4: Traçado típico da curva concentração-resposta ao cálcio no VD. A curva foi obtida utilizando concentrações crescentes de Ca^{2+} (0,62; 1,25; 1,87; 2,5 e 3,75 mM). A perfusão foi mantida a fluxo constante de 10 ml/min. A pressão sistólica foi registrada em mmHg e a dP/dt em mmHg/s.

5.3 – AVALIAÇÃO DA REGULAÇÃO HOMEOMÉTRICA POR UMA DOSE IN BOLUS DE ISOPROTERENOL:

Neste protocolo a preparação foi novamente nutrida com solução de Krebs cuja concentração de cálcio era de 0,62 mM, pois preparações isoladas de ratos exibem melhores respostas inotrópicas positivas quando submetidas a baixas concentrações extracelulares de Cálcio (Vassalo *et al.*, 1994). Assim que a preparação assumiu estabilidade funcional, foi adicionado um volume de 100 μL *in bolus* de uma solução de 10^{-5} M de isoproterenol, perfazendo uma dose de 25 μg na preparação. Os parâmetros foram assim analisados no momento em que foi atingido um período de platô com desenvolvimento pressão sistólica estável (Figura 5).

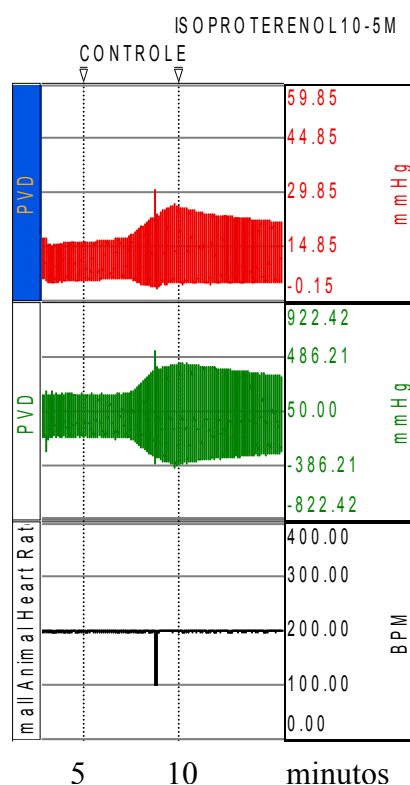


Figura 5: Traçado típico da dose *in bolus* de Isoproterenol. O registro demonstra a situação controle e a resposta inotrópica desenvolvida a este agonista β -adrenérgico. A perfusão foi mantida por uma solução de Krebs contendo uma concentração de Ca^{2+} 0,62 mM a fluxo constante de 10 mL/min. A pressão sistólica no VD foi registrada em mmHg e a dP/dt em mmHg/s.

6- AVALIAÇÃO DA ÁREA DE INFARTO

Ao final de cada experimento as câmaras cardíacas foram separadas e o septo inter-ventricular foi considerado como parte do VE. O tecido infartado foi visualizado por transluminação, uma vez que se diferencia do tecido remanescente por se apresentar fino e fibroso. Separado do tecido remanescente, e exposto sob papel milimetrado, este foi delimitado e através de contagem de pontos a área foi calculada em mm^2 (Mill *et al.*, 1990). A área de infarto foi estimada percentualmente pela área do VE remanescente. Da amostra total de 53 animais foram excluídos deste trabalho um total de oito animais infartados cujos corações apresentaram com área de infarto menores que 20% e maiores que 35%, e em seguida foram separados os grupos experimentais em um total de 11 animais IC, que corresponderam a 35% de todos os animais infartados. Para a composição dos outros dois grupos, INF e SHAM foram incluídos animais com um total também de 11 unidades por grupo.

7- AVALIAÇÃO PONDERAL:

Nesta última etapa dos estudos as câmaras ventriculares direita e esquerda previamente separadas, juntamente com o tecido infartado e o pulmão eram pesados (PVD, PVE e PP) e relacionados com o peso corporal para a obtenção das razões pesos ventriculares e peso do pulmão em relação ao peso corporal (PVE/PC; PVD/PC e PP/PC).

8- IDENTIFICAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS:

De posse dos dados hemodinâmicos, da avaliação da área de infarto e dos dados ponderais os grupos experimentais foram assim identificados:

1. GRUPO SHAM: animais que sofreram apenas a cirurgia fictícia de colusão coronariana.
2. GRUPO INFARTO: Este grande grupo foi subdividido em 2 sub-grupos:
 - INF: animais infartados sem nenhum sinal de desenvolvimento de insuficiência cardíaca.
 - IC: animais infartados apresentando no mínimo, dois sinais de desenvolvimento de insuficiência cardíaca detectados nas análises hemodinâmicas e ponderais.

Foram considerados sinais de progressão de insuficiência cardíaca após infarto agudo do miocárdio a $PDF_{VE} \geq 7$ mmHg; razão PP/PC dos animais infartados $\geq PP/PC+2EP$ dos animais SHAM e razão PVD/PC dos animais infartados proporcional razão $PP/PC \geq PP/PC+2EP$ dos animais SHAM (Anversa *et al.*, 1985; Davidoff *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2005).

Após as avaliações hemodinâmica e ponderal, os animais infartados foram subdivididos INF e IC em função destes últimos apresentarem no mínimo 2 sinais de desenvolvimento de insuficiência cardíaca como Pdf aumentada, hipertrofia do VD e aumento da razão PP/PC .

9- FÁRMACOS E REAGENTES:

Ácido Ascórbico (Merck)

Bicarbonato de Sódio (Merck)

Cloreto de Cálcio Dihidratado (Merck)

Cloreto de Magnésio Hexahidratado (Merck)

Cloreto de Potássio (Merck)

Cloreto de Sódio (Merck)

Éter Etilico (Merck)

Fosfato de Sódio Dibásico (Merck)

Fosfato de Sódio Monobásico (Merck)

Glicose (Reagem)

Halotano (Cristália)

Heparina Sódica (Roche)

L-Isoproterenol (hidrocloro – Sigma)

Sulfato de Sódio (Merck)

Uretana (Sigma)

ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Na análise dos dados ponderais, dados hemodinâmicos, pressão sistólica absoluta e desenvolvida e derivada máxima de pressão do protocolo com Isoproterenol foi usada ANOVA 1 via com teste post hoc de Fisher LSD. Para comparação da área de infarto, foi usado o teste “t” de Student não pareado. Para avaliação da pressão sistólica absoluta e relativa e derivada máxima de pressão dos protocolos de Frank-Starling e curva de cálcio foi usada ANOVA duas vias com post hoc de Fisher LSD. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados como significativos. Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico GB-STAT (Dynamic Microsystem Inc., Silver Spring, MD, USA) 6.5 for Windows e para a plotagem dos gráficos foi utilizado o GraphPad Prisma 2.0 (San Diego, CA, USA).

RESULTADOS

1- AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA E PONDERAL:

Após 8 semanas da realização da cirurgia os animais foram pesados, anestesiados e submetidos à avaliação hemodinâmica e em seguida sacrificados para utilização do coração isolado nos protocolos subseqüentes. Em seguida a realização das experiências *in situ* e *in vitro* as câmaras ventriculares foram separadas e pesadas bem como o pulmão e assim submetidos à avaliação ponderal e medida da área de infarto como descrito na metodologia deste trabalho. De acordo com essas avaliações os animais foram inicialmente separados em 2 grupos distintos: Grupo SHAM (animais que sofreram apenas uma cirurgia fictícia), grupo INFARTO (grupo de animais com detecção de área de infarto) que por sua vez foi subdividido em 2 subgrupos: INF (animais infartados, mas sem sinais de insuficiência cardíaca) e IC (animais infartados e com sinais de insuficiência).

A avaliação hemodinâmica dos três grupos experimentais é apresentada na *tabela 1* e *figura 6*. Pode-se verificar que não houve diferença entre os grupos nas mensurações de PAS, PAD e PAM. Entretanto, as medidas intraventriculares foram diferentes entre os grupos. O grupo INF apresentou aumento da FC em cerca de 15% comparado com ratos SHAM (*tabela 1* e *figura 6A*), e manteve os outros parâmetros normais (PSVE, PDfVE, PSVD, PSfVD, dP/dt+VD e dP/dt- VD). No grupo IC as funções do VE e VD foram alteradas, sendo possível verificar (*tabela 1*); um aumento significativo da PDfVE em relação aos grupos SHAM e INF (*tabela 1* e *figura 6B*); um aumento na PSVD e PDfVD bem como da dP/dt+ VD e dP/dt- VD em relação aos dois grupos (*tabela 1* e *figura 6-F*). Houve uma tendência de aumento da FC neste grupo, apesar de não significativa.

Os dados ponderais dos diferentes grupos experimentais estão apresentados na *tabela 2* e na *figura 7*. O grupo IC apresentou redução do peso corporal, bem como hipertrofia do VD que foi confirmada indiretamente pela razão PVD/PC em relação os grupos SHAM e INF. Não houve diferença na razão PVE/PC no grupo INF, enquanto que no grupo IC a razão PVE/PC foi maior em relação aos outros dois grupos. No grupo IC, diferente do grupo INF,

foi observado um aumento do peso do pulmão bem como da relação PP/PC. Em relação à área de infarto não houve diferença entre os grupos INF e IC (figura 6G).

Tabela 1: Valores hemodinâmicos dos grupos experimentais:

	SHAM (n=11)	INF (n=11)	IC (n=11)
PAS (mmHg)	109 ± 4,8	104 ± 4,1	102 ± 5,2
PAD (mmHg)	68 ± 3,9	72 ± 4,7	74 ± 5,7
PAM (mmHg)	83 ± 5,1	85 ± 4,4	85 ± 5,3
FC (bpm)	288 ± 15	329 ± 15*	321 ± 10
PSVE (mmHg)	122 ± 6	114 ± 7	108 ± 4
PDfVE (mmHg)	3,2 ± 0,4	2,6 ± 0,5	13,0 ± 1,8*#
PSVD (mmHg)	28 ± 1,5	31 ± 2,6	48 ± 2,2*#
PDfVD (mmHg)	1,9 ± 0,3	1,2 ± 0,4	4,5 ± 0,8*#
dP/dt +VD (mmHg/s)	1287 ± 155	1192 ± 165	2046 ± 226*#
dP/dt- VD (mmHg/s)	1039 ± 95	1239 ± 156	1807 ± 84*#

Pressão artéria sistólica (PAS); Pressão arterial diastólica (PAD); pressão arterial média (PAM); frequência cardíaca (FC); pressão sistólica ventricular esquerda (PSVE); pressão diastólica final ventricular esquerda (PDfVE); pressão sistólica ventricular direita (PSVD); pressão diastólica final ventricular direita (PDfVD); primeira derivada temporal positiva (dP/dt+ VD) e negativa (dP/dt- VD) da pressão intra-ventricular direita. Dados expressos como Média ± EPM. ANOVA 1 via, post hoc Fischer LSD, para todas as análises. *p<0,05 vs SHAM; #p<0,05 vs INF.

Tabela 2: Valores ponderais dos grupos experimentais:

	<i>SHAM</i> (n=11)	<i>INF</i> (n=11)	<i>IC</i> (n=11)
<i>PC</i> (g)	405 ± 8,5	408 ± 12,3	354 ± 12,4*#
<i>PVE</i> (mg)	899 ± 47	907 ± 42	873 ± 40
<i>PVD</i> (mg)	260 ± 9	284 ± 13	463 ± 24*#
<i>PP</i> (mg)	1803 ± 86	1964 ± 96	2959 ± 299*#
<i>PVE/PC</i> (mg/g)	2,17 ± 0,08	2,18 ± 0,07	2,47 ± 0,08*#
<i>PVD/PC</i> (mg/g)	0,66 ± 0,01	0,68 ± 0,02	1,29 ± 0,06*#
<i>PP/PC</i> (mg/g)	4,4 ± 0,1	4,9 ± 0,2	8,4 ± 0,8*#
<i>AI</i> (%)		27,6 ± 1,2	29,2 ± 0,8

Peso corporal (PC); peso úmido do ventrículo esquerdo (PVE) peso úmido do ventrículo direito (PVD); peso úmido do pulmão (PP); razão peso do ventrículo esquerdo e peso corporal (PVE/PC; razão peso do ventrículo direito e peso corporal (PVD/PC); razão peso do pulmão e peso corporal (PP/PC); área de infarto (AI%). Dados expressos como Média ± EPM. ANOVA 1 via, post hoc Fischer LSD, para todas as análises exceto área de infarto em que foi utilizado teste t de Student não pareado. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

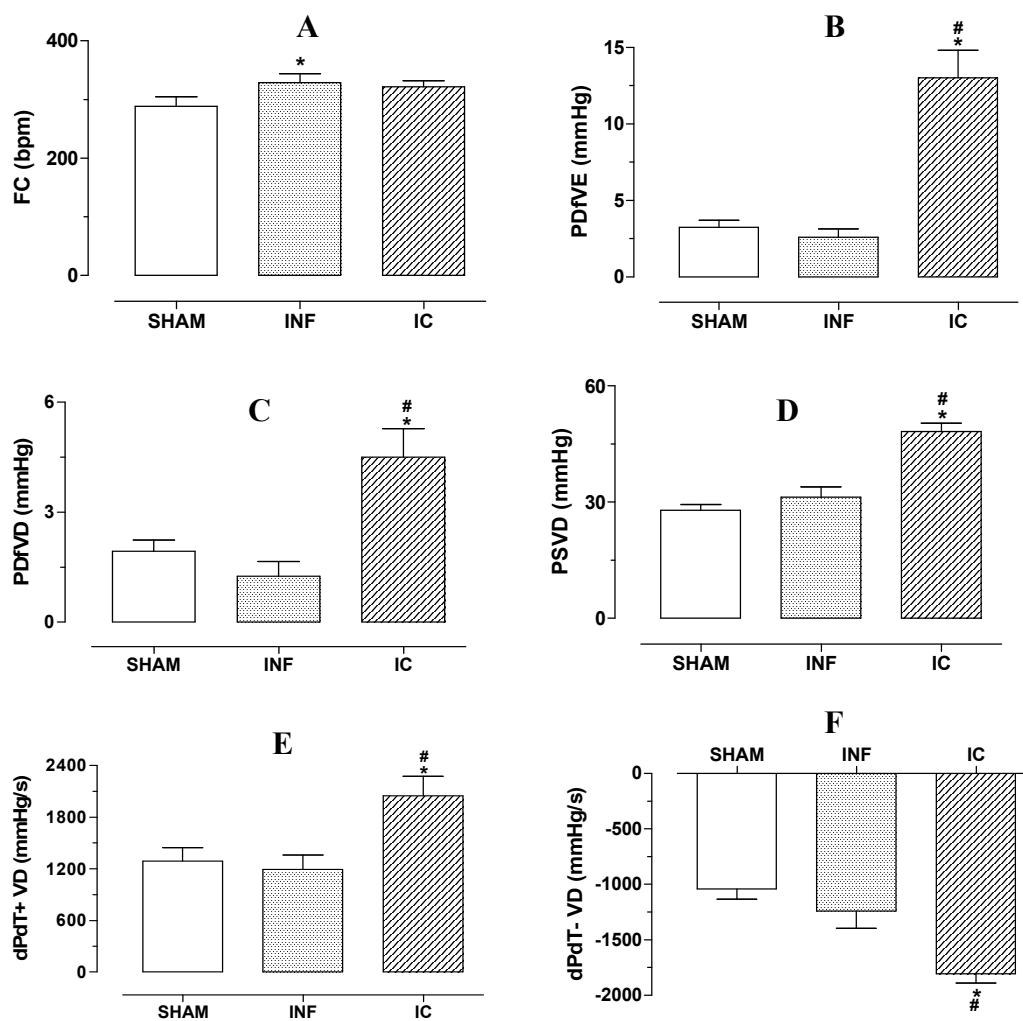


Figura 6: Dados hemodinâmicos dos grupos SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). A: Frequência cardíaca (FC); B: Pressão diastólica final do ventrículo esquerda (PDfVE); C: Pressão diastólica final do ventrículo direito (PDfVD); D: Pressão sistólica ventricular direita; E: primeira derivada temporal positiva (dP/dt+VD) da pressão intra-ventricular direita; F: primeira derivada temporal negativa (dP/dt-VD) da pressão intra-ventricular direita. Dados expressos como Média \pm EPM. ANOVA 1 via, post hoc Fischer LSD, para todas as análises. * $p < 0,05$ vs SHAM; # $p < 0,05$ vs INF.

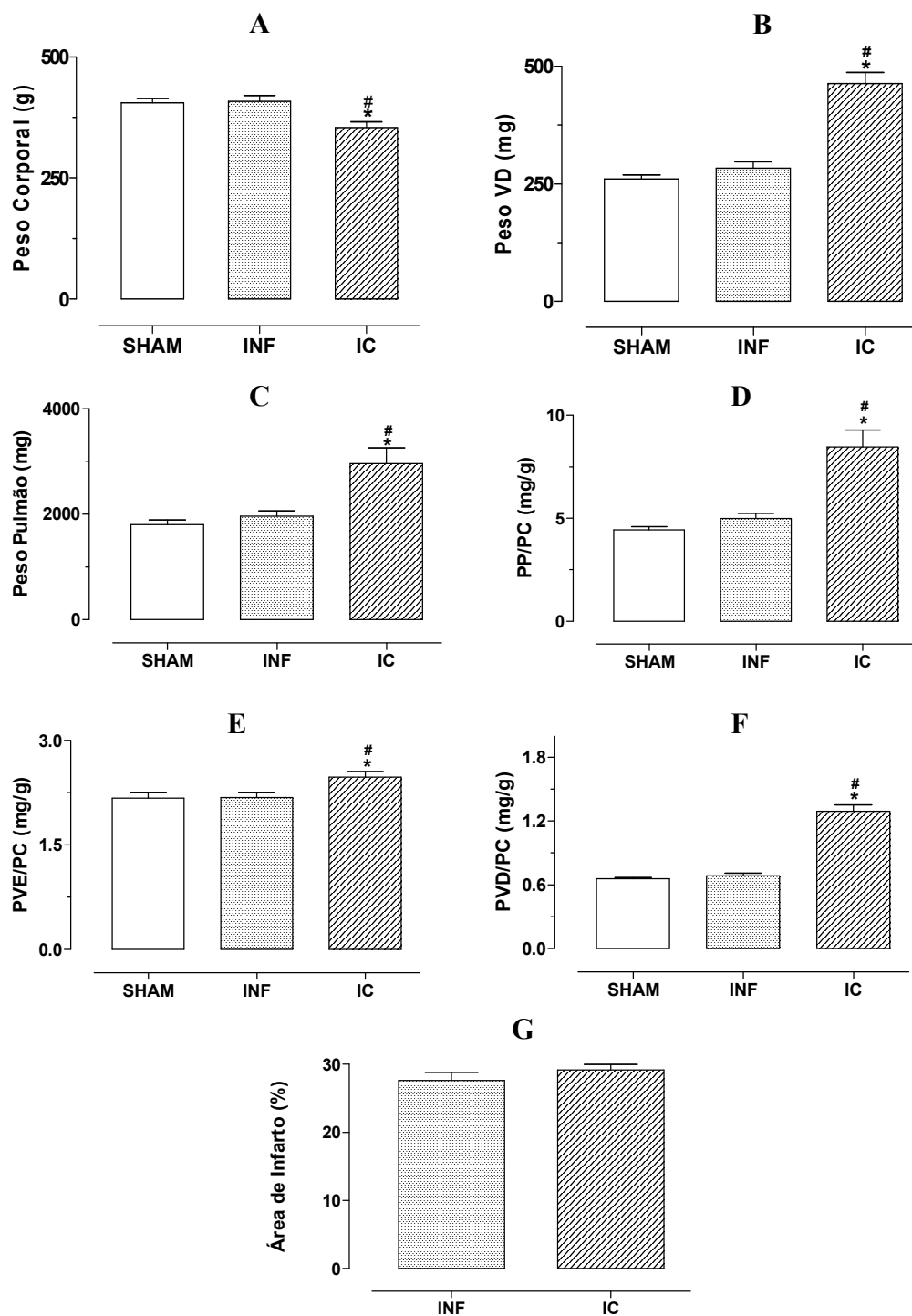


Figura 7: Dados ponderais dos grupos SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). A: Peso corporal (PC); B: Peso úmido do ventrículo direito (VD) C: Peso úmido do pulmão; D: razão peso pulmão e peso corporal (PP/PC); E: razão peso ventrículo esquerdo e peso corporal (PVE/PC); F: razão peso ventrículo direito e peso corporal (PVD/PC); G: área de infarto dos grupos INF e IC. Dados expressos como Média \pm EPM. ANOVA 1 via, post hoc Fischer LSD, para todas as análises exceto área de infarto em que foi utilizado teste t de Student não pareado. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

2- AVALIAÇÃO DA CONTRATILIDADE MIOCÁRDICA VENTRICULAR DIREITA:

O desempenho ventricular direito foi investigado através de um protocolo de intervenção heterométrica (Curva de Frank-Starling) e dois protocolos de intervenção homeométrica (curva de cálcio e uma dose *in bolus* de isoproterenol) de modulação da contratilidade cardíaca no coração isolado inteiro com intuito de avaliar ambas as funções de músculo e bomba deste órgão.

2.1-INTERVENÇÃO HETEROMÉTRICA:

Os resultados referentes à realização deste protocolo experimental são demonstrados nas figuras 8-11. A pressão sistólica isovolumétrica absoluta do ventrículo direito (PS VD) foi aumentada em função dos incrementos gradativos da pressão diastólica (PD) em todos os grupos. Entretanto no grupo IC foi verificado que a PS foi menor em cerca de 20 % para todos os valores de PD, ou seja, as curvas são em todos os pontos paralelas, tanto em relação ao grupo SHAM quanto ao grupo INF. Assim, em termos absolutos, a hipertrofia do VD (*figura 7D*) não foi capaz de manter a resposta inotrópica. Para o grupo INF a partir da PD=15 mmHg verifica-se que a PS é menor em cerca de 5 %, em relação ao grupo SHAM.

Na *figura 9* observa-se a variação relativa da PS VD em função do aumento da PD no ventrículo direito. O grupo IC apresentou uma melhora da contratilidade a partir da PD=15 mmHg quando comparado ao grupo SHAM e a partir de PD= 20mmHg quando comparado ao grupo INF, sugerindo, portanto que o mecanismo de Frank-Starling está preservado na câmara ventricular direita destes animais. Este fato não foi detectado com a análise dos valores absolutos de PS (*figura 8*) onde o grupo IC apresentava uma piora no desempenho ventricular direito em todos os valores de PD. A resposta do grupo INF foi semelhante ao grupo controle demonstrando também uma preservação do mecanismo estiramento tensão.

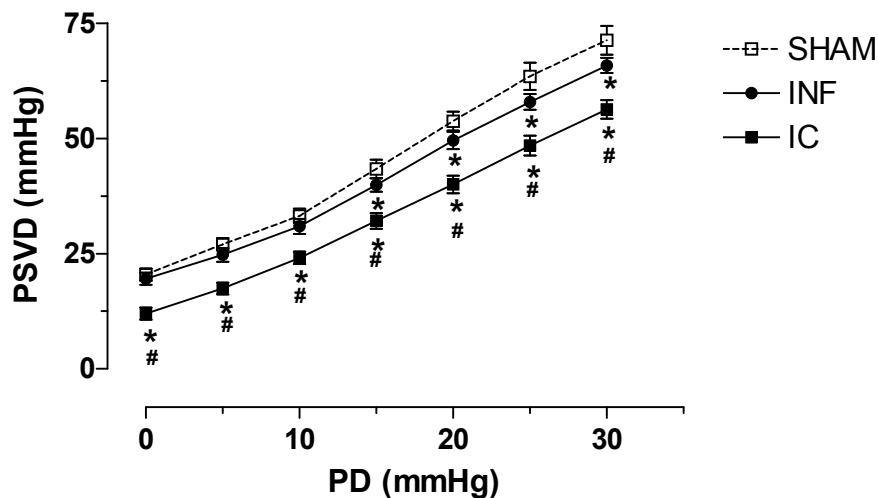


Figura 8: Pressão sistólica absoluta obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11) em função do aumento da PD de 0 a 30 mmHg em incrementos de 5 mmHg. Protocolo realizado em solução de Krebs cuja concentração de Cálcio foi de 1,25 mM. Os dados são expressos como Média \pm EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD. * $p < 0,05$ vs SHAM; # $p < 0,05$ vs INF.

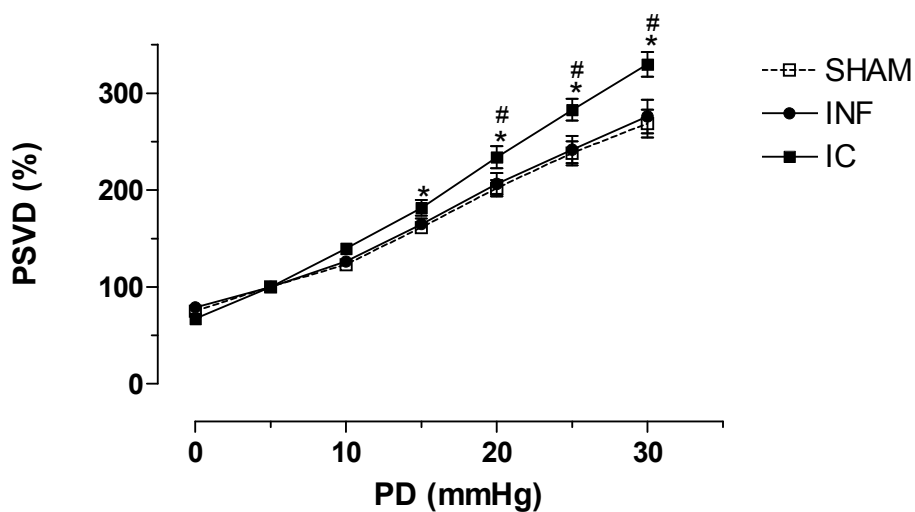


Figura 9: Pressão sistólica normalizada obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Os valores de PS observados em PD=5 mmHg foram considerados como 100%. Os dados são expressos como Média \pm EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD. * $p < 0,05$ vs SHAM; # $p < 0,05$ vs INF.

As figuras 10 e 11 ilustram a variação da velocidade de desenvolvimento de pressão e de relaxamento das curvas de Frank-Starling realizadas nos três grupos experimentais. Estas medidas são importantes índices de contratilidade e são altamente sensíveis a alterações agudas na contratilidade e por isso foram avaliadas em todos os protocolos de intervenções inotrópicas realizados. Observa-se que a $dP/dt+$ está reduzida em todos os valores de PD tanto para o grupo INF quanto para o grupo IC quando comparados ao grupo controle e também é menor no grupo IC comparado com o grupo INF (*figura 10*). Estes dados sugerem um pior desempenho sistólico do VD no grupo IC em relação aos dois grupos experimentais. Além disso, tanto nos animais INF quanto nos IC os aumentos da PD não concorrem com aumentos na contratilidade, fato que é por sua vez observado nos animais SHAM em PD acima de 15 mmHg.

Em relação ao relaxamento isovolumétrico inferido pelos valores de $dP/dt-$ é interessante observar que não houve diferença entre os grupos INF e SHAM, ou seja, as curvas ficaram sobrepostas enquanto que os animais IC apresentaram menor velocidade de relaxamento para todos os pontos de PD (*figura 11*). Ainda há que se destacar que dentro de cada grupo houve variação na $dP/dt-$ em função dos aumentos de PD, e portanto os dois subgrupos de animais infartados demonstraram a capacidade de relaxamento isovolumétrico, com destaque para o grupo IC que apresentou o pior desempenho comparado com os outros dois grupos.

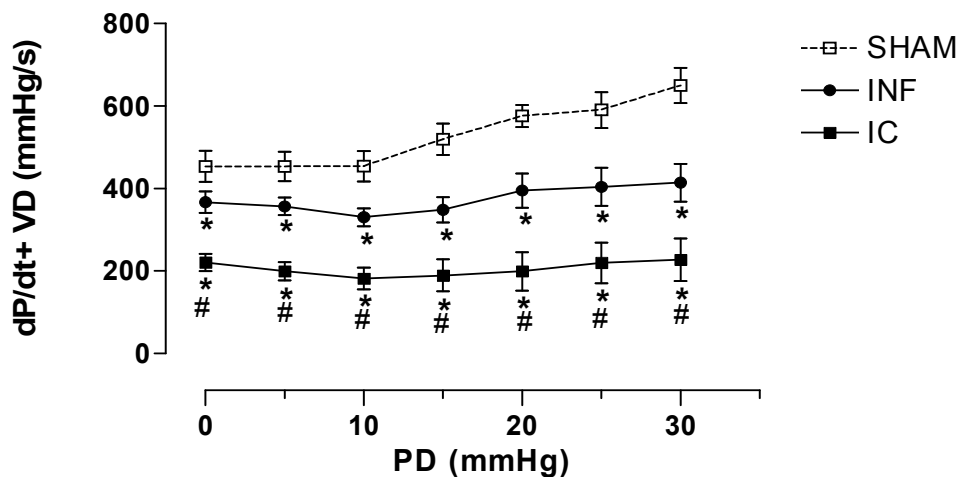


Figura 10: Variação da primeira derivada temporal positiva de pressão em função do aumento da PD de 0 a 30 mmHg em incrementos de 5 mmHg obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em solução de Krebs cuja concentração de Cálcio foi de 1,25 mM. Dados são expressos como Média \pm EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

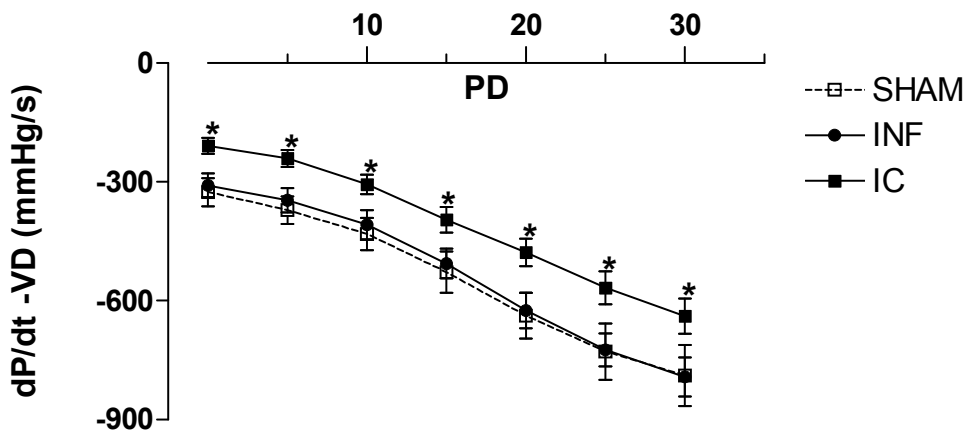


Figura 11: Variação da primeira derivada temporal negativa de pressão em função do aumento da PD de 0 a 30 mmHg em incrementos de 5 mmHg obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em solução de Krebs cuja concentração de Cálcio foi de 1,25 mM. Dados são expressos como Média \pm EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

2.1-INTERVENÇÕES HOMEOMÉTRICAS:

As intervenções inotrópicas realizadas foram divididas em dois protocolos, a saber:

1- Resposta inotrópica ao cálcio: os corações foram perfundidos com cinco diferentes soluções de Krebs contendo crescentes concentrações de Cálcio: 0,62 mM; 1,25 mM; 1,87 mM; 2,5 mM e 3,12 mM.

2- Resposta inotrópica ao Isoproterenol: os corações foram perfundidos com solução de Krebs a 0,62 mM de Cálcio e recebiam um injeção in bolus de 0,1 mL de uma solução de Isoproterenol a 10^{-5} M.

2.1.1-RESPOSTA INOTRÓPICA AO CÁLCIO:

A *figura 12* ilustra as evoluções da PS na câmara ventricular direita em decorrência das crescentes concentrações extracelulares de cálcio a que as preparações dos três grupos experimentais foram expostas. Como era de se esperar, em todos os grupos o aumento da concentração de cálcio na solução nutritora provocou aumentos progressivos na PSVD. Entretanto, tal efeito inotrópico positivo foi consideravelmente reduzido nos animais IC em comparação com os dois grupos em todas as concentrações de cálcio avaliadas. Nos animais INF este efeito foi prejudicado em concentrações de cálcio acima de 1,87 mM comparado com o grupo controle.

A normalização destes resultados para a PS em cálcio 0,62 mM, demonstrada na *figura 13*, remove a diferença entre os grupos INF e controle sugerindo que a resposta inotrópica ao cálcio manteve-se preservada. Tal fato também foi observado no grupo IC, e uma vez considerando o fato que houve hipertrofia da câmara direita destes animais, sendo sua razão PVD/PC $1,29 \pm 0,06$ mg/g enquanto para o grupo SHAM $0,68 \pm 0,02$ mg/g, este resultado sugere que este remodelamento ventricular direito é capaz de restaurar a resposta inotrópica ao cálcio nestes animais. Em suma, os dados sugerem de forma clara que a melhora do desempenho mecânico do ventrículo direito, induzido por aumento nas concentrações extracelulares de cálcio, está preservado nos animais que sofreram infarto, com sinais ou não de insuficiência cardíaca.

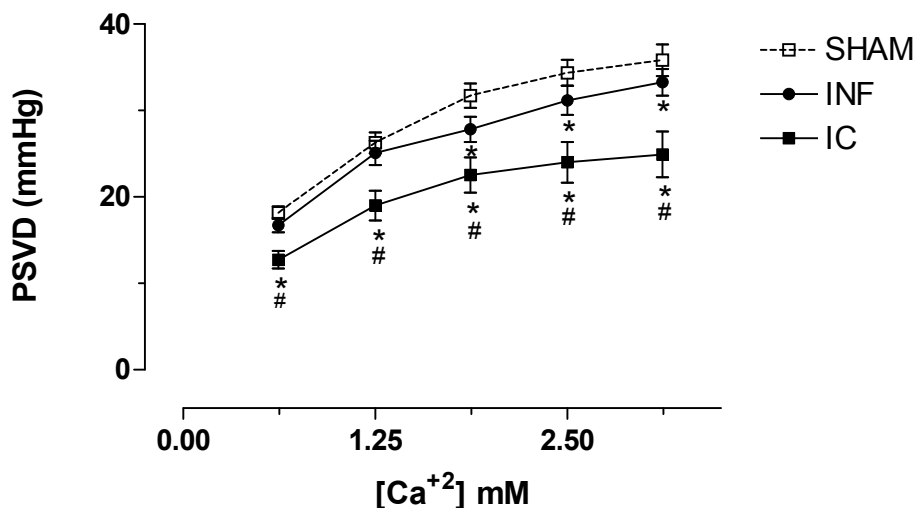


Figura 12: Variação da pressão sistólica isovolumétrica em função de crescentes concentrações de cálcio na solução nutritora (0,62 mM; 1,25 mM; 1,87 mM; 2,5 mM e 3,12 mM) obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em PD constante de 5 mmHg. Dados são expressos como Média \pm EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

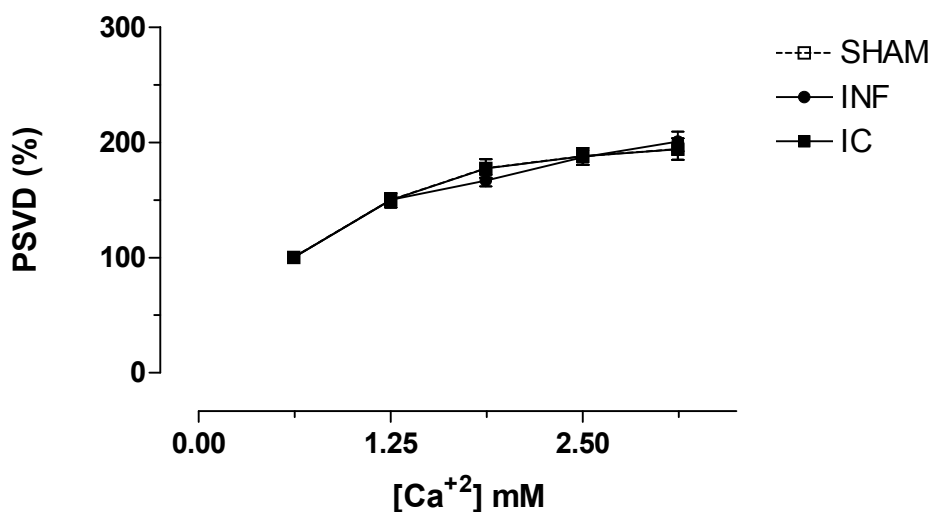


Figura 13: Variação percentual da pressão sistólica isovolumétrica em função de crescentes concentrações de cálcio na solução nutritora obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). A pressão sistólica em cálcio 0,62 mM foi considerada 100% para todos os grupos. Dados são expressos como Média \pm EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD.

Os resultados a seguir se reportam a um índice de contratilidade da fase isovolumétrica para este protocolo inotrópico, a taxa máxima de aumento da pressão ventricular direita (dP/dt VD). Na *figura 14* verifica-se que o infarto por si só promove perda da contratilidade na câmara direita em resposta ao estímulo inotrópico do aumento de cálcio extracelular para todas as concentrações analisadas. Nos animais infartados e com sinais e insuficiência (grupo IC) a velocidade de desenvolvimento de pressão é ainda menor que o grupo INF revelando, portanto, que o desenvolvimento de insuficiência cardíaca decorrente do infarto agudo do miocárdio prejudica a contratilidade ventricular direita em resposta ao aumento da disponibilidade de cálcio extracelular.

Na *figura 15* observa-se que o índice de relaxamento isovolumétrico (dP/dt-) na câmara direita dos animais IC está prejudicada neste protocolo experimental em relação aos outros dois grupos. O grupo INF só demonstrou prejuízo de relaxamento na concentração de Cálcio 3,12 mM.

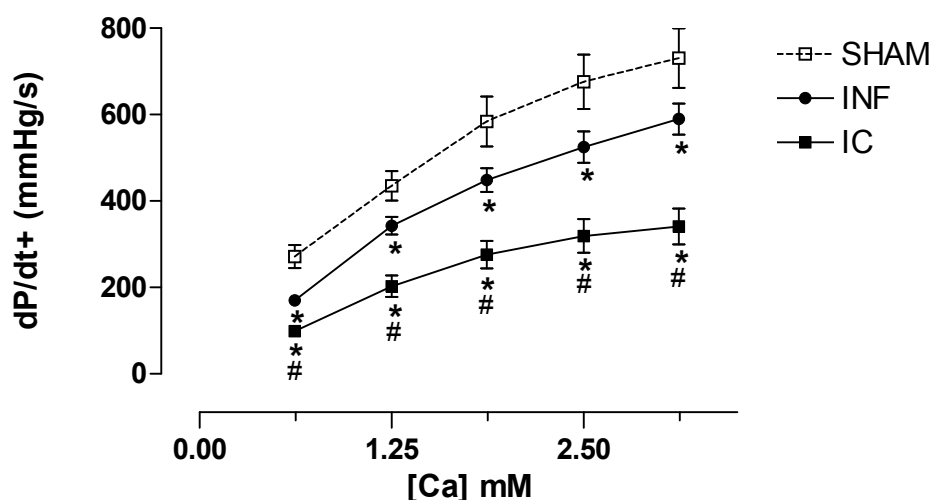


Figura 14: Variação da primeira derivada temporal positiva de pressão em função de crescentes concentrações de cálcio na solução nutritora (0,62 mM; 1,25 mM; 1,87 mM; 2,5 mM e 3,12 mM) obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em PD constante de 5 mmHg. Dados são expressos como Média \pm EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

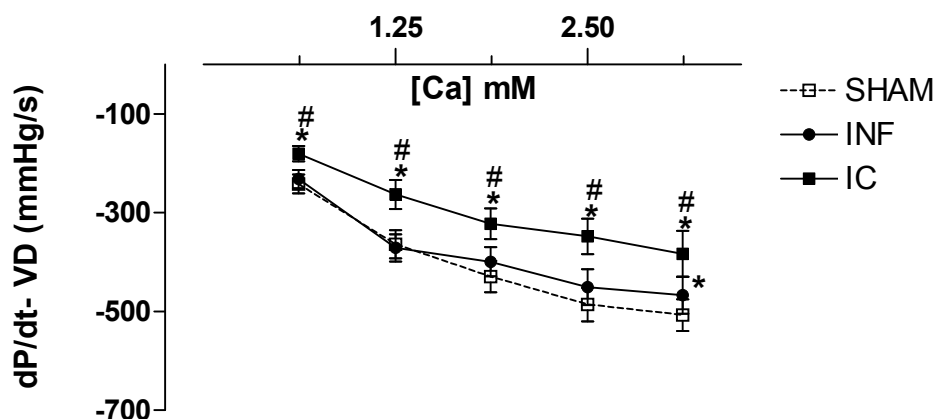


Figura 15: Variação da primeira derivada temporal negativa de pressão em função de crescentes concentrações de cálcio na solução nutritora (0,62 mM; 1,25 mM; 1,87 mM; 2,5 mM e 3,12 mM) obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em PD constante de 5 mmHg. Dados são expressos como Média \pm EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

2.1.2-RESPOSTA INOTRÓPICA AO ISOPROTERENOL:

O comportamento dos três grupos em relação ao protocolo de intervenção inotrópica com uma dose de isoproterenol capaz de promover a resposta máxima é demonstrado nas figuras seguintes. Observa-se que na situação controle (*figura 16A*) o grupo IC é diferente dos outros dois grupos, entretanto não há diferença entre os grupos INF e SHAM como já se havia demonstrado em protocolo anterior (*figura 14*). A análise das variâncias revelou que na presença de Isoproterenol a 10^{-5} M o padrão de resposta observado na situação controle entre os grupos não foi alterado (*figura 16B*). Estes resultados são confirmados em dados de pressão sistólica desenvolvida (*figura 17*), onde se demonstra que o isoproterenol promove uma resposta inotrópica nos três grupos analisados, entretanto esta parece estar prejudicada nos animais IC em um mesmo padrão revelado pelos dados absolutos. O grupo INF demonstrou resposta inotrópica positiva ao isoproterenol da câmara ventricular direita preservada em relação ao grupo controle. Finalmente é relevante observar o fato de que a hipertrofia ventricular direita identificada nos animais IC não foi

capaz de preservar esta resposta inotrópica, pois tanto os dados absolutos quanto os relativos são menores que os do grupo controle.

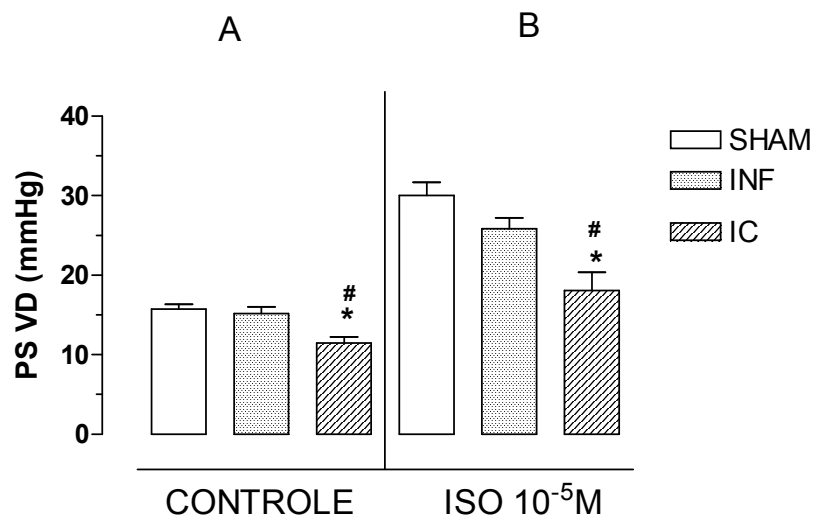


Figura 16: Medidas da pressão sistólica absoluta obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em PD constante de 5 mmHg e concentração extracelular de cálcio 0,62 mM. A: situação controle; B: injeção in bolus de 0,1mL de solução de Isoproterenol 10⁻⁵ M. Dados expressos como Média ± EPM. ANOVA 2 vias, post hoc Fischer LSD. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

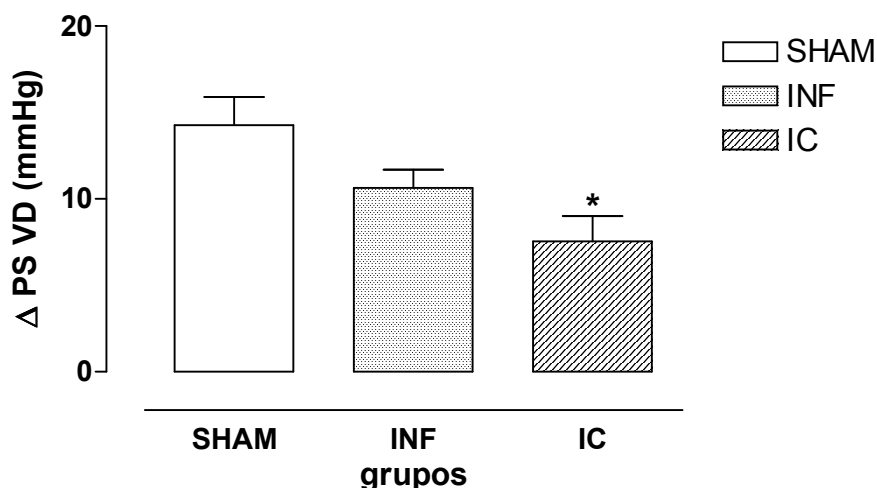


Figura 17: Variação da PSVD após a injeção in bolus de 0,1mL de solução de Isoproterenol 10^{-5} M nos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em PD constante de 5 mmHg e concentração extracelular de cálcio 0,62 mM. O valor de Δ PSVD foi estimado em cada animal a partir da diferença entre os valores absolutos de PS após e antes da dose de Isoproterenol. Dados expressos como Média \pm EPM. ANOVA 1 via, post hoc Fischer LSD. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

A avaliação da função ventricular direita neste protocolo tomando com parâmetros um índice de contratilidade da fase isovolumétrica (dP/dt máxima) pode-se observar que tanto na situação controle quanto na presença de isoproterenol os animais infartados têm prejuízo de contratilidade em relação ao controle, o que não foi demonstrado nos resultados de pressão sistólica absoluta (*figura 16*) e de pressão sistólica desenvolvida (*figura 17*). Contudo, prejuízo maior foi encontrado na presença de sinais de IC (*figura 18*).

O relaxamento isovolumétrico estudado neste protocolo revelou que o grupo IC tem prejuízo na situação controle (*figura 19A*) em relação ao grupo SHAM, mas não em relação ao grupo INF. O infarto por si só não é capaz de prejudicar o relaxamento isovolumétrico como já se havia demonstrado anteriormente no protocolo de cálcio (*figura 15*). Na presença do isoproterenol (*figura 19B*) os corações dos animais com sinais de insuficiência cardíaca apresentam prejuízo do relaxamento tanto em relação ao grupo SHAM quanto

ao grupo INF e o mesmo padrão de resposta obtido na situação controle foi detectado na presença de isoproterenol para o grupo INF, ou seja, não houve diferença significativa entre estes grupos .

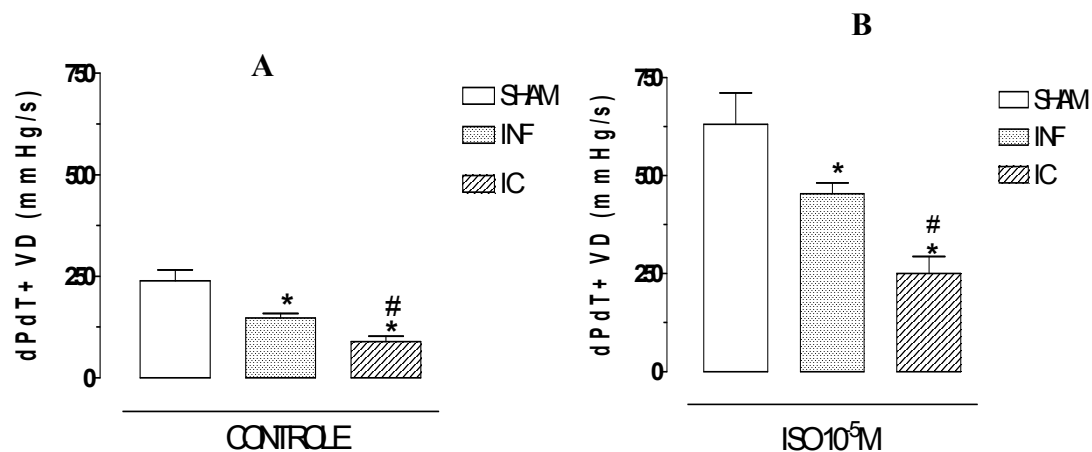


Figura 18: Variação da primeira derivada temporal positiva de pressão obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em PD constante de 5 mmHg e concentração extracelular de cálcio 0,62 mM. A: situação controle; B: injeção in bolus de 0,1mL de solução de Isoproterenol 10^{-5} M. Dados expressos como Média \pm EPM. ANOVA 1 via, post hoc Fischer LSD. *p<0,05 vs SHAM; # p<0,05 vs INF.

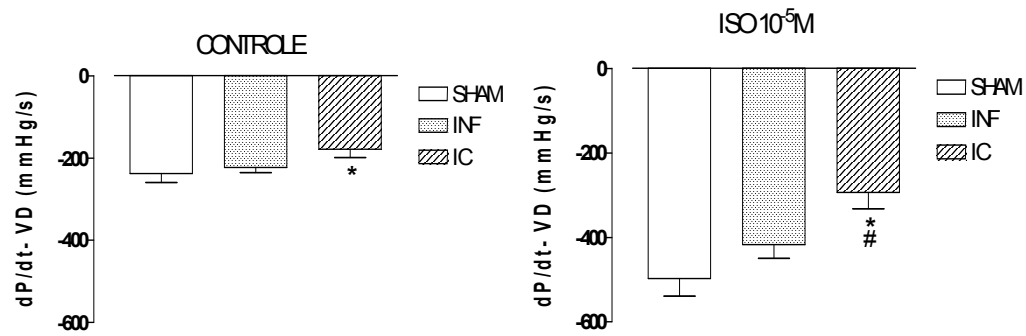


Figura 19: Variação da primeira derivada temporal negativa de pressão obtida dos ventrículos direitos dos animais SHAM (n=11); INF (n=11) e IC (n=11). Protocolo realizado em PD constante de 5 mmHg e concentração extracelular de cálcio 0,62 mM. A: situação controle; B: injeção in bolus de 0,1mL de solução de Isoproterenol 10^{-5} M. Dados expressos como Média \pm EPM. ANOVA 1 via, post hoc Fischer LSD. * $p < 0,05$ vs SHAM; # $p < 0,05$ vs INF.

DISCUSSÃO

O principal achado deste trabalho é que ratos infartados com sinais de IC apresentam um desempenho ventricular direito melhor *in vivo* do que *in vitro*. Observou-se que o infarto por si só não prejudicou a função ventricular direita *in vivo*, mas determinou piora da contratilidade quando avaliado *in vitro*. Em termos absolutos, o estudo *in vitro* demonstrou que, comparado com o grupo INF, o grupo IC apresenta um prejuízo maior nos mecanismos de regulação da contratilidade homeométricos e heterométricos. Tais observações sugerem que o coração insuficiente esteja utilizando mecanismos de adaptação neuro-humorais e intrínsecos para manter sua função de bomba em detrimento da sua função de mecânica.

Até o momento, não se havia comparado a função de bomba em animais infartados, com mesma área de cicatriz, mas que apresentassem ou não sinais de IC. Este estudo é relevante para se descartar a possibilidade de que a menor contratilidade das tiras de VD observada no grupo IC (Fernandes, 2006) poderia ser decorrente de uma nutrição tecidual inadequada. Nas preparações de músculo isolado o processo de nutrição tecidual se faz por mecanismo de difusão e não via capilares como é o caso das preparações de coração inteiro estudadas usando a técnica de Langendorff. Considerando que as tiras de VD do grupo IC apresentaram hipertrofia, este fato por si só já poderia limitar a nutrição tecidual reduzindo a contratilidade miocárdica uma vez que um dos fatores que limitam a nutrição é a difusão a qual é inversamente proporcional à distância na qual o nutriente precisa percorrer. Para tanto, foram realizadas análises hemodinâmicas na câmara ventricular direita e em seguida o coração foi isolado para o estudo da sua função da bomba.

Em humanos o diagnóstico da IC se baseia nos sinais e sintomas do próprio coração com insuficiência, como a dispnéia e a fadiga. Nos modelos atuais de classificação, a IC humana é definida em diferentes níveis em função de métodos diagnósticos que utilizam-se da história e exame físico, estudos laboratoriais, eletrocardiograma, radiografia do tórax e ecocardiograma do

paciente (Shamsham e Mitchell, 2000). Entretanto, nos modelos experimentais não existem critérios clínicos classificatórios como para os humanos. No modelo experimental de IAM, a IC está relacionada com as alterações hemodinâmicas e estruturais no coração e pulmão.

1- AVALIAÇÃO PONDERAL E AS ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS

1.1 AVALIAÇÃO PONDERAL

Nas avaliações ponderais do presente estudo, o grupo IC apresentou aumento da razão entre o peso do pulmão e o peso corporal. O aumento da razão do VD e do peso corporal é um indicativo indireto de hipertrofia do VD. Apenas nos animais em que foi evidente o aumento de peso do pulmão apresentaram aumento da razão VD e do peso corporal. Estes dados corroboram os resultados de Davidoff *et al* (2004), Gilberti (2005), Pereira *et al.*, (2005) e Fernandes (2006) que diferenciaram ratos com sintomas de IC de animais assintomáticos após o IM através da medida do aumento da razão PP/PC e VD/PC.

1.2 ESTADO HEMODINÂMICO DO VE

Neste trabalho, os animais inicialmente foram analisados *in vivo*, para a avaliação hemodinâmica e posterior identificação dos sub-grupos INF e IC de acordo com o prejuízo da função no VE em conjunto com as alterações cardiopulmonares já bem estabelecidas (Anversa *et al.*, 1985; Davidoff *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2005). As pressões sistólica ventricular e arterial não foram diferentes entre os grupos estudados. No entanto, no grupo IC a manutenção da pressão sistólica ocorreu à custa de um aumento da pressão diastólica final do VE. Estes resultados são corroborados pelos trabalhos de Pereira *et al.*, 2005 e Fernandes (2006) que também sugeriram, através dos redução dos

valores dP/dt no VE, que nos animais com IC a contratilidade estava prejudicada. O grupo INF manteve a pressão sistólica sem haver alteração da pressão diastólica final do VE.

Um dos sinais patológicos da disfunção cardíaca foi a elevação da PDF no VE e a manutenção da PS VE igual ao grupo Sham. Segundo Anversa *et al* (1985), a pressão diastólica final acima de 15 mmHg é um fator determinante para se comprovar a instalação da IC após IM. Neste ponto algumas considerações são relevantes. Por que, apesar da mesma área de infarto e sob as mesmas influencias externas, parte dos animais infartados permanecem assintomáticos enquanto outros evoluíram para o estabelecimento da IC? O remodelamento ventricular indiretamente identificado através do aumento da pressão diastólica final do VE, seria uma consequência mal adaptativa da IC estabelecida? Ou trata-se de um mecanismo compensatório que por si só levará invariavelmente a progressão da IC? Para responder a tais questões uma avaliação mais detalhada em termos de acompanhamento da progressão da IC precisaria ser realizada em tais modelos experimentais. Entretanto, é relevante se destacar o que se tem abordado até então na literatura.

1.3 O REMODELAMENTO DO VE

A IC é uma síndrome complexa caracterizada pela soma de múltiplas alterações anatômicas, funcionais e biológicas. Estas por sua vez, interagem em conjunto de forma extremamente complexa e em diferentes níveis sob um sustentado, porém variável período de tempo. Dessa forma, as diversas investigações tem se baseado em várias hipóteses sistemáticas na tentativa de melhor descrevê-la (Mann, 1999). Inicialmente os clínicos a relacionavam apenas a um problema excessivo de retenção de água e sal causado por alguma falência cardio-renal. Por outro lado, os fisiologistas a analisavam também sob o ponto de vista hemodinâmico, constatando o reduzido débito cardíaco, bem como a excessiva vasoconstrição periférica, o que levava ao desenvolvimento de um modelo hemodinâmico para a doença. Todavia, as estratégias terapêuticas apresentadas baseadas em tais modelos foram

incapazes de prevenir a progressão desta síndrome, nem prolongar a vida de pacientes com moderada e severa IC (Paker, 1992; Massie, 1998).

Tornou-se cada vez mais corrente o conceito que, em algum ponto da patogênese da IC, a doença progredirá de forma independente do estado hemodinâmico do paciente. Reconhecidamente, a IC tem sido vista como uma desordem progressiva, que é iniciada após um evento inicial no músculo cardíaco, resultando em menos miócitos funcionais, ou alternativamente um incapacidade do miocárdio gerar força, ou seja, incapacidade contrátil. Este evento inicial pode ser abrupto como no caso do IAM.

A partir da injúria inicial, dois caminhos são possíveis. O paciente pode permanecer de assintomático a minimamente sintomático, ou evoluir para o desenvolvimento de sintomas. Sob esta ótica pode-se concluir que a disfunção do VE é necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento da síndrome da IC (Mann e Bristow, 2005). Uma questão pode ser levantada neste momento é por que e como a transição para o estado sintomático ocorre. Sugere-se tanto a hipótese neuro-humoral (Paker, 1992) quanto o remodelamento ventricular (Cohn, 1995), as quais são alterações inicialmente adaptativas e que se tornam progressivamente mal adaptativas. Tratando-se da hipótese neuro-humoral sugere-se que a IC progride como resultado de uma super expressão de moléculas biologicamente ativas que são capazes de exercer efeitos deletérios no sistema cardiovascular (Bristow, 1984, Tan *et al.*, 1991). A noradrenalina, a angiotensina II, a endotelina, a aldosternona e o fator de necrose tumoral (TNF), que têm sido considerados como algumas das moléculas biologicamente ativas com propriedades bioquímicas suficientes para contribuir com a progressão da doença no coração insuficiente (Mann e Bristow, 2005) Nesta hipótese a ativação neurohumoral é inicialmente benéfica e atua como uma resposta adaptativa na IC. Entretanto, eventualmente a excessiva produção desses neurohormônios torna-se mal adaptativa levando a progressão da IC através de vários mecanismos, incluindo a fibrose, o remodelamento contínuo do VE e morte celular por necrose e apoptose (Ferrara *et al.*, 2002). Entretanto, tal modelo falha em explicar todos os aspectos do desenvolvimento da IC, uma vez que já é bem documentado que a IC pode progredir independente do estado neurohumoral do paciente (Mann e Bristow, 2005).

Vários trabalhos têm demonstrado que o remodelamento do VE está diretamente relacionado a uma futura deterioração no desempenho do VE e um curso clínico menos favorável em pacientes com IC (Douglas *et al.*, 1989, Vasan *et al.*, 1997). Apesar de alguns investigadores verem o remodelamento do VE como simplesmente uma resposta final do órgão que ocorre após anos de exposição aos efeitos tóxicos da estimulação neuro-humoral, outros tem sugerido que o remodelamento pode contribuir de forma independente para a progressão da IC (Cohn, 1995). O remodelamento, nestes termos, refere-se a mudanças volume do VE não relacionado a aumento do comprimento do sarcômero mediado pela pré-carga. Acredita-se que em resposta a uma injúria miocárdica com no IAM o ventrículo pode sofrer alterações na sua geometria, volume, massa e estrutura celular. O termo “remodelamento” tem sido introduzido para descrever esse processo (Muller *et al.*, 2002; Cohn, 1995). Várias desvantagens mecânicas que ocorrem durante o processo de remodelamento podem contribuir para a piora da IC. Entre elas está o aumento do estresse de parede, a hipo-perfusão subendocárdica, o aumento da utilização de oxigênio dentre outras. Contudo, a dilatação tem sido vista inicialmente como uma resposta compensatória para manter o volume sistólico através do mecanismo de Frank-Starling e progressivamente tornar-se-ia uma resposta mal adaptativa devido ao aumento do estresse de parede. Mas restaria responder ainda se a dilatação ocorreu como consequência de uma insuficiência contrátil do ventrículo seguida de um aumento da pré-carga, ou será que o remodelamento por si só é a causa da IC?

Discussões sobre o mecanismo fisiopatológico da IC têm ocupado páginas de editoriais de importantes publicações científicas por mais de 100 anos (Francis, 2000). Em 1960, Linzbach apresentou uma teoria anatômica para explicar a fisiopatologia da IC. Linzbach defendia um ponto de vista morfológico a respeito da hipertrofia e da IC, enquanto patologistas acreditavam em uma anormalidade funcional primária. Apesar da teoria funcional para a IC ter gradualmente sido aceita pelos investigadores nos últimos anos, há agora um crescente reconhecimento que o remodelamento ventricular e problemas relacionados ao remodelamento poderiam ser o fator causal da IC. Logo, a alteração estrutural não estaria relacionada com a etiologia da patologia cardíaca, mas representaria mais uma mudança intrínseca que progride com o

tempo em resposta a um estímulo inicial (Cohn, 1995). Dessa forma as anormalidades funcionais seriam mais bem descritas como um fenômeno secundário. Linzbach (1960) demonstrou que o comprimento do sarcômero não é alterado por hipertrofia ou dilatação patológica. O remodelamento pode ser caracterizado como um aumento desproporcional progressivo na razão do raio do VE e espessura da parede como resposta a uma disfunção contrátil de cardiomiócitos ou a uma perda de miócitos (Muller, 2002). Entretanto, duas hipóteses ainda devem ser testadas. Será que o fato de que, em alguns animais, o infarto não tenha evoluído para a IC seria porque a disfunção sistólica do VE, já bem observada nestes animais (Fernandes, 2006), ainda não teria sido capaz de estimular o remodelamento ventricular que culminaria com a instalação e progressão da IC? Ou então, os animais infartados sem sinais de IC estariam então em uma fase assintomática, e progrediriam, com o tempo, para uma fase sintomática, mas de forma não dependente do remodelamento estrutural do VE? No presente trabalho não se investigou tais questões, atentando-se apenas da comparação da função mecânica e muscular destes dois subgrupos experimentais observados.

1.4 ESTADO HEMODINÂMICO DO VD E SUAS REPERCUSSÕES PULMONARES.

Neste trabalho, além da elevação da PDf no VE, foram considerados ainda como sinais de IC, a elevação da razão do peso do pulmão e do peso corporal acompanhada de hipertrofia do VD.

Em 1936 foi estabelecido que a causa mais comum da hipertrofia do VD era de fato a distensão e insuficiência do VE (Thompson e White, 1936). A hipertrofia no VD tem sido relacionada com o estado hemodinâmico da câmara esquerda (Anversa *et al.*, 1984; Pfeffer *et al.*, 1985; Patten *et al.*, 1998; Brower *et al.*, 2001). Em 1993 Hirose e cols. demonstraram que a dilatação e o remodelamento do VD ocorrem em pacientes com infarto transmural no VE. Também tem sido proposto que ela é desencadeada não apenas por fatores mecânicos, mas também devido à ativação humoral (Nahrendorf *et al.*, 2003).

Outros autores citam que a dilatação bi-ventricular observada em grandes infartos está frequentemente associada a uma congestão pulmonar (Bussani, 2003) ou mais especificamente ao remodelamento ventricular (Jasmim *et al.*, 2004).

A hipertensão pulmonar é uma complicação freqüente da ICC, que está associada a uma redução da capacidade de exercício e leva a uma piora do prognóstico, especialmente quando associada a uma disfunção ventricular direita (Butler *et al.*, 1999; Ghio *et al.*, 2001). O aumento da razão peso do pulmão e peso corporal pode ser uma evidência da instalação da hipertensão pulmonar (Francis *et al.*, 2001). Segundo Jasmin *et al* (2003) esse aumento da razão PP/PC se deve mais ao remodelamento pulmonar que ao edema decorrente da IC, uma vez demonstrado que não houve alteração na relação peso úmido/ peso seco do pulmão sugerindo uma ausência na formação de edema significativo nos pulmões de ratos infartados. Outros estudos encontram os mesmos resultados (Hill e Singal 1996; Saito *et al.*, 2002). A proposta seria que a redução da fração de ejeção do VE leve um acúmulo de sangue nesta câmara e, de forma retrograda, nos pulmões o que conseqüentemente resultaria no remodelamento pulmonar. Este é por sua vez, resultado da proliferação de miofibroblastos e à deposição de colágeno e reticulina, promovendo o enrijecimento do septo alveolar (Jasmin *et al.*, 2003 e 2004).

Em 2006, Lefebvre *et al.*, testaram a hipótese de que a ativação do SRA, característica na ICC, poderia contribuir de forma direta para a proliferação dos miofibroblastos, pois os pulmões são o principal sitio primário da ECA. Desta forma uma produção aumentada de angiotensina II local culminaria com a proliferação celular. Eles observaram modificação no SRA pulmonar na ICC com aumento nos níveis de angiotensina II e mudança na expressão de AT1 nos miofibroblastos, nos animais com IC. Também foi observado que animais sem IC a infusão de angiotensina II por 28 dias não causou hipertensão pulmonar, nem remodelamento e nem mudança na expressão de AT1. Estes dados sugerem, portanto, a importância dos níveis locais de angiotensina II combinado a outros fatores ativados na ICC.

Ainda uma outra proposta para tentar explicar o remodelamento do VD na IC é a alta taxa de apoptose após o IAM. Esta hipótese foi testada por Bussani *et al* (2003) em necropsia de corações de pacientes que sofreram IAM.

Estes autores verificaram o importante papel da perda progressiva de miócitos no remodelamento do VD.

Os resultados da função ventricular direita, avaliados no animal *in vivo*, identificaram um padrão de resposta diferente do observado nas tiras de VD. Foi evidente no grupo IC o aumento significativo da PDf bem como da PS e da contratilidade (dP/dt) na câmara direita. Tal achado sugere inicialmente que houve um remodelamento no VD e este não causou uma insuficiência contrátil. Em termos gerais, este remodelamento levou até mesmo a uma melhora na função mecânica e muscular do VD, uma vez que a dilatação da câmara foi acompanhada de um aumento da PS e da contratilidade, demonstrando uma preservação do mecanismo de Frank-Starling. Os resultados de Nahrendorf e cols (2003) não corroboram nossos resultados. Os autores demonstraram que em animais IC, 8 semanas após sofrerem IAM, com áreas de IAM maior que 35%, não houve aumento da PDf, da PS, e nem da dP/dt máxima no VD. Entretanto, o trabalho de Jasmin *et al* (2003), em animais infartados de 8 semanas e com sinais de IC são similares aos resultados obtidos no presente trabalho. Os animais apresentaram também uma hipertrofia VD, além de valores de PS, PDf e dP/dt máxima aumentados.

Desta análise inicial, a capacidade intrínseca do coração parecia então ser um dos mecanismos pelo qual o VD, nos animais IC, estava mantendo o seu desempenho apesar da lesão e falência do VE. Para verificar a participação relativa dos mecanismos intrínsecos independente dos neurohumorais estudou-se o coração *in vitro*.

2- DESEMPENHO VENTRICULAR DIREITO *IN VITRO*

Ainda restava testar a hipótese de que a menor contratilidade das tiras de VD, observada no grupo IC por Fernandes (2006), não poderia ter sido provocada por uma limitação técnica da preparação isolada, mas sim uma consequência da incapacidade mecânica já instalada nestes animais. As tiras isoladas do VD naquele trabalho poderiam ter tido uma nutrição tecidual inadequada devido a hipertrofia presente no grupo IC. Para tanto, protocolos de auto-regulação heterométrica e homeométrica do desempenho do VD foram realizados.

2.1 AUTO-REGULAÇÃO HETEROMÉTRICA - O MECANISMO DE FRANK-STARLING

Na preparação de Langendorff, foi observado que o mecanismo de Frank-Starling, em termos absolutos, estava prejudicado no grupo IC. Também a dP/dt máxima e mínima foram significativamente reduzidas neste grupo. Estes resultados confirmam o fato de que o remodelamento estrutural no VD, por si só, não foi capaz de preservar o seu desempenho como bomba e músculo.

Tais achados são corroborados com os de Tombe *et al* (1996), em trabéculas isoladas de VD de ratos após 24 semanas infarto com sinais clínicos de IC. Os autores demonstraram a depressão da relação força-comprimento do sarcômero, sugerindo que o estado contrátil intrínseco do VD estava deprimido nestes animais. Entretanto, eles mesmos concordam que não se poderiam estender seus resultados para definir o impacto da disfunção do VE sobre o VD *in situ* uma vez que esta não foi avaliada. Seria possível que a função do VD *in situ* estivesse preservada devido à hipertrofia relativa constatada ou devido aos altos níveis de catecolaminas circulantes. Tal hipótese foi comprovada no presente trabalho, que não apenas a hipertrofia, mas outros fatores neuro-humorais poderiam estar, em conjunto, conservando a função do VD.

Os resultados de Stefanon *et al* (1994) foram diferentes do presente estudo. Foi demonstrado que entre 4 e 5 semanas após o infarto, o VD apresentava preservação do mecanismo de Frank-Starling, e os autores

sugeriram neste caso, que a hipertrofia instalada no VD teria sido capaz de manter da função mecânica. Porém, até aquele momento, os subgrupos INF e IC não eram considerados, e talvez isso levasse a mascarar os resultados.

No trabalho de Daniels *et al* (2001) os autores estudaram ratos após 12 semanas após IAM, que apresentavam hipertrofia do VD e dilatação e hipertrofia do VE. Eles observaram que a relação força ativa e comprimento do sarcomero diminuída, em trabéculas intactas de VD, sugerindo que o estado contrátil do VD estava prejudicado. Tais resultados são coerentes com nossos demonstrando que o mecanismo de Frank-Starling, de fato, está prejudicado nos animais com sinais de IC.

2.1 AUTO-REGULAÇÃO HOMEOMÉTRICA – RESPOSTA INOTRÓPICA POSITIVA AO CÁLCIO

Uma segunda proposta seria estudar a resposta inotrópica positiva ao Ca^{2+} extracelular através de uma curva concentração-resposta de Ca^{2+} com concentrações crescentes deste íon (0,62; 1,87; 1,25; 2,5; 3,12; 3,75 mM). Há uma relação direta entre concentração de Ca^{2+} e aumento da força no miocárdio. Isto é devido à afinidade da TnC ao cálcio, que é crucial para a seqüência de interações entre as proteínas contrateis, actina e miosina, e permitir a produção de força (Langer, 1992, Moss, *et al.*, 2004).

No presente trabalho, a resposta inotrópica positiva ao cálcio, no VD, foi prejudicada no grupo INF em concentrações elevadas de cálcio, enquanto que no grupo IC foi significativamente menor em todas as concentrações de cálcio tanto em relação ao controle quanto ao grupo INF. Fernandes (2006) observou, na preparação de tiras de VD desses animais, que o prejuízo da resposta contrátil só se manifestou em animais insuficientes e se manteve preservada em animais infartados sem insuficiência. Stefanon *et al* (1994) demonstraram em animais de 30 dias após o infarto com sinais de IC, que em preparação de coração isolado, a resposta inotrópica positiva ao cálcio estava preservada, apenas em termos absolutos. Esse mesmo grupo demonstrou, em tiras de VD, uma preservação da responsividade ao cálcio nos animais infartados (Novaes *et al.*, 1996). Vários trabalhos têm relatado que após o infarto uma intervenção

inotrópica como a variação extracelular de cálcio está deprimida em ambos os ventrículos (Mill *et al.*, 1991 e 1994; Stefanon *et al.*, 1994).

No presente estudo foi verificado, em termos absolutos, uma menor responsividade ao cálcio no grupo IC, e em termos relativos, uma preservação desta resposta. Estes resultados sugerem que o problema não estaria na perda de sensibilidade das proteínas contráteis ao cálcio. Tal fato também foi observado nos estudos de Daniels *et al.* (2001) em trabéculas isoladas de VD, em animais de 12 semanas de IAM, com sinais de IC. Estes autores observaram que a sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio não estava alterada.

Portanto, é provável que talvez a disponibilidade deste íon é que esteja prejudicada. Logo, os possíveis prejuízos poderiam estar na redução dos níveis de cálcio no retículo sarcoplasmático, ou um defeito na liberação de cálcio-cálcio induzida.

2.1.1 O PAPEL DO RETICULO SARCOPLASMÁTICO (RS)

Afzal *et al.* (1992) demonstraram em animais 8 semanas após IAM, com sinais de IC, que a captação de cálcio no VD está aumentada. Os autores sugeriram que tal diferença era devida ao VD estar em um estágio de compensar a IC já instalada no VE. Entretanto, os dados de Fernandes (2006) não são coerentes com esta hipótese, pois foi demonstrada a ausência da potenciação pós-pausa no VD do grupo IC o que sugere prejuízo funcional do retículo sarcoplasmático neste grupo.

Recentes estudos têm mostrado um transiente intracelular de cálcio anormal no miocárdio de pacientes com IC. Devido a presença de um canal liberador de cálcio (receptor de rianodina) e a bomba de cálcio do RS (SERCA2a), reconhecidamente o RS libera e acumula cálcio e tem um papel crítico na contração e relaxamento no miocárdio (Dalla *et al.*, 1978). Outras proteínas como a fosfolambam e a calsequestrina (que ligada ao cálcio o mantém dentro do RS) também participam de forma importante na homeostase do cálcio (Shao *et al.*, 2005). Arai *et al.* (1993) estudando a expressão protéica

do RS em VD e VE de pacientes com IC constataram que os RNAm de RyR2, SERCA2a e fosfolambam estavam inversamente correlacionados com o RNAm do ANP (peptídeo natriurético atrial), sugerindo que a expressão desses RNAm estão reduzidas na IC severa. Entretanto, os níveis de calsequestrina estavam inalterados. Apesar de uma variedade de defeitos terem sido identificados no receptor de rianodina, SERCA2a e fosfolambam no RS, a calsequestrina parece ser resistente a diferentes estímulos fisiopatológicos (Dhalla *et al.*, 1998).

As anormalidades em cardiomiócitos, de diferentes tipos de corações insuficientes, têm sido atribuídas primariamente em mudanças na membrana do RS. No modelo de IC após IAM em ratos, tem sido relatado que a captação de cálcio pelo RS, a liberação de cálcio e o conteúdo protéico e expressão gênica de proteínas do RS estão deprimidas em corações insuficientes no VE (Afzal e Dhalla, 1992 e 1996; Zarain-Herzberg *et al.*, 1996). Shao *et al.*, (2005) demonstraram que no VE de animais com sinais de IC após 7 semanas do IAM há uma redução da atividade de liberação e recaptação de cálcio pelo RS, além de reduzida atividade da SERCA2a. Eles também relataram uma redução do conteúdo protéico e da expressão gênica do receptor de rianodina, da SERCA2a e do fosfolambam. Os autores então sugeriram que as alterações nas expressões gênica e protéica poderiam levar as mudanças na estrutura molécula da membrana do RS com respeito a seu conteúdo protéico, tal que o remodelamento no RS poderia estar envolvido no desenvolvimento da IC.

O trabalho de Schultz *et al* (2004) também no VE sugeriu que uma redução no nível da SERCA levaria a disfunção cardíaca e a IC, quando o coração está submetido a uma aumentada demanda fisiológica. Os autores também constataram que corações com reduzidos níveis de SERCA2a estão em maior risco de desenvolver IC, portanto sugerindo que a redução da SERCA2a pode contribuir para a piora da função, portanto levando a IC. Kügler *et al* (2006) sugeriram que o BNP, um marcador de IC, pode ter um papel crítico na patogênese desta. Os autores sugeriram que a pré-carga estimula a expressão da SERCA, e por sua vez, o BNP antagoniza este mecanismo via Guanilil ciclase A, GMPc e proteína quinase dependente de GMPc. Esta ação do BNP, que desacopla a expressão da SERCA dependente de pré-carga, pode afetar adversamente a contratilidade em pacientes com IC.

Em relação a SERCA2a, que é a principal regulador da contratilidade e relaxamento cardíaco, também tem sido demonstrado, em ratos com IC após 12 semanas de IAM, que a sua expressão no VD está reduzida, mas os níveis protéicos de fosfolambam e RyR2 não estavam alterados (Daniels *et al.*, 2007). As trabéculas isoladas de VD desses animais apresentavam um menor desenvolvimento de força máxima em resposta ao aumento do cálcio extracelular e não foi evidente a alteração na sensibilidade dos miofilamentos contráteis ao cálcio. Estes resultados corroboram com o presente estudo no coração isolado. Ao contrário, em VD de cães com IC, já havia sido confirmado não haver alterações significantes nem na atividade e nem na expressão da SERCA, enquanto que no VE, tais parâmetros estavam reduzidos (Gupta *et al.*, 1997; Gupta *et al* 1999).

Tais fatos, juntamente com os achados de Afzal *et al* (1992) sobre a captação aumentada de cálcio pelo VD, sustentariam a idéia de Sathish *et al* (2006) sobre uma reserva diastólica do VD. Curiosamente, esta linha de raciocínio é coerente com os dados do presente estudo realizado *in vivo*. Este fato poderia ser interpretado como uma reserva diastólica no VD usada para compensar a IC instalada no VE. Sathish *et al* (2006), estudando o retículo sarcoplasmático do VD e VE em ratos saudáveis identificaram que o VD, apesar de apresentar uma menor captação de cálcio pelo retículo em relação ao VE, os níveis protéicos da SERCA2a eram similares nas duas câmaras. Contudo, a maior fração da bomba no VD está funcionalmente inerte devido a sua associação estável com o fosfolambam e isto implica em uma reserva diastólica que pode ser requerida para protegê-lo e manter sua função frente a um súbito aumento pós-carga a esta câmara.

Desta forma, apesar de neste trabalho não ter sido medida diretamente a função do retículo sarcoplasmático, restaria ainda responder se a melhora observada na câmara direita dos ratos IC poderia estar sendo influenciada por uma melhor utilização da SERCA2a. Portanto, seria necessário investigar nesses animais IC a expressão e a atividade da SERCA, para de concluir com segurança se a compensação do VD observada *in vivo* tem participação efetiva da SERCA2a.

Além da participação da SERCA/fosfolambam os receptores de rianodina (RyR2) também estão envolvidos no diretamente no desempenho muscular

devido sua participação na liberação cálcio-cálcio induzida. Alguns estudos no VE demonstram diminuição na densidade dos receptores de rianodina após o IM (Shao *et al.*, 2005; Houser *et al.*, 2000; Bers *et al.*, 2003). Os resultados de Daniels *et al.* (2007) não evidenciaram alterações nos níveis protéicos de RyR2 em VD dos animais IC. Em corações humanos e de cães com IC, têm sido demonstrado, no VE, uma maior fosforilação do receptor de rianodina (RyR2), através da PKA, devido ao aumento persistente da ativação β -adrenérgica (Marx *et al.*, 2000). Tal fato tem aumentaria a probabilidade de abertura dos canais de rianodina. Entretanto, é questionável se há mesmo uma hiperfosforilação desses receptores (Xiao *et al.*, 2005). Além disso, tem sido demonstrado que a fosforilação, por si só, não é capaz de alterar a atividade dos RyR2 (Stange *et al.*, 2003).

A liberação espontânea de cálcio do RS durante a diástole é mínima em trabéculas de VD de ratos normais, e ocorrem somente na forma de “sparks” de cálcio sem induzir a atividade contrátil microscopicamente visível (Wiewr *et al.*, 1997). Entretanto, em ratos com IC, foram detectadas notáveis flutuações no comprimento do sarcômero, acompanhada de propagação de ondas contráteis devido a liberação propagada de cálcio do RS no VD (Davidoff *et al.*, 2004). Essas flutuações do tamanho do sarcômero reduzem a força e a frequência cardíaca e podem causar arritmias. Parece que a ativação dos receptores de rianodina está envolvida na liberação espontânea de Ca^{2+} levando a redução da contratilidade durante a IC (Reiken *et al.*, 2003). Especificamente essas alterações no VD forma estudadas por Obayashi *et al.* (2006) em ratos 3 meses após IAM. Um fato interessante é que estes autores também identificaram 2 subgrupos de infarto. Um sem sinais de IC, e outro com sinais de IC, entretanto os animais IC apresentavam uma maior área de infarto. Foi então demonstrado, em trabéculas de VD, que a fosforilação do receptor RyR2, por si só, não é a causa das contrações espontâneas em ratos com IC, sugerindo que outros fatores que não a fosforilação do receptor RyR2 poderiam estar envolvidos na alteração da sua função. Os autores sugerem que a liberação espontânea de cálcio do RS causa uma incapacidade do músculo cardíaco insuficiente responder a um aumento de frequência cardíaca ou a uma estimulação simpática.

2.1.2 PAPEL DOS CANAIS DE CÁLCIO

Ainda restaria definir sobre o estado dos canais de cálcio do sarcolema. No VE, a entrada de Ca^{2+} através de canais do tipo-L foi avaliada por Sjaastad *et al* (2003). Estes autores não detectaram diminuição na densidade desta corrente e constataram que na IC esta via de entrada de Ca^{2+} não sofre alterações. Por outro lado, Saraiva *et al.* (2003) demonstraram uma diminuição do influxo de Ca^{2+} através dos canais de Ca^{2+} do tipo-L. Além disso, Gómez *et al* (2001) mostraram que o conteúdo de Ca^{2+} do RS está preservado e atribuíram a alteração do movimento de Ca^{2+} ao defeito na sinalização da liberação de Ca^{2+} . Todas essas vias investigadas no VE ainda restariam ser avaliadas no VD.

No presente trabalho foi também demonstrado que no grupo IC tanto a contratilidade quanto o relaxamento estavam prejudicados na curva de cálcio. Estes resultados são sugestivos, porém não conclusivos de quaisquer alterações no processo de acoplamento excitação-contração. Logo, presume-se que há um prejuízo na disponibilização de cálcio mioplasmático, mas restaria ainda avaliar precisamente a função do RS para identificar as diferenças observadas nos grupos INF e IC.

2.2 AUTO-REGULAÇÃO HOMEOMÉTRICA – RESPOSTA INOTRÓPICA POSITIVA AO ISOPROTERENOL

Os receptores adrenérgicos formam a interface entre o sistema nervoso simpático e o sistema cardiovascular. A função cardiovascular é altamente regulada pelo sistema nervoso simpático. Em resposta a vários estímulos, incluindo exercício e menor aporte sanguíneo para os músculos, um aumento no débito cardíaco é alcançado com um incremento do sistema nervoso simpático, que através de receptores β -adrenérgicos aumentam a frequência, a força contrátil e a taxa de relaxamento cardíacos (Brum *et al.*, 2006). Sabe-se que a modulação do sistema nervoso simpático sobre o coração exerce

importante efeito sobre o desempenho ventricular, e é portanto, reconhecido como um mecanismo extrínseco de regulação da contratilidade.

Os resultados sobre o controle homeométrico da contratilidade do VD, modulada pelo sistema nervoso autônomo, foram diferentes entre os grupos estudados. No grupo IC, a resposta ao isoproterenol foi significativamente inferior ao grupo INF e SHAM, tanto índices de contratilidade quanto no relaxamento muscular. O grupo INF manteve preservado a PS e o relaxamento, apenas com prejuízo na contratilidade. Estes resultados confirmam os obtidos nas tiras de VD (Fernandes, 2006).

No coração saudável, os subtipos $\beta 1$ e $\beta 2$ são expressos em uma razão de 70:30 e ambos aumentam a frequência e contratilidade cardíaca (Wallukat, 2002). Gauthier *et al.*, (1996) evidenciaram a expressão de um terceiro receptor β -adrenérgico, em biópsias de obtidas do septo interventricular direito de corações humanos transplantados, o subtipo $\beta 3$. Estes têm sido relacionados ao efeito inotrópico negativo no coração, resultados obtido em miócitos ventriculares de VD e VE (Device *et al.*, 2001). O mecanismo para tal resposta foi proposto por Gauthier *et al.*, (1998), e envolve a ativação da via do NO, ou seja, aumento dos níveis de GMPc que por sua vez, ativa fosfodiesterases que reduzem os níveis de AMPc.

A IC causada por diversas etiologias é caracterizada por uma hiperatividade simpática, paralela a uma redução na densidade de β -receptores no coração, resultando em uma proporção de 50:50 de $\beta 1$ e $\beta 2$ (Wallukat, 2003). Também é evidente a dessensibilização dos receptores remanescentes, no VE, levando a uma marcante bloqueio da resposta contrátil a uma ativação dos receptores β -adrenérgicos (Bristow *et al.*, 1982). Além disso, alterações na sinalização β -adrenérgica tem sido observadas tanto na proteína Gi, na adenilato ciclase e na quinase dos receptores β , a GRK2 (Post *et al.*, 1999). A ativação sustentada dos β -receptores na IC de diferentes etiologias tem sido relacionada com aumento da expressão de Gi (Feldman *et al.*, 1988), levando a uma redução da razão Gs:Gi. no VE. No trabalho de Ping e Hammond, (1994) foi demonstrado que em corações de cobaias saudáveis a expressão do RNAm para Gi e Gs é maior no VE em relação ao átrio direito (AD) e a expressão do RNAm para receptores $\beta 1$ e $\beta 2$ são similares. Entretanto nos animais com IC observou-se um aumento da expressão do RNAm para Gi e Gs no AD e uma

redução no VE, enquanto um similar redução da expressão do RNAm para receptores β_1 . Também isoformas V e VI da adenilato ciclase foram relatadas estarem com níveis proteicos e de RNAm reduzidos em VE de corações insuficientes (Ishikawa *et al.*, 1994). A menor expressão dos receptores β e a dessensibilização, bem como a redução da razão Gi:Gs e das isoformas de adenilatociclase culminam com a redução da produção de AMPc, levando a uma diminuição da ativação da PKA. Entretanto, a redução do AMPc parece não influenciar a atividade da PKA sobre os receptores RYR2. É bem demonstrado que eles estão hiperfosforilados em corações insuficientes (Mark *et al.*, 2000; Wehrens *et al.*, 2005). Este estado hiperfosforilado do RyR2 está associado com uma dissociação de uma proteína que estabiliza o seu estado fechado, a FKBP12.6, resultado em uma depleção dos estoques de cálcio do retículo sarcoplasmático. Também foi demonstrado que apesar da fosforilação do fosfolambam estar reduzida (Schwinger *et al.*, 1999), a fosforilação via PKA parece estar preservada na IC (Bohm *et al.*, 1994; Kirchhefer *et al.*, 1999).

Moniotti *et al* (2001) demonstraram em VE de corações humanos insuficientes uma maior expressão dos receptores β_3 e uma alterada resposta contrátil. Bendall *et al* (2004) demonstraram uma maior expressão da isoforma neuronal da óxido nítrico sintase (nNOS) no VE. Estes autores também demonstraram que a inibição desta enzima melhora a resposta contrátil do VE ao isoproterenol em animais com IC.

Tais evidências poderiam também ser estudadas no VD para se determinar, tanto se a expressão do receptor β_3 quanto qual isoforma de NOS poderiam estar alteradas nesta câmara nesses animais insuficientes.

Em 1997 Sethi *et al.*, estudaram os receptores beta-adrenergicos e a atividade da adenilato ciclase no VE e VD em ratos infartados. Esses autores demonstraram que a densidade dos receptores β_1 estava reduzida no VE, mas não no VD também que a atividade catalítica da adenilato ciclase estava deprimida no VE enquanto inalterada no VD também demonstraram que o conteúdo de AMPc estava aumentado no VD. Em 2006 Sethi *et al* também demonstraram em animais de 8 semanas de IAM houve um aumento da transdução do sinal beta adrenérgico. Esses resultados explicariam também a diferença observada *in vivo* nos animais IC, uma vez que a ativação neurohumoral clássica na IC poderia estar mantendo os mecanismos de

transdução de sinal via receptores β -adrenérgicos. Entretanto, também deve ser considerado que os dois subgrupos IC e INF não foram identificados o que poderia mascarar os resultados.

Neste presente trabalho, os achados *in vitro* sugerem apenas que a IC leva na câmara direita a uma hipo-responsividade a estimulação beta adrenérgica. Entretanto, restaria ainda se confirmar estes animais se de fato há uma alteração na densidade de receptores β_1 e conseqüentemente, a um prejuízo na suas respostas intracelulares, ou se há uma super-expressão do subtipo β_3 que poderia estar levando a uma hipo-responsividade neste grupo.

CONCLUSÃO

O achado mais importante deste trabalho é que, na comparação, pela primeira vez realizada nestes animais INF e IC com mesma área de infarto, acrescentou uma importante consideração sobre o grupo IC. Enquanto *in vitro* o VD dos animais IC está mecanicamente deficiente, *in vivo* está com sua função aperfeiçoada. Uma vez demonstrado no coração isolado destes animais um prejuízo do mecanismo de Frank-Starling, torna-se evidente a participação de mecanismos neuro-humorais conservando a função mecânica do VD.

Os achados permitem supor a existência de uma reserva diastólica do VD no animal IC que se manifesta no coração *in vivo*, mas não *in vitro*. Nossa hipótese é que tal mecanismo necessitaria da regulação neuro-humoral, uma vez que nos corações isolados, essa melhora da reserva diastólica no VD não foi observada.

Além disso, todos os resultados obtidos neste estudo no coração isolado demonstraram que não era de fato a nutrição prejudicada da preparação de tiras de VD, no trabalho de Fernandes (2006), a responsável pela disfunção ventricular direita no grupo IC. Os nossos resultados, portanto reafirmam os encontrados por aquele autor.

REFERÊNCIAS

Afzal N and Dhalla NS (1992). Differential changes in left and right ventricular SR calcium transport in congestive heart failure. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 262: H868-H874.

Afzal N and Dhalla NS. (1996) Sarcoplasmic reticular Ca²⁺ pump ATPase activity in congestive heart failure due to myocardial infarction. *Canadian Journal of Cardiology* 12: 1065–1073.

Allen DG and Kurihara S (1982) The effects of muscle length on intracellular calcium transients in mammalian cardiac muscle *Journal of Physiology* 327: 79-94.

Allen DG and Kentish JC (1988). Calcium concentration in the myoplasm of skinned ferret ventricular muscle following changes in muscle length *Journal of Physiology* 407: 489-503

Anrep G. (1912). On the part played by suprarenals in the normal vascular reactions on the body. *Journal of Physiology* 45: 307-317

Anversa P, Begui C, MacDonald SL, Levicky V, Kikkawa Y and Olivetti G. (1984). Morfometric of right ventricular hypertrophy induced by myocardial infarction in rats. *American Journal Pathology* 116: 505-513

Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G (1985). Left ventricular failure induced by myocardial infarction. I. Myocyte hypertrophy. *American Journal of Physiology and Heart Circulatory Physiology* 248: H876-H882.

Arai M, Alpert NR, MacLennan DH, Barton P, and Periasamy M. (1993) Alterations in sarcoplasmic reticulum gene expression in human heart failure. A possible mechanism for alterations in systolic and diastolic properties of the failing myocardium. *Circulation Research* 72: 463–469.

Araújo DV, Tavares LR, Veríssimo R, Ferraz MB, Mesquita ET (2005) Custo da Insuficiência Cardíaca no Sistema Único de Saúde *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 84:422-427.

Babu A and Gulati J (1998). Critical role of cardiac troponin-C in length-dependence of in skinned ventricular trabeculae from hamster heart. *Journal of Physiology* 403: 89P

Bendall JK, Damy T, Ratajczak P, Loyer X, Monceau V, Marty I, Milliez P, Robidel E, Marotte F, Samuel JL, Heymes C. (2004) Role of myocardial neuronal nitric oxide synthase-derived nitric oxide in beta-adrenergic hyporesponsiveness after myocardial infarction-induced heart failure in rat. *Circulation* 110:2368-75.

Bers DM (2000). Calcium fluxes involved in control of cardiac myocyte contraction. *Circulation Research* 87:257-281.

Bers DM, Eisner DA, Valdivia HH (2003). Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} and heart failure; roles of diastolic leak and Ca^{2+} transport. *Circulation Research* 93: 487-490.

Bocchi EA, Vilas-Boas F, Perrone S, Caamano AG, Clausell N, Moreira MCV, et al. (2005). I Diretriz Latino Americana para Avaliação e Conduta na Insuficiência Cardíaca Descompensada. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 85: Suplemento III

Bohm M, Reiger B, Schwinger RH, Erdmann E. (1994). cAMP concentrations, cAMP dependent protein kinase activity, and phospholamban in non-failing and failing myocardium. *Cardiovasc Research* 28: 1713–1719.

Braunwald E (1991). The pathogenesis of the heart failure: then and now. *Medicine* 70: 68

Bristow MR, Ginsburg R, Minobe W, Cubicciotti RS, Sageman WS, Lurie K, Billingham ME, Harrison DC, Stinson EB. (1982) Decreased catecholamine sensitivity and beta-adrenergic-receptor density in failing human hearts. *New England Journal of Medicine* 307: 205–211.

Bristow MR. (1984). The adrenergic nervous system in heart failure. *New England Journal of Medicine* 311: 850-851.

Brodde OE and Michel MC (1999). Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharmacological Reviews* 51:651–690.

Brodde OE, Bruck H, and Leineweber K (2006). Cardiac Adrenoceptors: Physiological and Pathophysiological Relevance. *Journal of Pharmacological Sciences* 100: 323-337

Brower GL, Janicki JS.(2001) Contribution of ventricular remodeling to pathogenesis of heart failure in rats. *American Journal of Physiology and Heart Circulatory Physiology*. 280:H674-83.

Brown L. and Company (1994) The Criteria Committee for the New York Heart Association. Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels 9th Edition: 253-255.

Brum PC, Rolim NPL, Bacurau AVN, Medeiros A. (2006) Neurohumoral activation in heart failure: the role of adrenergic receptors *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 78(3): 485-503.

Bussani R, Abbate A, Biondi-Zoccai GG, Dobrina A, Leone AM, Camilot D, Di Marino MP, Baldi F, Silvestri F, Biasucci LM, Baldi A. (2003) Right ventricular dilatation after left ventricular acute myocardial infarction is predictive of extremely high peri-infarct apoptosis at postmortem examination in humans. *Journal of Clinical Pathology*. 56(9):672-6

Butler J, Chomsky DB, Wilson JR (1999). Pulmonary hypertension and exercise intolerance in patients with heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* 34:1802– 1806.

Calaghan S and White E (2004). Activation of Na⁺-H⁺ exchange and stretch-activated channels underlies the slow inotropic response to stretch in myocytes and muscle from the rat heart. *Journal of Physiology* 559: 205-214.

Capasso JM, Li P, Zhang X Anversa P (1992) Heterogeneity of ventricular remodeling after acute myocardial infarction heart failure. *American Journal Physiology* 265: H486-495

Capatto PP, Vargas FM, Faria, TO, Targueta GP, Lizardo JHF, Davel APC, Rossoni LV , Vassallo DV, Stefanon I. (2007). Avaliação da atividade funcional da NA+K+ATPase em anéis de aorta de ratas com e sem sinais de insuficiência cardíaca 7 dias após infarto do miocárdio *XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE* 22: 61

Carvalho JAM. e Garcia RA (2003) O envelhecimento da população brasileira: Um enfoque demográfico. *Caderno de Saúde Pública* 19:725-733

Charnet P, Lory P, Bourinet E, Collin T, Nargeot J (1995). cAMP-dependent phosphorylation of the cardiac L-type Ca channel: amissing link? *Biochimie* 77: 957-962.

Cohn JN. (1995) Structural basis for heart failure ventricular remodeling and its pharmacological inhibition. *Circulation* 91: 2504-2507.

Colucci WS and Braunwald E. Pathophysiology of heart failure. In: Braunwald E, ed. Philadelphia W.B. Saunders: Textbook of Cardiovascular Medicine 1997. p. 394-420.

Commission on Population and Development-ONU (2007). Commission on population and development to focus on opportunities offered by world demographic shift, during 9-13 april meeting at headquarters. *Economic and social council department of public information: pop/953*

Consenso Brasileiro para o tratamento da insuficiência cardíaca. (1992) *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 59: suplemento I

Daniels MC, Naya T, Rundell, VLM and de Tombe PP (2007) Development of contractile dysfunction in rat heart failure: hierarchy of cellular events *American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 293: R284–R292.

Daniels, MC, Rebeca SK, de Tombe P (2001) Losartam prevents contractile dysfunction in rat myocardium after ventricular myocardial infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 281: H2150-H2158.

DATASUS-TABNET - Morbidade Hospitalar do SUS. Ministério da Saúde. <http://www.datasus.gov.br>

Davidoff AW, Boyden PA, Schwartz K, Michel JB, Zhang YM, Obayashi M, Crabbe D, Ter Keus HEDJ (2004). Congestive heart failure after myocardial infarction in the rat: cardiac force and spontaneous sarcomere activity. *New York Academy of Sciences* 1015: 84-95.

de Tombe PP, Wannenburg T, Fan D, Little WC (1996). Right ventricular contractile protein function in rats with left ventricular myocardial infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 271: H73-H79.

Devic E, Xiang Y, Gould D, Kobilka B. (2001). Beta-adrenergic receptor subtype-specific signaling in cardiac myocytes from beta(1) and beta(2) adrenoceptor knockout mice. *Molecular Pharmacology* 60: 577–583.

Dhalla NS, Das PK, and Sharma GP. (1978) Subcellular basis of cardiac contractile failure. *Journal of Molecular Cellular Cardiology* 10: 363–385

Dhalla NS, Shao Q, and Panagia V. (1998) Remodeling of cardiac membranes during the development of congestive heart failure. *Heart Failure Review* 2: 261–272.

Dias FMV. (2007). Atividade funcional da Na⁺K⁺-ATPase sensível à ouabaína em aorta de ratas com e sem sinais de insuficiência cardíaca após infarto do miocárdio. Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006

Douglas PS, Morrow R, Ioli A, Reicheck N, (1989) Left ventricular shape, afterload, and survival in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Journal American College of Cardiology* 13: 311-315.

Endoh M (2006). Signal Transduction and Ca⁺² signaling in intact myocardium *Journal of Pharmacological Sciences* 100: 525-537.

Fabiato A (1985) Simulated calcium current can both cause calcium loading in and trigger calcium release from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine Cardiac Purkinje cell. *The Journal of General Physiology* 85: 291-320.

Faria, TO, Capatto PP, Targueta GP, Vargas FM, Lizardo JHF, Pereira, RB, Vassallo DV, Stefanon I. (2007) Vascular reactivity of tail early after myocardial infarction in rats with and without heart failure. *XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE* 22: 51

Feldman AM, Cates AE, Veazey WB, Hershberger RE, Bristow MR, Baughman KL, Baumgartner WA, Vandop C. (1988). Increase of the 40,000-mol wt pertussis toxin substrate (G protein) in the failing human heart. *Journal Clinical Investigation* 82: 189–197.

Fernandes A. A. (2006) Diferença na contratilidade de ventrículos direito e esquerdo de ratos com e sem insuficiência cardíaca após infarto do miocárdio. Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006

Ferrara R, Mastrorillo F, Pasanisi G, Censi S, D'Aiello N, Fucilli A, Valgimigli M, Ferrari R (2002) Neurohormonal modulation in chronic heart failure. *European Heart Journal Supplements* 4 (supplement D): D2-D11

Ferrier RG and Howlett SE (2001). Cardiac excitation contraction coupling: role of membrane potential in regulation of contraction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 280: H1928–H1944.

Figueiredo, J; Portella, P; Portella, E; Fernandes, EG. Lei nº 6.638 (1979), estabelece normas para a prática didático-científica da vivissecção de animais e determina outras providências. Publicada no Diário Oficial da União 10.05.1979, Brasília.

Francis GS (2000). Heart Failure. *Journal American of College Cardiology* 35: 6-9

Francis J, Weiss RM, Wei SG, Johnson AK, Felder RB (2001). Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. *American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 281: R1734-R1745.

Frank K F, Bolck B, Erdmann E, Schwinger RHG (2003) Sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase modulates cardiac contraction and relaxation *Cardiovascular Research*; 57:20–27

Fuchs F and Smith SH (2001). Calcium, Cross-Bridges, and the Frank-Starling Relationship *News in Physiological Sciences* 16: 5-10

Fukuda N and Granzier H (2005) Titin/connectin-based modulation of the Frank-Starling mechanism of the heart *Journal of Muscle Research and Cellular Motility* 26:319–323

Gauthier C, Leblais V, Kobzik L, Trochu J, Khandoudi N, Bril A, Balligand J, Marec HL (1998) The Negative Inotropic Effect of β_3 -Adrenoceptor Stimulation Is Mediated by Activation of a Nitric Oxide Synthase Pathway in Human Ventricle *Journal Clinical. Investigation* 102:1377–1384.

Gauthier, C., G. Tavernier, F. Charpentier, D. Langin, and H. Le Marec. (1996). Functional β_3 -adrenoceptor in the human heart. *Journal Clinical. Investigation* 98:556–562.

Ghio S, Gavazzi A, Campana C et al. (2001) Independent and additive prognostic value of right ventricular systolic function and pulmonary artery pressure in patients with chronic heart failure. *Journal American College Cardiology* 37:183–188.

Giubert K. Avaliação da contratilidade isométrica do ventrículo direito após infarto agudo do miocárdio em ratas ovariectomizadas. Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006

Gomez AM, Guatimosim S, Dilly KW, Vassort G, Lederer WJ (2001). Heart failure after myocardial infarction: altered excitation-contraction coupling. *Circulation* 104 (6): 688-93.

Graham TP., Covell JW, Sonnenblick EH., Ross J, and Braunwald E (1968). Control of Myocardial Oxygen Consumption: Relative Influence of Contractile State and Tension Development *The Journal of Clinical Investigation* 47: 375-385.

Gulati J, Babu A and Su H (1992). Molecular physiology of the length-dependence of the Ca^{++} -sensitivity of skinned fibers with a high affinity Tn-C-mutant: implications for Starling's Law. *Supplement to Circulation* 86: 327

Gupta RC, Mishra S, Mishima T, Goldstein S, Sabbah HN. (1999) Reduced sarcoplasmic reticulum $Ca(2+)$ -uptake and expression of phospholamban in left ventricular myocardium of dogs with heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 31:1381-9.

Gupta RC, Shimoyama H, Tanimura M, Nair R, Lesch M, Sabbah HN.(1997) SR $Ca(2+)$ -ATPase activity and expression in ventricular myocardium of dogs with heart failure. *American Journal Physiology* 1997 273:H12-18.

Haase H (2006) Ahnak, a new player in β -adrenergic regulation of the cardiac L-type Ca^{2+} channel *Cardiovascular Research*: 1-7.

Haase H, Podzuweit T, Lutshn G, Hohaus A, Kostka S, Lindschau C (1999) Signaling from β -adrenoceptor to L-type calcium channel: identification of a novel protein kinase A target possessing similarities to AHNAK. *FASEB* 13: 2161-2172.

Hasenfuss G (1998) Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy *Cardiovascular Research* 39: 60-76.

Hattori Y, Akimoto K, Nishikimi T, Matsuoka H, Kasai K (2006). Activation of AMP-Activated Protein Kinase Enhances Angiotensin II-Induced Proliferation in Cardiac Fibroblasts *Hypertension* 47:265-270.

Hill MF, Singal PK. (1997) Right and Left Myocardial Antioxidant Responses During Heart Failure Subsequent to Myocardial Infarction *Circulation* 96:2414-2420

Hirose K, Shu NH, Reed JE, Rumberger JA. (1993) Right ventricular dilatation and remodeling the first year after an initial transmural wall left ventricular myocardial infarction. *American Journal Cardiology*. 72:1126-30.

Holubarsch C, Ruf T, Goldstein DJ., Ashton, RC.; Nickl W; Pieske B; Pioch K; Ludemann J; Wiesner S; Hasenfuss G; Posival H; Just H; Burkhoff D (1996) Existence of the Frank-Starling Mechanism in the Failing Human Heart Investigations on the Organ, Tissue, and Sarcomere Levels. *Circulation* 94:683-689.

Hope JA (1832) Treatise on the diseases of the heart and great vessel. London, Williams-Kidd

Houser SR, Piacentino V, Weisser J (2000). Abnormalities of calcium cycling in the hypertrophied and failing heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 32: 1595-1607.

Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, et al. (2005) ACC/AHA 2005 guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure). *Journal American College Cardiology* 46:1116–43.

Huxley AF and Hanson J (1954). Changes in cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature* 173: 973-976

I Diretriz Latino-Americana para Avaliação e Conduta na Insuficiência Cardíaca Descompensada (2005) *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 85: Suplemento III

Ishikawa Y, Sorota S, Kiuchi K, Shannon RP, Komamura K, Katsushika S, Vatner DE, Vatner SF, Homcy CJ. (1994). Downregulation of adenylylcyclase types V and VI mRNA levels in pacing induced heart failure in dogs. *Journal Clinical Investigation* 93: 2224–2229.

Jasmin JF, Calderone A, Leung TK, Villeneuve L, Dupuis J (2004). Lung structural remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: complete reserval by irbesartan. *Cardiovascular Research* 58: 621-631

Jasmin JF, Mercier I, Hnasko R, Cheung MW, Tanowitz HB, Dupuis J, Lisanti MP. (2004) Lung remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: pathogenic role of reduced caveolin expression. *Cardiovasc Research* 63:747-755.

Jewell BR (1977). A reexamination of the influence of muscle length on myocardial performance *Circular Research* 40: 221-230.

Jones JV, Serafi AS, James MA (2000) Wall stress and heart *Journal of Cardiovascular Risk* 7:159-161

Kang M, Chung KY and Walker JW. (2007). G-Protein Coupled Receptor Signaling in Myocardium: Not for the Faint of Heart. *Physiology* 22:174-184.

Kilsztajn S, Rossbach AC, Câmara MB, Carmo MSN, (2003). Serviços de saúde, gastos e envelhecimento da população brasileira *Revista Brasileira de Estudos de População* 20: 93-108.

Kirchhefer U, Schmitz W, Scholz H, Neumann J. (1999) Activity of cAMP-dependent protein kinase and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase in failing and nonfailing human hearts. *Cardiovascular Research* 42: 254–261

Kögler H, Schott P, Toischer K, Milting H, Van PN, Kohlhaas M, Grebe C, Kassner A, Domeier E, Teucher N, Seidler T, Knöll R, Maier LS, El-Banayosy A,

Körfer R, Hasenfuss G. (2006) Relevance of brain natriuretic peptide in preload-dependent regulation of cardiac sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase expression. *Circulation*. 113:2724-2732.

Koss KL, Kranias EG. (1996) Phospholamban: a prominent regulator of myocardial contractility. *Circulation Research*; 79:1059–1063

Langer GA (1992) Calcium and heart: exchange at tissue, cell, end organelle levels. *FASEB Journal* 6: 893-902

Le Peuch CJ, Le Peuch DA, Demaille JG. (1980) Phospholamban, activator the cardiac sarcoplasmic reticulum calcium pump. Physicochemical properties and diagonal purification. *Biochemistry*; 19:3368–3373.

Lefebvre F, Prefontaine A, Calderone A, Caron A, Jasmin JF, Villeneuve L, Dupuis J. (2006) Modification of the pulmonary renin-angiotensin system and lung structural remodelling in congestive heart failure. *Clinical Science(Lond)*. 111:217-224.

Linzbach AJ, (1960) Heart failure from the point of view of quantitative anatomy. *American Journal Cardiology*: 370-382

Mackenzie J (1913). Disease of the heart 3rd ed. London, Oxford Univerty Press

Maia FM, Duarte YO, Lebrão ML (2005) Extraído da dissertação "Fatores de risco para óbito em idosos", Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo (EEUSP). Análise dos óbitos em idosos no Estudo SABE

Mann DL (1999) Mechanisms and models in heart failure: A combinatorial approach. *Circulation* 100: 999-1008

Mann DL and Bristow MR (2005) Mechanism and models in heart failure The biomechanical model and beyond. *Circulation* 111: 2873-2849.

MANO, Reinaldo. Insuficiência Cardíaca. Manuais de Cardiologia. MS, nov. 2006. Disponível em: <<http://www.manuaisdecardiologia.med.br/ICC/icc.htm>>. Acesso em: (05/07/2007)

Mark AI (1995) Sympathetic dysregulation in heart failure: mechanisms and therapy. *Clinical Cardiology* 18 (3 suppl. I): 13-18

Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y, Jayaraman T, Burkhoff D, Rosembit N, Marks AR (2000). PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell* 101 (4): 365-76.

Massie BM (1998) 15 years of heart-failure trials: what have we learned? *Lancet* 352: 29-33

Mesquita ET, Sócrates J, Rassi S, Villacorta H, Mady C (2004). Insuficiência Cardíaca com Função Sistólica Preservada. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 82 (5): 494-500

Mill JG, Pimentel EB, Lemos DM, Leite CM (2004). Hipertrofia Cardíaca: Mecanismos Bioquímicos. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul* 23: 1-4

Mill JG, Stefanon I, Leite CM, Vassallo DV (1990). Changes in performance surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovascular Research* 24: 748-453.

Moniotte, S., Kobzik, L., Feron, O., Trochu, J.N., Gauthier, C., et al., (2001). Upregulation of beta(3)-adrenoceptors and altered contractile response to inotropic amines in human failing myocardium. *Circulation* 103:1649– 1655.

Morris CE (1990). Mechanosensitive ion channels *The Journal of Membrane Biology* 113:93-107.

Moss RL, Razumova M, Fitzsimons DP (2004). Myosin crossbridge activation of cardiac thin filaments: implications for myocardial function in health and disease. *Circulation Research* 94: 1290-1300.

Most P, Remppis A, Pleger ST, Katus HA, Koch WJ (2007). S100A1: a novel inotropic regulator of cardiac performance. Transition from molecular physiology to pathophysiological relevance. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 293: R568 - R577

Muller XM, Tevæearai H, Bone Y, Augstburger M, Segesser LK (2002) An alternative to left ventricular volume reduction *Journal Heart Lung Transplant* 21: 791-796.

Nahrendorf M, Hu K, Fraccarollo D, Hilldr KH, Haase A, Bauer WR, Ertl G (2003). Time course of right ventricular remodeling in rats with experimental myocardial infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 284:H241-H248.

Nahrendorf M, Wiesmann F, Hiller KH, Han H, Hu, K, Waller C, Ruff J, Haase A, Ertl G, and Bauer WE. (2001). Serial cine-magnetic resonance imaging of left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Journal Magnetism Ressonancy Imaging* 14: 547-555.

National Heart, Lung and Blood Institute, 2003. What is heart failure?

Norton JM. (2001). Toward consistent definitions for preload and afterload *Advances Physiology Education* 25: 53-61

Novaes MA, Stefanon I, Mill JG, Vassallo DV.(1996) Contractility changes of the right and ventricular muscle after chronic myocardial infarction. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 29:1683-1690.

Obayashi M, Xiao B, Stuyvers BD, Davidoff AW, Mei J, Chen SR, ter Keurs HE (2006). Spontaneous diastolic contractions and phosphorylation of the cardiac ryanodine receptor at serine-2808 in congestive heart failure in rat. *Cardiovascular Research* 69 (1): 140-51.

Okoshi, K. Fioretto JR, Bonatto RC, Tornero MTT, Tucci PJF (1999). Influência da Elevação da Pressão Diastólica do Ventrículo Esquerdo sobre os Valores da Primeira Derivada Temporal da Pressão Ventricular (dP/dt). *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 73: 37-41.

Olivetti G, Capasso JM, Meegs LG, Sonnenblick EH, Anversa P (1991). Cellular basis of chronic ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Circulation Research* 68: 856-869.

Opie LH (2002) The neuroendocrinology of congestive heart failure. *Cardiovascular Journal of South Africa* 13: 171-178

Paker M, (1992) The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanisms of disease progression in heart failure. *Journal American College Cardiology* 20: 248-254.

Patten RD, Aronovitz MJ, Deras-Mejia L, Pandian NG, Hanak GG, Smith JJ, Mendelsohn ME, Konstam MA. (1998) Ventricular remodeling in a mouse model of myocardial infarction. *American Journal Physiology* 274: H1812-20.

Pereira RB, Sartório CL, Vassallo DV, Stefanon I (2005). Differences in tail vascular bed reactivity in rats with and without heart failure following myocardial infarction. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 312:1321-1325

Patterson SW, Starling EH (1914). On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *J Physiol.* 48(5):357-79

Patterson SW, Piper H., and Starling EH.(1914) The regulation of the heart beat *Americam Journal Physiology* 48(6): 465–513.;

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Flercher PJ, Braunwald E (1991). Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 260: H1406-H1414.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E (1979). Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circulation Research* 44: 503-512.

Ping P, and Hammond HK. (1994). Diverse G protein and beta-adrenergic receptor mRNA expression in normal and failing porcine hearts. *Americam Journal Physiology* 267: H2079–2085

Porth MC (2002) Pathophysiology concepts of altered health states 6rd ed. Lippincott Williams & Wilkins.

Post SR, Hammond HK Insel PA. (1999). Beta-adrenergic receptors and receptor signaling in heart failure. *Annual Review Pharmacology and Toxicology* 39: 343–360.

Reiken S, Gaburjakova M, Guatimosim S, Gomez AM, D' Armiento J, Burkhoff D, Wang J, Vassort G, Lederer WJ, Marks AR (2003). Protein kinase A phosphorylation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) in normal and failing hearts. *The Journal of Biological Chemistry* 278: 444-453.

Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Cardíaca (2002) *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 79: suplemento IV

Ritter O, Hack S, Schuh K et al. (2002) Calcineurin in human heart hypertrophy *Circulation* 105: 2265-2269

Sachs F (1988). Mechanical transduction in biological systems *Critical reviews in biomedical engineering* 16: 141-169.

Saito T, Hu F, Tayara L et al. (2002) Inhibition of NOS II prevents cardiac dysfunction in myocardial infarction and congestive heart failure. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 283:H339–H345.

Santi CM, Connor JA, Hernandez-cruz A. (1995) A significant fraction of transients in intact guinea-pig ventricular myocytes is mediated by Na^+ - Ca^{+2} exchange. *Cellular Signaling* 7: 803-320

Saraiva RM, Chedid NGB, H Quintero CC, G Díaz LE, Masuda MO (2003). Impaired beta-adrenergic response and decreased L-type calcium current of hypertrophied left ventricular myocytes in postinfarction heart failure. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 36: 635-648.

Sarnoff SJ e Mitchell JH (1962) The control of the function of the heart. *Handbook of Physiology Cir*, 15: 489-501

Sarnoff SJ, Mitchell JH, Gilmore JP, Remensnyder JP (1960). Homeometric autoregulation in the heart. *Circulation Research* 8: 1077-1226.

Sathish V, Xu A, Karmazyn M, Sims SM, Narayanan N. (2006) Mechanistic basis of differences in Ca²⁺-handling properties of sarcoplasmic reticulum in right and left ventricles of normal rat myocardium. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. 291:H88-96.

Schultz Jel J, Glascock BJ, Witt SA, Nieman ML, Nattamai KJ, Liu LH, Lorenz JN, Shull GE, Kimball TR, Periasamy M. (2004) Accelerated onset of heart failure in mice during pressure overload with chronically decreased SERCA2 calcium pump activity. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 286:H1146-53.

Schwinger RH, Munch G, Bolck B, Karczewski P, Krause EG, Erdmann E. (1999). Reduced Ca(2+)-sensitivity of SERCA 2a in failing human myocardium due to reduced serin-16 phospholamban phosphorylation. *J Mol Cell Cardiol* 31: 479–491.

Selye H, Bajusz E, Grasso S, Mendell P (1960). Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology* 11: 398-407.

Sethi R , Dhalla KS, Beamish RE, Dhalla NS (1997) Differential changes in left and right ventricular adenylyl cyclase activities in congestive heart failure
Americam Journal Physiology 41: H884-H893

Sethi R , Saini HK, Wang X, Eliban V Babick A, Dhalla NS (2006) Differential changes in b-adrenoceptor signal transduction in left and right ventricles of infarcts rats *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*. 84: 747-754

Sethi R, Eliban V ,Chapman D ,Dixon IM ,Dhalla NS (1998) Differential alteration in left and right ventricular G-proteins in congestive heart failure due to myocardial infarction *Journal Molecular Cellular of Cardiology*. 30: 2153-63

Shamsham F and Mitchell J (2000). Essentials of the diagnosis of heart failure. *American Family Physician* 61 (5): 1319-28.

Shao Q, Ren B, Saini HK, Netticadan T, Takeda N, Dhalla NS. (2005) Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ transport and gene expression in congestive heart failure are modified by imidapril treatment. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 288: H1674-H1682

Shimoyama M, Hayashi D, Takimoto E et al . (1999). Calcineurin plays a critical role in pressure-overload cardiac hypertrophy. *Circulation* 100:2449-2454

Sjaastad I, Wasserstrom A, Sejersted OM (2003). Heart failure - a challenge to our current concepts of excitation-contraction coupling. *Journal of Physiology* 546: 33-47.

Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szelağ A, Schulz R. (2007). Isolated heart perfusion according to Langendorff—Still viable in the new millennium *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 55:113–126

Solaro RJ, Rarick HM (1998). Troponin and Tropomyosin: Proteins That Switch on and Tune in the Activity of cardiac myofilaments. *Circulation Research*; 83: 471-480.

Stange M, Xu L, Balshaw D, Yamaguchi N, Meissner G (2003). Characterization of recombinant skeletal muscle (Ser-2843) and cardiac muscle (Ser-2809) ryanodine receptor phosphorylation mutants. *The Journal of Biological Chemistry* 278 (51): 51693-702.

Stefanon I, Vassallo DV, Mill JG. (1990). Left ventricular length dependent activation in the isovolumetric rat heart. *Cardiovascular Research* 24(3):254-256

Stefanon I, Martins MA, Vassallo DV, Mill JG.(1994) Analysis of right and left ventricular performance of the rat heart with chronic myocardial infarction. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 27: 2667-2679

Tan LB, Jalil JE, Pick R, Janiseki JS, Weber KT. (1991). Cardiac myocyte necrosis induced by angiotensin II *Circulation Research* 69: 1185-1195.

Tavi P, Han C, Weeckstrom M (1998) Mechanisms of stretch-induced changes in [Ca] in rat atrial myocytes: Role of increased troponin C affinity and stretch-activated ion channels *Circulation Research* 83: 1165-1177.

Thompson WP, White PD. (1936). The commonest cause of hypertrophy of the right ventricle: left ventricular strain and failure. *American Heart Journal* 12:641.

Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ, Evans JC, Levy D. (1997) Left ventricular dilatation and the risk of congestive heart failure in people without myocardial infarction *New England Journal Medical* 336: 1350-1355.

Vassallo DV, Lima EQ, Campagnaro P, Stefanon I, Leite CM, Mill JG (1994). Effects of isoproterenol on the mechanical activity of isolated papillary muscles and perfused rat hearts in various calcium concentrations. *Pharmacology Research* 29 (3): 251-60.

Wallukat G, Podlowski S, Nissen E, Morwinski R, Csonka C, Tosaki A Blasig IE. (2003). Functional and structural characterization of anti-beta1-adrenoceptor autoantibodies of spontaneously hypertensive rats. *Molecular Cellular Biochemistry* 251: 67–75.

Wallukat G. 2002. The beta-adrenergic receptors. *Herz* 27: 683–690.

Weber KT, Janicki JS, Shroff SG (1986). Measurement of ventricular function in the experimental laboratory. In: The heart and cardiovascular system. Ed Fozzard et al. Raven Press, NY cap. 42:856-885.

Wehrens XH, Lehnart SE, Marks AR. (2005). Intracellular calcium release and cardiac disease. *Annual Review Physiology* 67: 69–98

Wier WG, Beukelmann DJ. (1989) Sodium-calcium exchange heart: current-voltage relation and intracellular concentration *Molecular and Cellular Biochemistry* 89: 97-102

Wier WG, Ter Keur HE, Marban E, Gao WD, Balke CW. (1997) Ca²⁺ sparks and waves intact ventricular muscle resolved by confocal imaging. *Circulation Research* 81: 462-469.

Xiao B, Jiang MT, Zhao M, Yang D, Sutherland C, Lai FA, Walsh MP, Wartier DC, Cheng H, Chen SR (2005) Characterization of a novel PKA phosphorylation site, serine-2030, reveals no PKA hyperphosphorylation of the cardiac ryanodine receptor in canine heart failure. *Circulation Research* 96: 847-55.

Xiao RP, Cheng H, Zhou Y, Kuschel M, Lakatta EG (1999). Recent Advances in Cardiac β -Adrenergic Signal Transduction *Circulation Research*. 85:1092-1100.

Xu L and Meissner G (2004). Mechanism of Calmodulin Inhibition of Cardiac Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺ Release Channel (Ryanodine Receptor) *Biophysical Journal* 86: 797–804.

Yang D, Song L, Zhu W, Chakir K, Wang W, Wu C, Wang Y, Xiao R, Chen SR, Cheng H(2003). Calmodulin Regulation of Excitation-Contraction Coupling in Cardiac Myocytes *Circulation Research* 92:659-667.

Yano M, Ikeda Y, Matsuzaki M (2005). Altered intracellular Ca²⁺ handling in heart failure. *The Journal of Clinical Investigation* 115: 556-564.

Zarain-Herzberg A, Afzal N, Elimban V, and Dhalla NS. (1996) Decreased expression of cardiac sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-pump ATPase in congestive heart failure due to myocardial infarction. *Molecular and Cellular Biochemistry* 163/164: 285–290

Zhang T, Miyamoto S and Brown JH (2004). Cardiomyocyte Calcium and Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II: Friends or Foes? *Recent Progress in Hormone Research* 59:141-168.