

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO  
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS

**DESEMPENHO CONTRÁTIL DO VENTRÍCULO DIREITO  
7 DIAS APÓS INFARTO EM RATOS COM E SEM SINAIS  
DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA**

ALUNO: Guilherme Peixoto Tinoco Arêas  
ORIENTADOR (A): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivanita Stefanon

Vitória  
2009

**Guilherme Peixoto Tinoco Arêas**

**DESEMPENHO CONTRÁTIL DO VENTRÍCULO DIREITO  
7 DIAS APÓS INFARTO EM RATOS COM E SEM SINAIS  
DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós – Graduação em Ciências Fisiológicas da UFES como Requisito Parcial para a Obtenção de Grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

ORIENTADORA: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ivanita Stefanon

Vitória  
2009

DESEMPENHO CONTRÁTIL DO VENTRÍCULO DIREITO  
7 DIAS APÓS INFARTO EM RATOS COM E SEM SINAIS  
DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Guilherme Peixoto Tinoco Arêas

Dissertação de Mestrado defendido e aprovado no dia 26 de agosto de 2009  
pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

---

Dr<sup>a</sup>. Ivanita Stefanon – Orientadora, UFES

---

Dr. Dalton Valentin Vassallo - UFES

---

Dr<sup>a</sup>. Leila Massaroni - UFES

---

Dr<sup>a</sup>. Alessandra Padilha – UFES

---

Coordenador do PPGCF: Dr. Luiz Carlos Schenberg

Programa de Pós – Graduação em Ciências Fisiológicas

Universidade Federal do Espírito Santo – UFES.

Vitória, 26 de Agosto de 2009.

ב"ה

Feliz o homem que acha sabedoria,  
e o homem que adquire conhecimento;  
Porque melhor é o lucro que ele  
dá do que a prata, e melhor a sua renda  
do que o ouro mais fino. (Provérbios 3: 12-13)

Este trabalho é dedicado a minha mãe,  
a minha esposa e a todos os meus  
amigos e irmãos que se  
alegram com a minha alegria.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao Eterno por me conceder tudo o ensinamento e a oportunidade de obter o conhecimento a qual tenho;

Aos irmãos da Congregação Netivyah por estarem sempre me ajudando em oração e me dando um carinho familiar a qual é tão difícil nesses dias atuais.

A minha avó materna (Licinha) por ter estado ao meu lado em quase toda a conclusão da pós-graduação e que muito me incentivou ao estudo;

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivanita Stefanon por ter me dado a oportunidade de fazer o mestrado e de me aceitar como seu aluno, pela dedicação e paciência com a minha pouca experiência no campo da pesquisa e de ter me ajudado muito ao termino deste trabalho;

Ao Prof Dr. Dalton Valetim Vassallo, uma pessoa impar na forma de pesquisar, de ensinar e dar opiniões a qual serão usadas para sempre em minha vida, muito obrigado por ser o “Chefe”;

A Larissa por toda paciência e toda a dedicação na realização dos experimentos no Langendorff, sem ela não conseguiria realizar nada desse trabalho, além da amizade que fiz com ela durante as horas de trabalho;

Ao Frank, que além de ter sido um excelente professor, um amigo que me ajudou muito na minha formação como fisioterapeuta e pesquisador, um exemplo a ser seguido pela dedicação a tudo que realiza e que me apresentou o laboratório a qual hoje faço parte.

A Aurélia por ter disponibilizado o tempo de realizar os infartos nos ratos que foram utilizados nesse trabalho;

A todos os amigos do LEMC: Antídio, Thaís, Kelly, Karina, Priscila, Alessandra, Núbia, Miriam, Lorena, Liliana, o Nelson, o Rogério, Fabina, Eduardo e Edna;

Aos amigos do programa de pós-graduação: Marcelo, Enildo, Amilcar, Eduardo, Pablo e Rúbia.

Aos professores da pós-graduação, que me souberam passar quase que perfeitamente os seus conhecimentos e que me auxiliou em muito a realização desse estudo, tanto na forma de pensá-lo como na forma de escrevê-lo;

A CAPES (Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior) pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURA, SÍMBOLO E UNIDADES	09
RESUMO	11
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO	14
1.2 - EPIDEMIOLOGIA	14
1.3 - FISIOPATOLOGIAS DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA	15
1.4 - O SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA NA INSUFICIÊNCIA	21
1.5 - INFARTO DO MIOCÁRDIO COM E SEM INSUFICIÊNCIA COM A MESMA ÀREA DE INFARTO.	26
OBJETIVOS	28
MATERIAS E MÉTODOS	29
1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS	29
2. INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	29
2.1.1 AVALIAÇÃO DA ÁREA DE INFARTO	30
3. AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA	30
4. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO VENTRICULAR DIREITO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE LANGENDORFF	34
4.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL DO LANGENDORFF	35
4.1.1. AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HETEROMÉTRICA ATRAVÉS DO MECANISMO DE FRANK-STARLING	36
4.1.2. AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HOMEOMÉTRICA ATRAVÉS DA VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO EXTRACELULAR DE CALCIO	40
4.1.3. AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HOMEOMÉTRICA ATRAVÉS DE UMA DOSE <i>IN BOLUS</i> DE ISOPROTERENOL	40
4.1.4. AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HOMEOMÉTRICA: RESPOSTA A ANGIOTENSINA I E A ANGIOTENSINA II	40
5. AVALIAÇÃO DOS DADOS PONDERAIS	41
6. FÁRMACOS E REAGENTES	42
7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
RESULTADOS	44

1. AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA E PONDERAL	44
2. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO CONTRÁTIL ATRAVÉS DO LANGENDORFF	50
2.1 PRESSÕES SISTÓLICAS BASAL DO VENTRÍCULO DIREITO NA PREPARAÇÃO DE LANGENDORFF	50
2.2. INTERVENÇÃO HETEROMÉTRICA ATRAVÉS DA CURVA DE FRANK-STARLING	50
2.3. INTERVENÇÃO HOMEOMÉTRICA: RESPOSTA INOTRÓPIA AO CÁLCIO	52
2.4. INTERVENÇÃO HOMEOMÉTRICA ATRAVÉS DA DOSE <i>IN BOLUS</i> DE ISOPROTERENOL	55
2.5. INTERVENÇÃO HOMEOMÉTRICA: RESPOSTA INOTRÓPICA A ANGIOTENSINA I E II	58
DISCUSSÃO	60
CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS	70



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIMBOLOS E UNIDADES:

ANG I = Angiotensina I

ANG II = Angiotensina II

AI = Área de infarto

AT1, AT2 = Subtipos de receptores de Angiotensina

Bpm = Batimento por minuto

$\beta 1$ ,  $\beta 2$  = Subtipo de receptores adrenérgicos.

$Ca^{2+}$  = íon cálcio

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

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

dP/dt- VE = primeira derivada negativa de pressão do ventrículo esquerdo

dP/dt+ VE = primeira derivada positiva de pressão do ventrículo esquerdo

EPM = Erro padrão da média

FC = Frequência cardíaca

g = Gramas

IC = Insuficiência cardíaca

IAM = Infarto agudo do miocárdio

INF = Infarto

i.p = via intraperitoneal de administração de fármacos

M = Molar

mg = Miligrama

mM = Milimolar

mmHg = Milímetros de mercúrio

mmHg/s = Milímetros de mercúrio por segundo

n = números de animais

nM = Nanomolar

PAD = Pressão areterial diastólica

PAS = Pressão arterial sistólica

PC = Peso corporal

PDfVD = Pressão diastólica final do ventrículo direito

PSVD = Pressão sistólica do ventrículo direito

PDfVE = Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

PSVE = Pressão sistólica do ventrículo esquerdo

PVD = Peso do ventrículo direito

PVE = Peso do ventrículo esquerdo

PPC = Pressão de perfusão coronária

PP/PC = Razão do peso pulmão com o peso corporal

PVD/PP = Razão do peso do peso do ventrículo direito com o peso corporal

PVE/PP = Razão do peso do peso do ventrículo esquerdo com o peso corporal

RS = Retículo Sarcoplasmático

RyR<sub>2</sub> = Receptor de rianodina

SERCA = Canal de cálcio do reticulo sarcoplasmático dependente de ATP

NCX = Trocador sódio/ cálcio

s = Segundos

NKA = Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase

PKA = Proteína Quinase A

PKC = Proteína Quinase C

## RESUMO

Estudos realizados em nosso laboratório demonstraram que o desempenho cardíaco de ratos, com mesma área de cicatriz, aos 30 e 60 dias após infarto agudo do miocárdio (IAM), depende da presença ou não de sinais de insuficiência cardíaca (IC). Considerando esta dicotomia funcional identificada na fase crônica, o objetivo deste estudo foi avaliar a contratilidade do ventrículo direito (VD) em uma fase precoce (7 dias) após IAM *in vivo* e *in vitro*. Ratos Wistar (220 e 240 g) foram divididos em 3 grupos: controle (SHAM), infartado sem sinais de IC (INF) e infartado com sinais de IC (IC), este identificado pelo aumento da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDfVE), da razão entre os pesos do VD pelo peso corporal e também peso do pulmão pelo peso corporal. Ao final de 7 dias, os animais foram anestesiados e preparados para as medidas das pressões intraventriculares direita e esquerda. Em seguida, os corações foram isolados e nutridos com solução de Krebs a 33°C, pH 7,35 usando a técnica de Langendorff. A contratilidade do VD foi avaliada através da medida das pressões intraventriculares direita e de sua primeira derivada temporal (dP/dt), frente a: curva estiramento-tensão (0 até 30 mmHg), dose única de angiotensina I 20 nM (ANG I), angiotensina II 20 nM (ANG II), isoproterenol ( $10^{-5}$  nM) e concentração crescente de cálcio (0,62 a 3,5 mM). A análise hemodinâmica evidenciou aumento das pressões sistólica (PSVD) e diastólica final (PDfVD) do VD no grupo IC comparado aos grupos INF e SHAM. (PSVD; SHAM=29±2,2; INF=28±2,2; IC=40±2,3<sup>\*#</sup> mmHg ; PDfVD: SHAM=1,13±0,2; INF=1,33±0,3; IC=2,2±1,2<sup>\*#</sup>mmHg; dP/dt+ VD: SHAM=971±191; INF=1228 ± 239; IC=1915±210\* mmHg/s, \* P < 0,05 vs SHAM; # P < 0,05 vs INF). No ventrículo esquerdo (VE), a pressão sistólica (PSVE) foi menor nos grupos INF e IC comparadas com o grupo SHAM (SHAM=104±1,58; INF=92±1,17\*; IC=95±2,9\* mmHg, \* P < 0,05 vs SHAM) e a pressão diastólica final do VE foi maior somente no grupo IC (SHAM=3,35±0,9; INF=3,6±0,9; IC=18±1,5\* mmHg, \* P < 0,05 vs SHAM) dP/dt- VE (SHAM=5563±353 INF=4330±316\* mmHg/s, IC=4653 ± 224 \* P < 0,05 vs SHAM). Os grupos apresentaram a mesma área de cicatriz (INF= 31,6 ± 1,6 vs IC= 30,8 ± 0,8 %). No estudo do coração isolado, o grupo IC apresentou redução da contratilidade para todos os parâmetros analisados, com exceção

da melhora da capacidade de responder ao estiramento. Entretanto, ANG I e ANG II não promoveram nenhum efeito inotrópico nos grupos estudados. Podemos concluir que a função de bomba do VD, "in vivo", esta preservada no grupo INF e exacerbada no grupo IC. Por outro lado, a análise do VD, na preparação de coração isolado, confirmou a manutenção da contratilidade do grupo INF. No grupo IC as respostas inotrópicas ao  $Ca^{2+}$  e  $\beta$ -adrenérgica estavam prejudicadas sem modificação na resposta a ANG II. Estes resultados demonstram a precocidade da dicotomia funcional em ratos aos 7 dias após IAM com mesma área de cicatriz. Enquanto o desempenho do VD no grupo INF mantém-se preservado, no grupo IC, esta função está prejudica *in vitro*, porém exacerbada *in vivo*.

CORRIGIR APÓS A CORREÇÃO FINAL DO RESUMO.

## ABSTRACT

Previously results from our laboratory have demonstrated a different ventricular performance in rats with same scar size (SS) depending on the presence of signals of heart failure (HF) at 30 and 60 days after myocardial infarction (MI). The aim of this study was to analyze the right ventricle (RV) contractility in an early phase (7 days) after MI. Wistar male rats (220 e 240 g) were divided in: control (SHAM), infarct (INF) and infarct with signs of HF (HF). The hearts were isolated and perfused with Krebs solution, 33°C, pH 7.35 using Langendorff technique. The RV contractility was assayed by measuring RV and the first temporal derivative of pressure (dP/dt) during length-tension curves from 0 to 30 mmHg, a single dose of angiotensin I 20 nM (ANG I), angiotensin II 20 nM (ANG II), isoproterenol ( $10^{-5}$  nM) and during increment of  $Ca^{2+}$  concentration (0.62 to 3.5 mM). The RV systolic pressure (RVSP) and the RV end diastolic pressure (RVEDP), assessed *in vivo*, were higher in the HF group ( $30.8 \pm 0.8$  %), whereas in the INF group, with same SS ( $31.6 \pm 1.6$  %), it remained unaltered (RVSP: SHAM= $29 \pm 2.2$ ; INF= $28 \pm 2.2$ ; HF= $40 \pm 2.3^{*#}$  mmHg; PDfVD: SHAM= $1.13 \pm 0.2$ ; INF= $1.33 \pm 0.3$ ; HF= $2.2 \pm 1.2^{*#}$  mmHg; dP/dt+ RV: SHAM= $971 \pm 191$ ; IC= $1915 \pm 210^{*}$  mmHg/s, \* $p < 0.05$ ). The “in vivo” left ventricle pressures were different among groups (LVSP: SHAM= $104 \pm 1.58$ ; INF= $92 \pm 1.17^{*}$ ; HF= $95 \pm 2.9^{*}$  mmHg; LVEDP: SHAM= $3.35 \pm 0.9$ ; INF= $3.6 \pm 0.9$ ; HF= $18 \pm 1.5^{*}$  mmHg, \*  $P < 0.05$ ). In the Langendorff perfused hearts, the RV isovolumic systolic pressure (RVISP), +dP/dt and -dP/dt in response to increment in the  $Ca^{2+}$  concentrations and to isoproterenol were reduced in the HF group and preserved in the INF group. The perfusion with ANG I and ANGI did not induced a inotropic response in all groups. The results demonstrated that, *in vivo*, the RV function is preserved in the INF group and increased in IC group. On the other hand, in the isolated heart the contractility was preserved in the INF, but it was reduced in the IC. In conclusion, it was demonstrated that

early after MI animals with same scar size may present or not HF. The RV contractility was preserved only in the MI animals without signals of HF.

## INTRODUÇÃO

### 1.1 EPIDEMIOLOGIA

Dentre as principais afecções do mundo moderno, a doença cardiovascular é a líder em mortalidade (American Heart Association, 2009). Doenças como a hipertensão arterial, aterosclerose coronariana, cardiomiopatias, miocardite e má formação cardíaca congênita são as principais causas das disfunções do coração (Dhalla et al., 1993; Lloyd-Jones et al., 2002). Dessas doenças, o infarto agudo do miocárdio (IAM) é a mais comum, levando a insuficiência cardíaca (IC) e a morte na população adulta (Barreto et al., 1998).

A IC é, nos Estados Unidos, o maior problema de saúde pública do país, possuindo cerca de 5 milhões de pacientes diagnosticados e cerca de 500 mil à cada ano. A desordem gera de 12 a 15 milhões de visitas médicas e cerca de 6,5 milhões de internação hospitalar por dia a cada ano (American College of Cardiology & American Heart Association, 2005).

No Brasil, não existe uma pesquisa específica que mostre a incidência da IC, mas segundo dados do Sistema Único de Saúde (SUS), através do Ministério da Saúde, no ano 2000 os hospitais públicos tiveram cerca de 328 mil internações e 28 mil óbitos devido a esta afecção. Já no ano de 2007, os hospitais públicos tiveram 1.156.136 de internações decorrentes de problemas cardiovasculares. Neste período, a IC foi considerada a terceira maior causa de internações hospitalares (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2009).

A maioria dos pacientes com IC, cerca de 80%, possui idade acima de 65 anos. Além da piora da qualidade de vida, levando na maioria das vezes a aposentadorias precoces, um terço dos pacientes que foram diagnosticados com insuficiência cardíaca morre 12 meses após o diagnóstico, e apenas a metade dos pacientes que possuem a doença sobrevive 5 anos depois.

(American College of Cardiology & American Heart Association, 2005; Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2002; Lloyd-Jones, 2002).

Os custos da insuficiência cardíaca nos EUA foram de aproximadamente 38.1 milhões de dólares em 1991, o que correspondeu a 5,4% de todo o custo da saúde pública americana, e aproximadamente 500 milhões de dólares são gastos com medicamentos para o tratamento da insuficiência cardíaca, nos Estados Unidos (American College of Cardiology & American Heart Association, 2005).

Segundo Araújo et al. (2005), o gasto, no período de 1 ano, com a internação de pacientes no seguimento ambulatorial de cardiologia da Universidade Federal Fluminense (UFF) foi de R\$ 444.445,20, sendo que esse valor representou 39,7% no custo direto de internações e 38,3% do custo direto com medicamentos do hospital. Segundo dados do DATASUS, em 2005, o custo total da IC no Brasil foi de aproximadamente 250 milhões de reais.

## 1.2 FISIOPATOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA.

A IC é definida como síndrome clínica decorrente da incapacidade de o coração manter suficiente volume de ejeção para manutenção das necessidades metabólicas do organismo em diferentes situações funcionais (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2009).

Em humanos o diagnóstico da IC se baseia em sinais e sintomas do coração insuficiente, como a dispnéia e a fadiga. Nos modelos atuais o diagnóstico da IC é dado através do histórico do paciente, dos exames físico e laboratorial, do eletrocardiograma, da radiografia do tórax, e do ecocardiograma (Shamsham e Mitchell, 2000). Normalmente, para classificar a IC é utilizado o quadro de classificação para as doenças cardíacas da “*New York Heart Association*” (Leving, et al., 1994) e que tem o seu quadro dividido 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.

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 no pulmão, como aumento de peso dos ventrículos e aumento de peso no pulmão (Pereira et al., 2005).

Para entender melhor a fisiopatologia e o desenvolvimento das doenças cardíacas, tem sido utilizado estudos em laboratórios com modelo animal simulando as doenças e as condições peculiares a cada processo patológico. Normalmente o rato é escolhido por ser mais atrativo na realização da oclusão da coronária, o que geralmente cursa com um infarto transmural da parede livre do ventrículo esquerdo (VE). A primeira descrição do método da oclusão coronariana foi realizada em 1954 por Johns e Olson. O infarto do cardiomiócito do rato leva a alterações na fisiologia cardíaca, sendo reproduzido em uma perda global da função do VE. Nos anos 70 e 80, estudos mostraram dados referentes da disfunção ventricular e da área de infarto após lesão do miocárdio artificialmente. Foi visto que o rato possui uma evolução muito rápida após o infarto, em 3 semanas após a isquemia a cicatriz está totalmente desenvolvida com um tamanho que variam entre 15% a 60% da área do ventrículo esquerdo, e mantém todas as alterações no remodelamento após o infarto com hipertrofia do VE da área remanescente, e do ventrículo direito (VD) e alteração da função das câmaras cardíacas (Pfeffer et al., 1991; Fletcher et al., 1981; Dahlla et al., 2006; Lal et al., 2005, Dahlla et al., 2006). Além disso, Pfeffer et al. (1979), descreveram que o tamanho da área da lesão causada pelo o infarto do miocárdio era de suma importância para as alterações hemodinâmicas ventriculares, sendo este um dos motivos para o desenvolvimento da insuficiência cardíaca. Baseando nesses estudos, vários



laboratórios exploram as alterações estruturais, funcionais e bioquímicas no IAM e na IC (Gaballa & Goldman, 2002).

Para tentar manter a fração de ejeção adequada, o coração lança mão de adaptações. A hipertrofia de toda massa cardíaca remanescente e a alteração do formato e do tamanho da câmara ventricular com a dilatação são as principais alterações macroscópicas que ocorrem diretamente no coração (Wikman-Coffelt et al., 1979; Dhalla et al., 1987). Por outro lado, o organismo se adapta para manter as suas necessidades metabólicas básicas normais. Os mecanismos de adaptação e remodelamento envolvem a regulação neuro-humoral, com aumento da atividade simpática, liberação de endotelina e ativação do sistema renina angiotensina aldosterona (Parcker, 1988; Swedberg, 1990; Parmley, 1995; Nicholls et al., 1996).

O conceito de remodelamento foi abordado por Janice Pfeffer e colaboradores estudando a causa e o padrão do aumento da dilatação e da perda da função do VE após o INF em ratos.

O remodelamento após o INF inicia-se nas primeiras horas após a lesão. A distensão do ventrículo e a diminuição da espessura, tanto da área infartada quanto da área não infartada, são conseqüências desse remodelamento. Subseqüente, a área infartada hipertrofia, freqüentemente sem alteração da relação do peso do VE sob o peso corporal (Mohamed et al., 2002; Korup et al., 1997). Sabe-se que na fase inicial da doença essas modificações são benéficas ao organismo, mas em longo prazo, a exposição aos estímulos leva a deficiência e progressão da IC (Dhalla et al., 1993; Dhalla et al., 1979).

Estudos mostram que a interação do estresse da parede ventricular e as substâncias liberadas de forma contínua, e em longo prazo, após o INF levam ao processo de remodelamento do coração, gerando hipertrofia do cardiomiócito e modificação da matriz extracelular. (Zhu et al., 2003; El-Sabban et al., 2000; Berthonneche et al., 2005; McElmurray et al., 1999; Kawano et al., 2005; Lijinen & Petrov, 1999; Mohamed et al., 2002; Pfeffer & Braunwald 1990).

O aumento do estresse de parede decorre da sobrecarga de volume gerado pela perda da massa ventricular infartada. O estresse gerado sobre a câmara cardíaca favorece ao aumento da área ventricular e a hipertrofia da massa ventricular remanescente. O estresse de parede se refere à quantidade de força ou tensão existente na parede do miocárdio e age em cada célula

miocárdica num dado momento (Jones, 2000). O estresse de parede pode ser entendido através da descrição da lei de Laplace, onde temos que: estresse de parede = pressão ventricular x raio interno ventricular / 2 x espessura da parede (Jones, 2000).

A hipertrofia do VE após o INF é caracterizada pelo aumento da massa ventricular com dilatação da câmara cardíaca (Opie et al., 2006). Ao VD é imposto um aumento de pressão arterial pulmonar devido a congestão e aumento de pressão diastólica do VE, levando a hipertrofia concêntrica da câmara cardíaca direita (Haddad et al., 2008).

Essas alterações macroscópicas, muitas vezes, são atribuídas a modificações microscópicas relacionadas às atividades das células do sistema cardíaco. Um aspecto muito estudado hoje sobre a evolução da disfunção cardíaca refere-se as alterações que ocorrem através do remodelamento sub – celular. Essas modificações envolvem o controle da apoptose cardíaca, alterações metabólicas e de produção de energia celular e modificações na expressão de proteínas que controlam a atividade contrátil e de relaxamento na célula cardíaca (Dahlla et al., 2006).

O controle do cálcio intracelular do cardiomiócito é de grande importância sobre a função metabólica e de geração de energia, tendo envolvimento tanto na atividade inotrópica quanto na atividade lusitrópica, e favorece o aparecimento da hipertrofia cardíaca (Dorn, 2005; Bers & Guo, 2005). A regulação da contratilidade através do cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) envolve um sistema altamente especializado de canais iônicos, bombas e trocadores. A contração inicia-se com a despolarização do sarcolema levando a abertura de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  voltagem - dependentes do tipo L ( $\text{Ca}^{+2}$ -L) no túbulo T, favorecendo a entrada do  $\text{Ca}^{2+}$  em regiões de microdomínios próximos ao reticulo sarcoplasmático (RS). O aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no microdomínio gera um estímulo para a abertura de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  na membrana do RS, conhecidos como receptores de rianodina ( $\text{RyR}_2$ ), liberando mais  $\text{Ca}^{2+}$  para o meio intracelular. Esse aumento de  $\text{Ca}^{2+}$ , em torno de 1000 vezes maior do que o valor basal de  $\text{Ca}^{2+}$  no interior do cardiomiócito durante o repouso muscular, é responsável pela ativação da contração muscular. O relaxamento ocorre com a recaptação do  $\text{Ca}^{2+}$  através da bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  do reticulo sarcoplasmático (SERCA). Essa bomba é dependente do estado de fosforilação de uma

proteína conhecida como fosfolambam (PLB). Quando não fosforilada, ela inibe a SERCA, mas quando fosforilada ela deixa de inibir a SERCA, favorecendo a captação de cálcio para o interior do RS. Além disso, o  $\text{Ca}^{2+}$  é retirado do citosol através do trocador sódio/cálcio do sarcolema (NCX) e também por bombas de cálcio na membrana plasmática (Bers, 2005). No animal com insuficiência cardíaca, a homeostase do cálcio fica modificada. Várias investigações têm mostrado que o RS e o sarcolema perdem a capacidade de movimentar corretamente o cálcio no miócito (Dahlla et al., 1996; Hefti et al., 1997). Algumas proteínas importantes para o processo de acoplamento excitação-contração apresentam-se alteradas em relação a função e a expressão protéica. Têm-se demonstrado deficiência do  $\text{RyR}_2$ , da SERCA, do PLB, da bomba de cálcio sarcolemal, do canal de  $\text{Ca}^{2+}$  do tipo L, do NCX e da proteína S100A1 durante a IC (Dahlla, 1997; Most et al., 2006; Most 2007 ). Além dessas proteínas, a própria estrutura e a função das miofibrilas ficam modificadas. A diminuição da sensibilidade da troponina C (TnC) ao  $\text{Ca}^{2+}$ , (Dahlla et al., 1993; Davies et al., 1996), do fornecimento de ATP para a miofibrila, as mudanças nas isoformas das proteínas miofibrilares (Buttrick et al., 1988; Izumo et al., 1987), são alterações que estão envolvidas no desenvolvimento da IC.

Além do remodelamento do cardiomiócito, em sua forma e tamanho, há também uma alteração do meio intersticial que envolve a célula cardíaca e que influencia sua função contrátil. Tanto nos estudos em humanos como em modelos animais, têm sido mostradas alterações na interface dos colágenos, na estrutura e composição, no cardiomiócito, a qual também influencia a forma geométrica do VE (Burlew BS, Weber KT, 2000; Weber KT et al., 1992). A matriz extracelular é um pivô importante na sustentação dos cardiomiócitos, mantendo o alinhamento celular através de proteínas do tipo colágeno, distribuindo a força gerada pelo cardiomiócito para todo o coração em cada ciclo cardíaco (Glagov S., 1994; Weber KT, Brilla CG, 1991; Bishop JE, 1998; Suzuki J, 1993).

O fibroblasto cardíaco participa do remodelamento da matriz extracelular do coração após o INF. No coração normal, o fibroblasto está na forma quiescente, mas pode se tornar ativo após algumas circunstâncias como a isquemia cardíaca e INF. A proliferação com o depósito de colágeno,

normalmente o colágeno do tipo I e III, diminui a complacência da câmara ventricular, gerando disfunção diastólica e elevação da pressão de enchimento cardíaco. (Bin Tian et al., 2003; Weber et al., 1994).

Muitas dessas adaptações no sistema cardiovascular, principalmente no próprio coração, são dependentes de fatores locais que interferem no funcionamento e na estrutura cardíaca. Uma das primeiras modificações é o aparecimento de fatores pró - inflamatórios liberados por macrófagos devido à necrose do cardiomiócito. Segundo Moro et al. (2007), o aumento do fator de necrose tumoral (TNF –  $\alpha$ ) na primeira semana após o infarto pode ser um dos fatores para o início do processo da formação da IC. A alteração desse fator, principalmente, no oitavo dia da injúria seria um ponto marcante na formação das alterações hemodinâmicas visto na evolução do infarto. Esse efeito do TNF -  $\alpha$  é, aparentemente, sobre o aumento da liberação de óxido nítrico (NO), via ativação da enzima óxido nítrico sintase induzível, iNOS, a qual tem mostrado induzir um efeito inotrópico negativo, participando na disfunção cardíaca e conseqüentemente da insuficiência cardíaca (Scott et al., 2004; Ricardo et al., 2008, Pinto et al., 2007).

Outra modificação em curto prazo é o aumento da ativação simpática, através de aumento da atividade neural ou de liberação endócrina de adrenalina. Tanto a atividade do receptor  $\alpha$  - 1 como a do receptor  $\beta$  - 1 adrenérgico são responsáveis por modificações da atividade cardíaca após o infarto. Bishopric et al. (1987), Long et al. (1989) Akhter et al. (1997) mostraram que a estimulação do receptor  $\alpha$  - 1 é responsável pela ativação da proteína Kinase C (PKC) e fosfolipase C, que são fatores hipertrofos importantes no cardiomiócito no remodelamento após o infarto. O receptor  $\beta$  - 1 é principalmente responsável pelo aumento das atividades inotrópica, cronotrópica e lusitrópica. Esses mecanismos são responsáveis pelo aumento da atividade inotrópica, cronotrópica e lusitrópica cardíaca em situações na qual há a necessidade do aumento do volume cardíaco, como em uma corrida ou em algum momento de estresse. O aumento da atividade  $\beta$  também é encontrado após o infarto agudo do miocárdio e na IC, gerando o aumento de toda atividade cardíaca e também favorecendo a hipertrofia das células cardíacas por estimulação da proteína Kinase A (PKA) (Gerald & Dorn, 2002; Fink et al., 2001). Várias outras substâncias interferem no funcionamento

cardíaco após o INF, como o aumento da endotelina, da bradicinina, das prostaglandinas, dos peptídeos natriuréticos, da ouabaína e do sistema renina – angiotensina (SRA) juntamente com a aldosterona (Mendzef & Slovinski, 2004, Stella et al., 2008).

### 1.3 O SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA NA INSUFICIENCIA

O sistema SRA é um regulador essencial das funções cardiovasculares e renais. Classicamente, o SRA é visto como um sistema hormonal circulante, envolvido na regulação da pressão arterial e no balanço hidro-eletrolítico (Brunner et al., 1972; Haber, 1983).

A formação mais conhecida do SRA inicia – se com o angiotensinogênio, uma glicoproteína produzida no fígado, a qual é clivada a angiotensina I (ANG I) por uma enzima proteolítica produzida no aparelho justaglomerular do rim conhecida como renina. O decapeptídeo ANG I é uma forma inativa e não tem efeito direto a não ser que uma metaloproteinase, a enzima conversora de angiotensina (ECA), produzida no endotélio vascular dos vasos, principalmente nos vasos pulmonares, cliva a ANG I em um octapeptídeo conhecido como angiotensina II (ANG II). Além das atividades no rim através do controle do balanço hídrico-eletrolítico, a ANG II age diretamente na musculatura lisa vascular gerando aumento do tônus vascular e aumento da pressão arterial. ANG II também estimula o córtex da supra – renal a produzir e liberar aldosterona (Petrozzi & Matiazzi, 2001; Paul, Mehr, Kreutz, 2006), a qual participa da disfunção endotelial na IC (Sartório et al., 2007).

Essa cascata de ativação tem sido descrita há décadas por vários estudiosos da área cardiovascular, mas nos últimos anos as descobertas de atividades em outros órgãos têm mostrado um sistema muito mais complexo. Além da formação unicamente de um tipo de peptídeo ativo através da degradação da angiotensina I, outros tipos de angiotensina, como a angiotensina (1 – 7) (ANG 1-7), têm sido descritos em estudos mais recentes

(Ferrario et al.,1991; Santos et al., 1997). Além disso, vias alternativas na formação da angiotensina II têm sido vista como no caso da quimase, uma protease produzida por macrófagos que também tem a função de transformar a forma inativa da ANG I em forma ativa (Urata et al., 1991; Urata et al., 1996).

Alguns estudos mostraram que existe produção de todo o sistema renina – angiotensina em outros órgãos. O primeiro a mostrar isso foi Ganten e colaboradores (1971), onde em dois trabalhos eles mostravam a formação da renina no sistema nervoso central e não somente no rim. Após esses estudos, várias pesquisas (Baltatu & Bader, 2003; Sakai & Sigmund, 2005; Von Lutterotti et al., 1994) começaram a ser feitas para demonstrar que existia a produção local em vários órgãos como cérebro, nas glândulas adrenais, nos vasos (Paul, Mehr, Kreutz, 2006).

No início da década de 90, trabalhos de Lindpaintner & Ganten (1991) e Dzau & Re (1994) mostraram que havia a produção de renina no coração de ratos através de pesquisas com o RNAm formadora dessa proteína, e que através disso havia a possibilidade de que a produção da angiotensina no tecido cardíaco, descartando a possibilidade da renina encontrada no coração fosse unicamente proveniente do plasma do animal.

Atualmente, o SRA é considerado um sistema endócrino, parácrino, autócrino e intrácrino que apresenta um papel modulador em vários tecidos como nos vasos sanguíneos, rins, cérebro, glândulas endócrinas e principalmente no coração (Dzau et al., 1988; Ferrario et al., 1998, Singh, Baker & Rajesh Kumar, 2008).

Em vários órgãos, a angiotensina atua normalmente em dois tipos de receptores com sete domínios transmembrana conhecidos como AT1 e AT2 (De Gasparo et al, 2000; Iwai & Inagami, 1992; Kaschina & Unger, 2003). O AT1 e o AT2 possuem a mesma afinidade a ANG II, mas a sua estrutura genômica, sua localização em órgãos específicos e a sua regulação são bastante diferentes (Paul, Mehr, Kreutz, 2006; Petroff & Mattiazzi,2001). Ambos, AT1 e AT2 são receptores com sete domínios transmembrana, acoplados à proteína G e respondem diferentemente quando estimulados (Kim & Iwao, 2000).

Muitas questões ainda são discutidas sobre os dois receptores. A proporção e suas funções são bem diferentes quanto ao sistema que ela atua,

por exemplo, no coração de ratos a proporção de receptores AT1 e AT2 são as mesmas, já nos humanos a quantidade de AT2 é maior do que a de AT1. Em relação à função, no vaso arterial, o receptor AT1 estimula a vasoconstrição e a liberação da aldosterona (Hollenberg & Williams), já a estimulação do AT2 parece controlar a função vasoconstrictora do AT1 e participa no remodelamento e na angiogênese vascular. No coração a função de ambos os receptores é diferente. O receptor AT1 tem efeitos sobre a contratilidade, promovendo efeitos inotrópicos tanto positivo quanto negativo (Petroff & Mattiazzi, 2001), na propagação de impulsos elétricos devido aumento da ativação das células de purkinje (Kass & Blair, 1981), nos fatores que aumentam crescimento celular, aumentando a ocorrência de apoptose, e também no processo de remodelamento do tecido cardíaco, na hipertensão arterial e no infarto do miocárdio (Paul, Mehr, Kreutz, 2006). A função do receptor AT2 tem sido descrita como mediadora da apoptose gerada pelo receptor (Wang & Nygren).

Entre todos os efeitos descritos para o receptor AT1 sua ação sobre a contratilidade miocárdica é a mais divergente. Em corações normais de mamíferos, o AT1 pode promover: efeito inotrópico positivo (Fujita & Endoh, 1999; Ikenouchi et al., 1994; Ishihata & Endoh, 1993; Mattiazzi et al., 1997, Moravec et al., 1990; Vila Petroff et al., 2000), inotrópico negativo (Capasso et al., 1993; Li 1994; Meissner et al., 1998; Moravec et al., 1990; Lefroy et al., 1996; Rosenkranz et al., 1997; Sakurai et al., 2002) ou mesmo, em alguns artigos nenhum efeito inotrópico (Lefroy et al., 1996; Ishihata & Endoh, 1993; Holubarsch et al., 1993; Lenz et al., 1995).

O efeito inotrópico positivo da ANG II é dependente da atividade gerada através de sua interação com a proteína G estimulatória, a qual geraria a formação de dois segundos mensageiros, o inositol trifosfato (IP3) e o diacilglicerol (DAG). O IP3 estimula a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático e também é responsável pelo aumento da sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio. O DAG teria como efeito a estimulação do PKC, a qual fosforila vários trocadores e bombas e favorecendo o acúmulo de  $Ca^{2+}$  e a mudança de pH intracelular, aumentando assim a força contrátil, principalmente no gato e no coelho. Em ratos e em humanos esse efeito ainda não é tido como unanimidade (Matiazzi, 1997). Os efeitos negativos da ANG II em

algumas espécies, como no rato, podem se dar pela diminuição da produção de AMPc que levaria a uma diminuição da contratilidade do cardiomiócito (Capasso et al., 1993). Palomeque e colaboradores (2006) demonstraram que cardiomiócitos isolados estimulados com ANG II apresentavam um efeito inotrópico negativo possivelmente devido a ativação da p28 MAPK levaria a diminuição da sensibilidade dos miofilamentos ao  $Ca^{2+}$ .

Estudos sobre o envolvimento da ANG II no INF mostram que uma das alterações causadas pelo infarto é o aumento tanto da ANG II plasmática como da ANG II local, sendo que esse aumento pode ser pela atividade de enzimas como a ECA ou através do estiramento dos cardiomiócitos ventricular. Além disso, esse aumento da ANG II influencia em todo o processo de remodelamento e função do músculo cardíaco após a injúria (Ertl et al., 1982; Litwin et al., 1991; Yasuda et al., 2007; Dhalla et al., 2008). Busche et al., em 2000, mostraram que após o infarto do miocárdio os receptores AT1 e AT2 aumentam, sugerindo que a angiotensina tem participação direta no remodelamento e na função do coração após o infarto.

A grande função da ANG II sobre o coração infartado é através do remodelamento do cardiomiócito. A hipertrofia do miocárdio é uma das funções marcantes do cardiomiócito através da estimulação do receptor AT1. Estudos *in vitro* de cardiomiócitos de coração que não sofreram infarto do miocárdio e de coração de ratos neonatos tiveram aumento da espessura depois de estimulados com ANG II. Aparentemente, após o estímulo das células cardíacas pela ANG II, há a liberação de endotelina-1, que é um hormônio que estimula a hipertrofia cardíaca (Van Kesteren et al., 1997). Além disso, a ANG II estimula a hipertrofia através da indução do aumento da expressão de genes ligados à hipertrofia como os “immediate early genes” (c-fos, c-jun, jun B, Egr-1, c-myb e c-myc) genes para fatores de crescimento (TGF -  $\alpha$ ) e genes marcadores de hipertrofia como a  $\beta$  - actina e o fator natriurético atrial (Dostal et al., 1997).

Juntamente com os cardiomiócitos, os fibroblastos também sofrem influência de sua forma e função após o INF. A ANG II está intimamente ligada ao crescimento dos fibroblastos e do aumento da deposição de colágeno no tecido cardíaco. Estudos demonstram que esse estímulo é abolido quando há a inibição do receptor AT1, mas não é abolido quando há inibição do receptor



AT2, mostrando a ação principal do receptor AT1 sobre o remodelamento do coração (Booz et al., 1994; Schorb et al., 1995; Booz and Baker, 1995; Dostal and Baker, 1997).

Além da atividade hipertrófica e de remodelamento, a ANG II tem um papel importante no estímulo da apoptose do cardiomiócito após o infarto. A ANG II, através dos receptores AT1 e AT2, induz apoptose do cardiomiócito. Este fato contribui para a diminuição da quantidade de células viáveis na área remanescente do coração infartado, favorecendo ao aparecimento da IC (Anversa, 1998; Cigola et al., 1997; Yamada et al., 1996).

Dhalla et al. (2008), descreveram que a inibição da ANG II, através de imidrapil, um inibidor da ECA, estabiliza as organelas que fazem parte da mobilização do  $Ca^{2+}$  no interior do cardiomiócito e que desempenham um papel na contração cardíaca e do relaxamento. Este fato demonstra que, além do remodelamento da forma e da quantidade de células miocárdicas, a super exposição das células a ANG II, devido o estímulo do infarto, modifica as propriedades contráteis e de relaxamentos durante o remodelamento. (Dhalla et al., 2006)

Alguns trabalhos discutem a participação da ANG II na regulação inotrópica após o infarto do miocárdio (Capasso et al., 1993; Meggs et al., 1993; LeFroy et al., 1996). Da mesma forma que existe controvérsia sobre a ação contrátil da angiotensina no coração normal, também há muita controvérsia sobre a participação do hormônio na regulação da manutenção da atividade contrátil após a lesão cardíaca. Capasso et al. (1993), descreveram que a ANG II pode ser um dos responsáveis do prejuízo da força contrátil do cardiomiócito após o INF e favorecendo a IC. Os autores obtiveram uma diminuição do inotropismo cardíaco do músculo papilar de ratos INF após a exposição do músculo a ANG II. Meggs et al. (1993), demonstraram que a diminuição da força de contração de papilares tanto do VE como tiras do músculo do VD pode estar envolvida com a presença do aumento da angiotensina na região remanescente ao infarto. Já LeFroy et al. (1996), demonstraram que a ANG II não possui efeito sobre o inotropismo dos músculos remanescentes de corações infartados de vários mamíferos, como o porco, o rato e o do humano.

Mesmo sem uma definição clara de como o SRA interfere na função do coração INF, é bem sabido que de alguma forma a função e o remodelamento é influenciado pelo aumento da atividade da ANG II em todo o coração.

#### 1.4 INFARTO DO MIOCÁRDIO COM E SEM INSUFICIÊNCIA COM A MESMA ÁREA DE INFARTO.

Em 2005, Pereira et al, estudando a reatividade vascular da artéria caudal de ratos infartados identificaram uma diferença na responsividade dessas artérias. Os autores demonstraram que havia uma diferença funcional tanto do coração quanto das aortas de ratos INF, com a mesma área de infarto. Este estudo foi o primeiro a demonstrar que, ratos que sofreram oclusão da coronária, mas que apresentavam a mesma área de infarto podia ser dividido em dois grupos: os INF com e sem sinais de IC. Assim, esse estudo demonstrou que mesmo as alterações na reatividade vascular não estavam ligadas ao tamanho da área de INF.

Depois desse achado, vários trabalhos em nosso laboratório têm focado na dicotomia do desenvolvimento do INF após a cirurgia da oclusão da coronária esquerda. Farias et al. (2007), mostraram que o grupo de ratos infartados e que desenvolviam IC já possuía uma diminuição na reatividade vascular nos primeiros 7 dias após o INF e que os ratos que não desenvolviam a IC não possuía as mesmas alterações.

Dias (2007), mostraram que a atividade da  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$  (NKA) possuía uma diminuição na sua função em ratos INF e com IC após 30 dias do evento, diferente dos ratos que sofreram INF e não possuíam IC.

Giubert et al. (2005), mostraram que 50% das ratas que sofriam o INF, com área de cicatriz de aproximadamente 30 %, desenvolviam IC, após serem avaliadas 60 dias após o evento. Fernandes (2006), estudando músculo papilar do VE e tiras de músculo do VD de ratos 60 dias após INF mostraram que tanto a contratilidade dos músculos do VE como a do VD dos ratos IC estava sofrendo prejuízo de sua função comparadas aos ratos sem sinal de IC.

Moura (2007), trabalhando com coração isolado mostrou que os VD de ratos IC possuíam um prejuízo na contratilidade, tanto na sensibilidade ao  $\text{Ca}^{2+}$

extracelular, quanto na estimulação  $\beta$  – adrenérgica em ratos com 8 semanas após o INF.

Muitos autores demonstram que os sinais de IC aparecem no início do desenvolvimento da doença após o INF em corações de ratos. Segundo alguns estudos de Anversa et al. (1985a,b), tanto o VD como o VE sofrem de alterações em sua função e morfologia após o INF, e que segundo Fishbein et al. (1979), essas alterações estariam completas em 21 dias após o infarto.

Um aspecto que ficou claro até o momento é que as alterações morfofuncionais do VD acontecem na fase inicial após a oclusão coronariana. Segundo os estudos no nosso laboratório, numa fase crônica, há uma diferença marcante na função cardiovascular entre os ratos que apresentam a mesma área de INF, os quais são claramente separados daqueles que apresentam ou não sinais clássicos de IC. Nossa hipótese neste estudo foi a de que esta dicotomia já poderia se instalar no VD numa fase inicial após o infarto.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL:

Avaliar o desempenho contrátil do VD, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, 7 dias após a realização do INF em ratos que desenvolveram ou não sinais de IC com a mesma área de cicatriz.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Estudo *in vivo* do VD e VE através das medidas hemodinâmicas arteriais e intraventriculares.
- Estudo *in vitro* do mecanismo heterométrico do VD avaliado através da curva de Frank-Starling.
- Estudo *in vitro* do mecanismo homeométrico do VD através do aumento da concentração de  $Ca^{2+}$  extracelular e da ativação  $\beta$ -adrenérgica.
- Estudo funcional *in vitro* do SRA através de dose única *in bolus* de ANG I e II no VD.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1- ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Para a realização das pesquisas, foram utilizados ratos machos Wistar pesando entre 220 e 240 gramas. Os Animais foram adquiridos do biotério do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram mantidos sob o controle de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso de água e ração.

Os experimentos foram realizados conforme as normas da legislação e ética para prática Didático-Científico da vivissecção de animais de acordo com a lei nº 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 - INFARTO AGUDO DO MIOCARDIO:

Os animais foram anestesiados com uma mistura de quetamina (100 mg/ml) e xilazina (20 mg/ml) numa mistura de 1:1, sendo que a dose injetada foi de 0,1 ml/100g, aplicados intramuscular na pata do animal. Em seguida, foi feita uma toracotomia do lado esquerdo entre o terceiro e quarto espaço intercostal. O músculo peitoral foi separado e as costelas expostas. O coração foi exteriorizado, sendo então passado um fio de mononylon 6.0 na artéria coronária descendente anterior esquerda. Após a ligadura, o coração era recolocado no seu lugar e o tórax fechado. O grupo SHAM, passou pelas mesmas etapas, mas sem sofrer a ligadura da artéria coronária. Após sete dias do processo de INF, os animais eram utilizados para os experimentos. Os animais foram mantidos em gaiolas, sob controle de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso de água e ração.

## 2.1. – AVALIAÇÃO DA ÀREA DE INFARTO

Após os procedimentos experimentais a câmara do VE era separada e retirada à área cicatricial da região que sofrera a necrose devido ao INF. A área cicatricial do INF era visualizada através da transiluminação, sendo então cortada e medida em papel milimetrado para avaliação da área correspondente em  $\text{mm}^2$  (Mill et al., 1990).

## 3. - AVALIAÇÃO HEMODINAMICA:

Os animais dos grupos INF e SHAM eram anestesiados com uma injeção intraperitoneal de uretana (1,2 g/kg i.p). A artéria carótida esquerda e a veia jugular esquerda eram dissecadas e canuladas com um cateter de polietileno (PE-50) e este conectado a um transdutor de pressão (TSD – 104A - Byopac) conectado a um sistema de aquisição de dados (MP100 Byopac Systems, Inc: Ca USA) Os cateteres introduzidos nos vasos chegavam ao VD quando este colocado na veia e VE quando colocado na artéria e então eram feitos os registros das pressões intraventriculares.

Foram registradas a pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial sistólica (PAS), pressão sistólica no ventrículo esquerdo (PSVE), pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDf VE), pressão sistólica do ventrículo direito (PSD), pressão diastólica final do ventrículo direito (PDf VD), frequência cardíaca (FC) e a primeira derivada de pressão positiva e negativa do ventrículo direito e do ventrículo esquerdo ( $dP/dt+$  VE,  $dP/dt-$  VE,  $dP/dt+$  VD e  $dP/dt-$  VD). As figuras 1 e 2 mostram os registros originais hemodinâmicos dos animais INF e IC, respectivamente.

## Valores hemodinâmicos dos animais do grupo SHAM

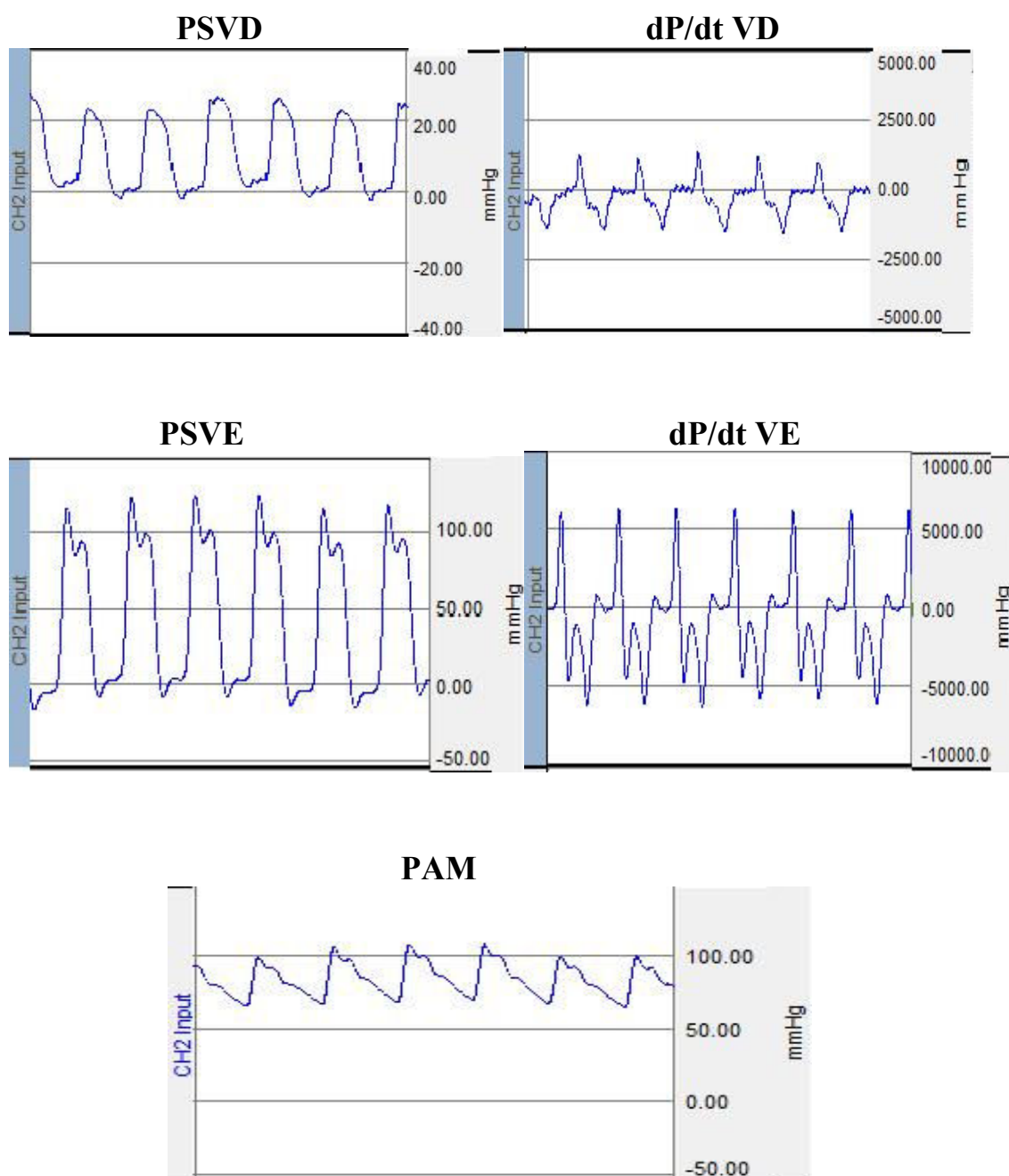


Figura 1. Registro original da avaliação hemodinâmica em ratos anestesiados com Uretana (1,2 g/kg i.p.) dos animais do grupo IC. **PSVD:** Pressão intraventricular direita em mmHg; **PSVE:** Pressão intraventricular esquerda em mmHg; **PAM:** Pressão arterial média em mmHg; **dP/dt VD** : Primeira derivada de pressão ventrículo direito em mmHg/s; **dP/dt VE:** Primeira derivada de pressão ventrículo esquerdo em mmHg/s.

## Valores hemodinâmicos dos animais do grupo INF

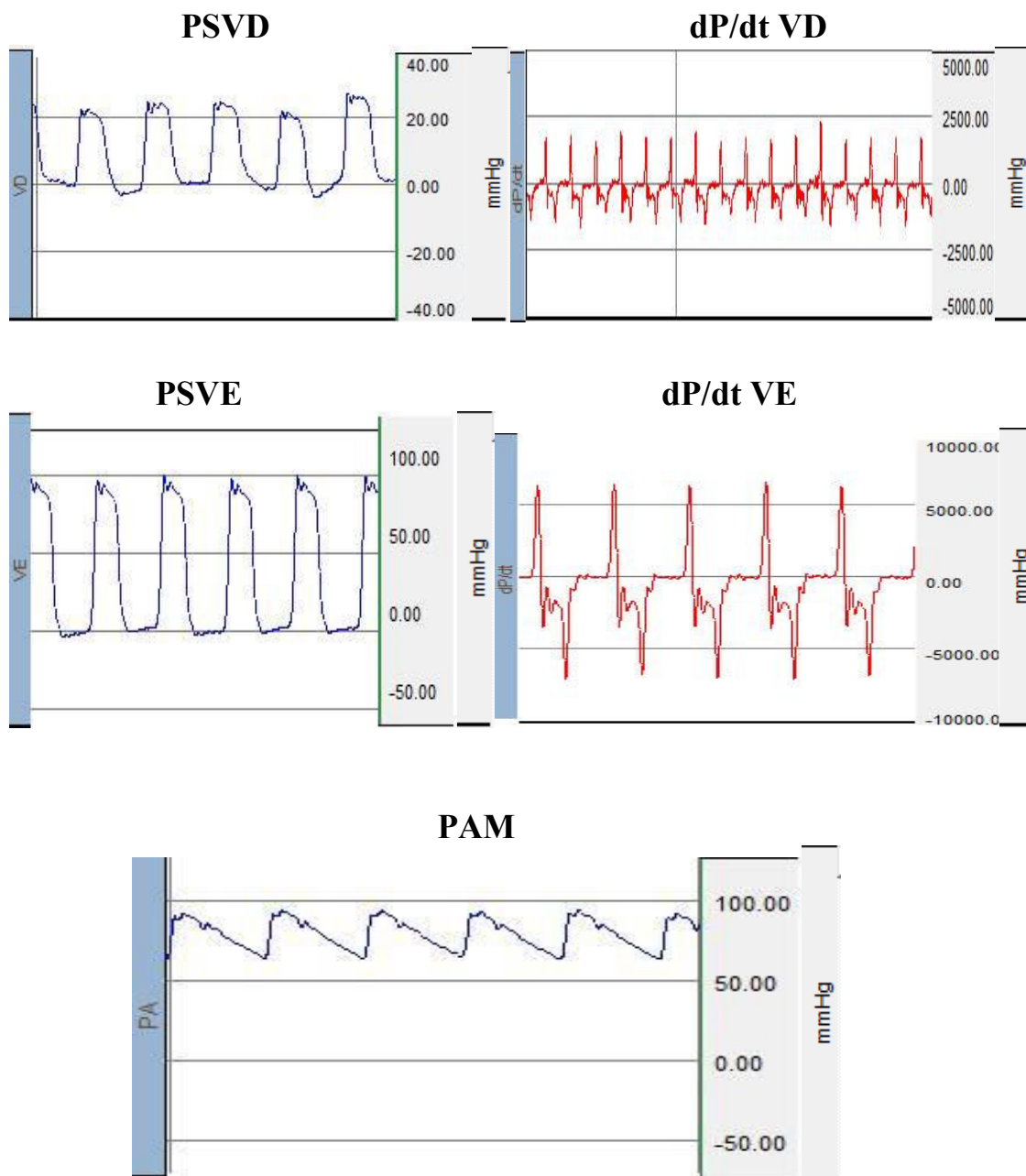


Figura 2. Registro original da avaliação hemodinâmica em ratos anestesiados com Uretana (1,2 g/kg i.p.) dos animais do grupo IC. **PSVD**: Pressão intraventricular direita em mmHg; **PSVE**: Pressão intraventricular esquerda em mmHg; **PAM**: Pressão arterial média em mmHg; **dP/dt VD** : Primeira derivada de pressão ventrículo direito em mmHg/s; **dP/dt VE**: Primeira derivada de pressão ventrículo esquerdo em mmHg/s.



## Valores hemodinâmicos dos animais do grupo IC

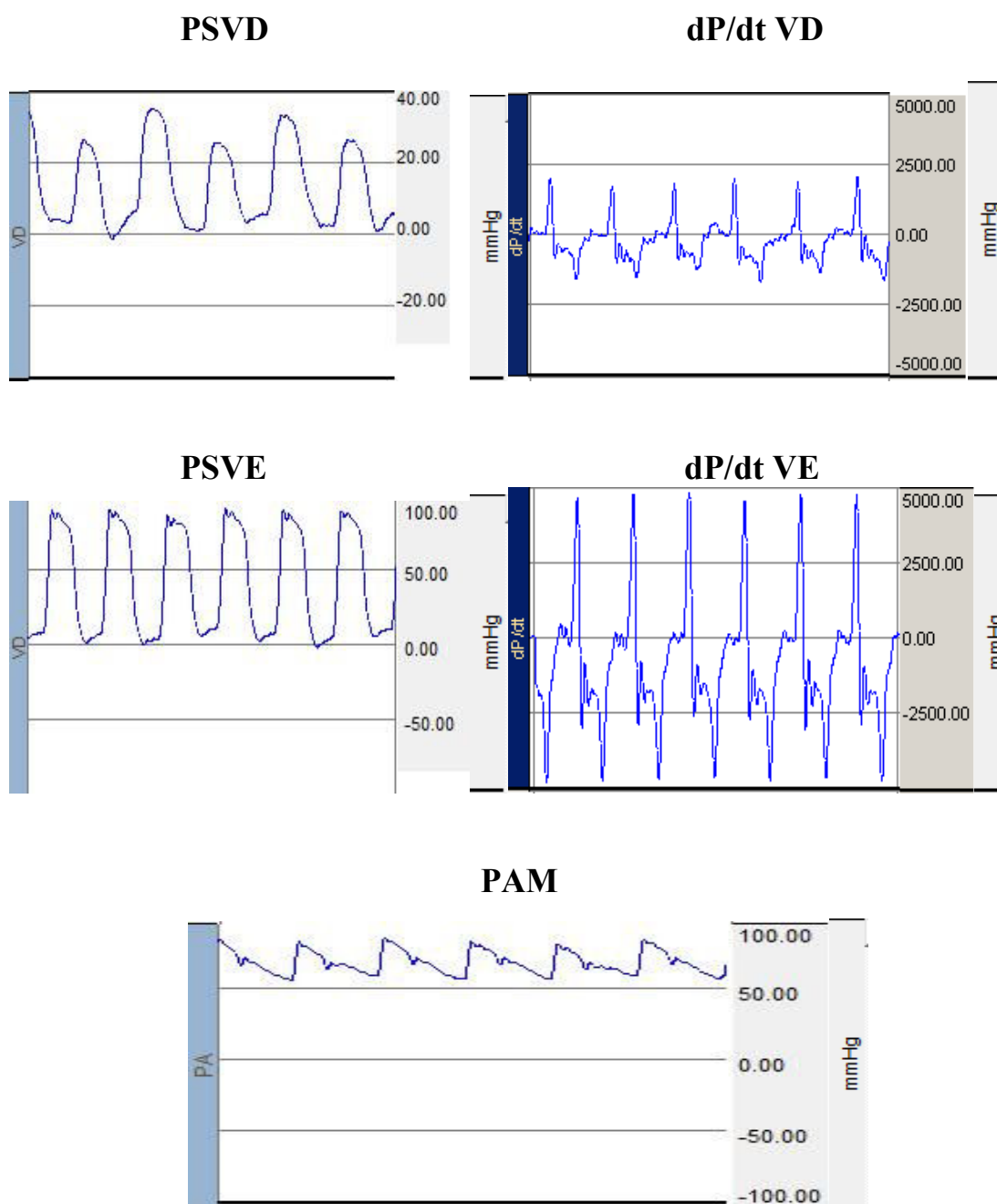


Figura 3. Registro original da avaliação hemodinâmica em ratos anestesiados com Uretana (1,2 g/kg i.p.) dos animais do grupo IC. **PSVD:** Pressão intraventricular direita em mmHg; **PSVE:** Pressão intraventricular esquerda em mmHg; **PAM:** Pressão arterial média em mmHg; **dP/dt VD** : Primeira derivada de pressão ventrículo direito em mmHg/s; **dP/dt VE:** Primeira derivada de pressão ventrículo esquerdo em mmHg/s.

#### 4. – AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO VENTRICULAR DIREITO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE LANGENDORFF:

Após as avaliações das pressões hemodinâmicas o animal, previamente anestesiado com Uretana, era preparado para o estudo do coração isolado. A preparação de langendorff tem como objetivo avaliar a função ventricular de corações de ratos *in vitro*. Os animais eram pré-tratados com 50 U de heparina sódica via intraperitoneal e depois o animal era sacrificado. Imediatamente após, o tórax era aberto e o coração exposto. Era feita a retirada do timo do animal, e em seguida era ocluída a carótida primitiva esquerda, subclávia esquerda e braquiocefálica. O coração era retirado e conectado a um sistema de perfusão através do coto aórtico, sendo perfundido retrogradamente com solução nutritora de Krebs: NaCl 120 mM; KCl 5,4 mM; CaCl<sub>2</sub> 1,25 mM; MgCl<sub>2</sub> 1,2 mM; NaHCO<sub>3</sub> 18 mM; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,2 mM; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 mM; Glicose 11 mM, gaseificada com mistura carbogênica na proporção 95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>, sendo essa solução colocada em um banho-maria para manter uma temperatura de 33° C. Após a estabilização da pressão de perfusão, eram retirados os pulmões e os átrios. A artéria pulmonar era perfurada para evitar um aumento da pressão intraventricular que não fosse pelo balão. Também um orifício era feito no ápice do ventrículo esquerdo para impedir o acúmulo de líquido proveniente da circulação de Thebesios, que apresenta em torno de 5% do total do fluxo coronariano (Weber, 1986). Era colocado um estimulador de voltagem para manter os batimentos cardíaco em uma frequência fixa de 200 bpm com um eletrodo de estimulação (Ag/AgCl) mergulhado na cuba, próximo ao coração. Eram usados pulsos de onda quadrada de intensidade uma vez e meia a limiar (5-10 V) e duração de 5 ms.

Após todos os ajustes, era colocado um balão de látex no interior do VD através da válvula átrio-ventricular e esperado um tempo médio de 10 minutos para a estabilização da função ventricular. Cada balão era hermeticamente conectado a um cateter PE 150, ligado a uma peça em Y, onde uma saída possuía conexão a um transdutor de pressão (TSD – 104A - Byopac). Este permitia o registro das pressões sistólicas e diastólicas do VD. A outra extremidade da peça era conectada a uma seringa de polietileno (1 ml) através

de uma cânula de PE 50 e todo este sistema era preenchido por água deionizada a fim de controlar 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 (TSD – 104A - Byopac) acoplado a um sistema de perfusão aórtica. Como o fluxo coronariano era mantido de forma constante, todas as mudanças na pressão coronariana eram refletidas por uma alteração da resistência vascular da coronária.

Todos os transdutores de pressão eram acoplados a um único aparelho de aquisição de dados (MP 100 Byopac Systems, Inc, Ca, EUA) e esse era ligado a um computador.

Através da preparação do Langendorff foram avaliados alguns parâmetros das funções VD, sendo registradas a pressão sistólica isovolumétrica (PS), mostrando a atividade contrátil do VD, a primeira derivada Temporal positiva da PS (dP/dt+) como um índice de contratilidade do músculo cardíaco e primeira derivada Temporal negativa da PS (dP/dt-) como um índice de relaxamento do músculo cardíaco.

#### 4.1. – PROTOCOLO EXPERIMENTAL DO LANGENDORFF:

O coração isolado foi usado para avaliar a atividade inotrópica frente a diferentes mecanismos reguladores do inotropismo cardíaco.

O mecanismo heterométrico foi avaliado através do aumento da pressão intraventricular. Para avaliar o mecanismo homeométrico, foram utilizadas 4 intervenções inotrópicas: alteração na concentração de  $Ca^{2+}$  extracelular na solução nutritiva, dose *in bolus* de isoproterenol, um agonista  $\beta$ -adrenérgico; dose *in bolus* de ANG I, e uma dose *in bolus* de ANG II. As figuras 4, 5 e 6 mostram os registros típicos obtidos na preparação de Langendorff dos animais SHAM, INF e IC, respectivamente.

#### 4.1.1. - AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HETEROMÉTRICA ATRAVÉS DO MECANISMO DE FRANK-STARLING:

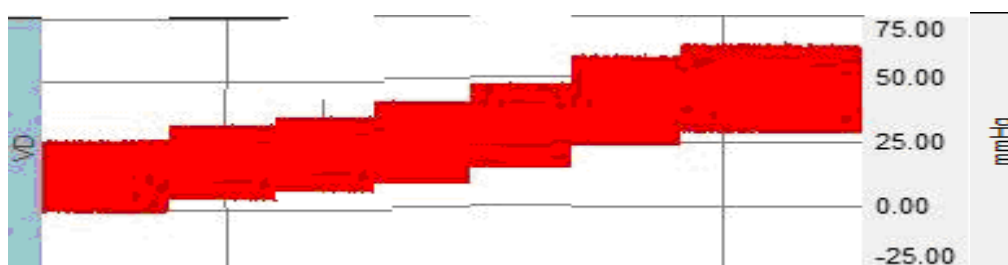
Para a avaliação do mecanismo de Frank-Starling, promoveu-se aumento da pressão diastólica do ventrículo direito com o intuito de aumentar a pressão sistólica. Para a realização da manobra a preparação era mantida em um fluxo coronariano de 10 mL/min com solução de Krebs a uma concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  a 1,25 mM. A curva foi realizada com variações da pressão diastólica de 0 até 30 mmHg, com incrementos de 5 mmHg..

## Curva Estiramento-Pressão.

### SHAM



### INF



### IC

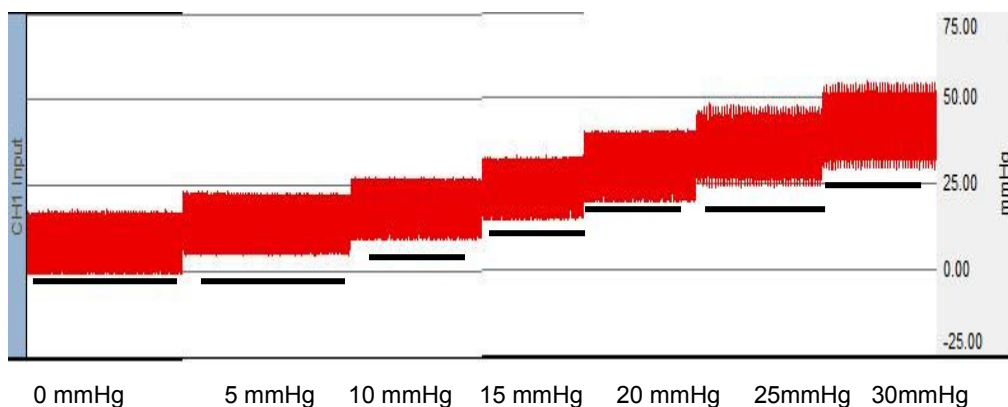
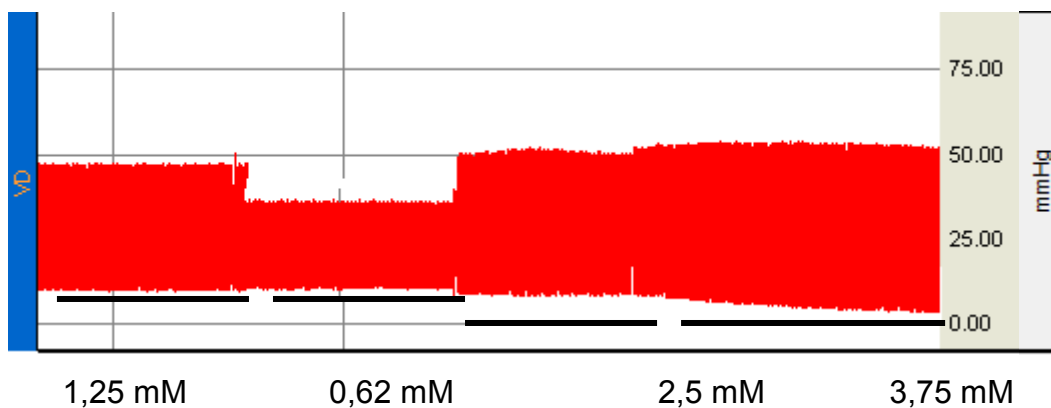


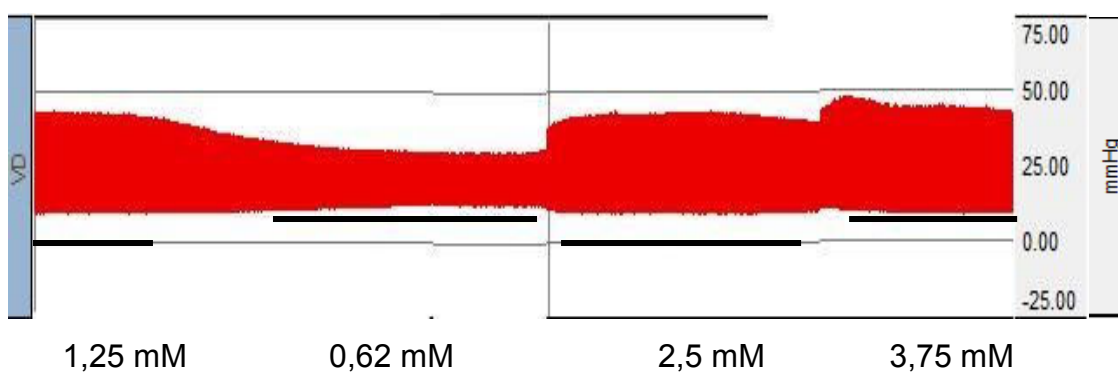
Figura 4. Registro original da preparação de coração isolado dos animais dos grupos SHAM; INF; IC no mecanismo de Frank-Starling. Para realizar o experimento, a preparação era mantida com solução a nutridora de Krebs com concentração de cálcio em 1,25 mM, temperatura de 33° C.

## Efeito Inotrópico Positivo ao $\text{Ca}^{2+}$

### SHAM



### INF



### IC

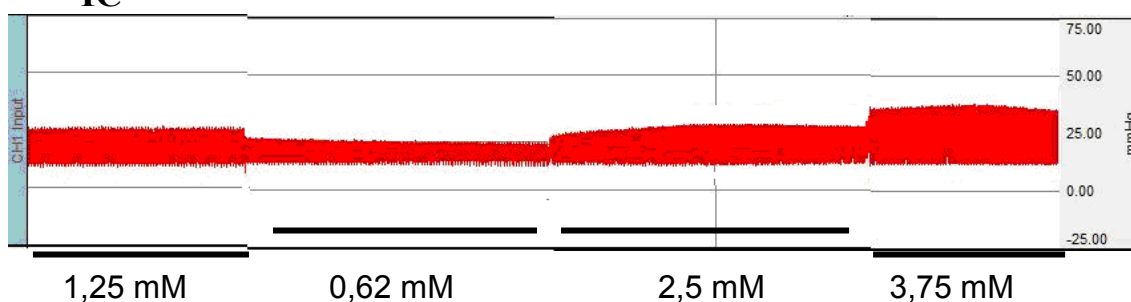
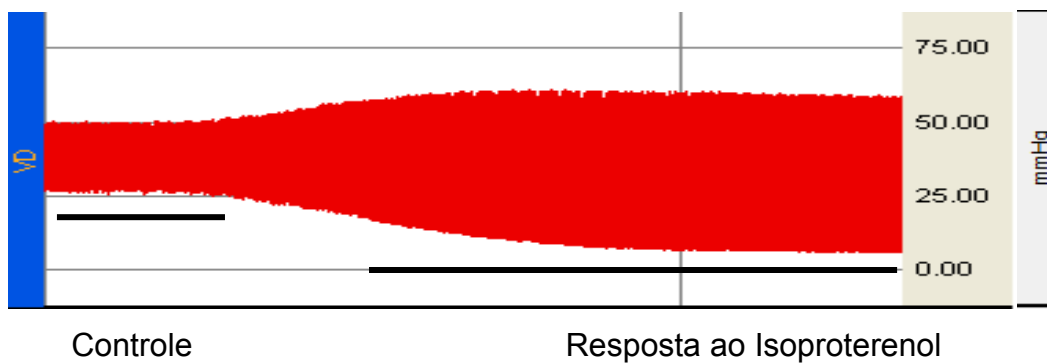


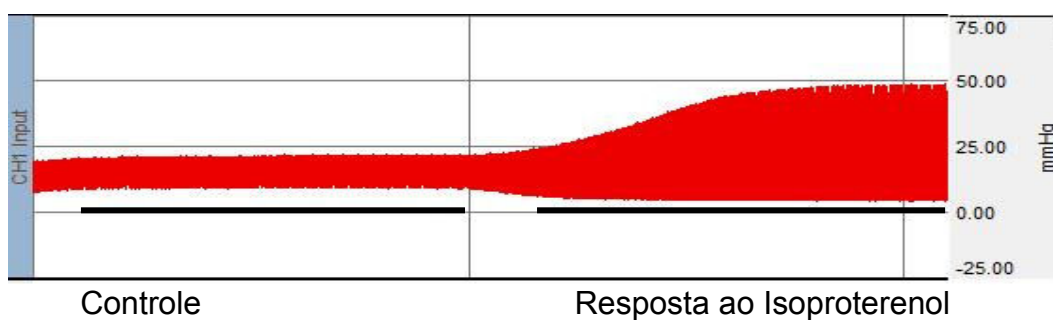
Figura 5. Registro original da preparação de coração isolado dos animais dos grupos SHAM; INF; IC na curva das concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. Para realizar o experimento a preparação era mantida com solução a nutridora de Krebs com diferentes concentrações que de  $\text{Ca}^{2+}$  (0,62 até 3,75mM) e de temperatura de 33° C.

## Dose Única de Isoproterenol

### SHAM



### INF



### IC



Figura 6. Registro original da preparação de coração isolado dos animais dos grupos SHAM; INF; IC na dose única de Isoproterenol. Para realizar o experimento a preparação era mantida com solução a nutridora de Krebs com concentração de cálcio em 0,62Mm, temperatura de 33° C.

#### 4.1.2. - AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HOMEOMÉTRICA ATRAVÉS DA VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO EXTRACELULAR DE CÁLCIO:

É bem sabido que o  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular é um dos grandes reguladores da contratilidade do cardiomiócito. Para avaliar então a capacidade de resposta ao cálcio foi realizada variação na concentração de cálcio extracelular para avaliar a contratilidade cardíaca. A pressão diastólica foi mantida em uma pressão de 5 mmHg e a solução nutritora de Krebs teve alterações crescentes da concentração de cálcio que variaram de 0,62 mM, 1,25 mM, 2,5 mM e 3,75 mM, sempre mantendo entre cada alteração da concentração de cálcio um tempo estabilização de 10 minutos.

#### 4.1.3. - AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HOMEOMÉTRICA ATRAVÉS DE UMA DOSE *IN BOLUS* DE ISOPROTERENOL:

É bem conhecido que o isoproterenol tem um efeito cardíaco por estimulação  $\beta$ -adrenérgica via receptor  $\beta_1$ , realizando na sua maioria um efeito inotrópico positivo e um efeito lusitrópico positivo. Através desse conhecimento foi avaliada então a resposta contrátil cardíaca com uma dose única de isoproterenol em um volume de 100  $\mu\text{l}$  *in bolus* de uma solução de  $10^{-5}$  M de isoproterenol. Para a realização dessa manobra foi mantida a pressão diastólica em 5 mmHg e na concentração de cálcio em 0,62 mM a qual possibilita uma melhor resposta inotrópica ao isoproterenol (Vassallo et al., 1994).

#### 4.1.4. - AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HOMEOMÉTRICA: RESPOSTA A ANGIOTENSINA I E A ANGIOTENSINA II.

Para analisar a atividade funcional da ECA e o efeito inotrópico da ANG II foram realizadas duas manobras na preparação, respectivamente. A primeira manobra tinha como objetivo analisar a formação da forma biologicamente ativa da ANG II a partir da clivagem da ANG I via enzima conversora de



angiotensina (ECA) local, sobre a pressão sistólica e a pressão de perfusão coronariana. Para isso, foi administrada dose única de ANG I em um volume de 100  $\mu\text{L}$  *in bolus* de uma solução de angiotensina I 20 nM.

Após a resposta da ANG I, era esperado um período de estabilização de 30 minutos e então era administrada a forma ativa da angiotensina, a ANG II. Para isso, foi utilizada uma dose única de ANG II *in bolus* em um volume de 100  $\mu\text{L}$  *in bolus* de uma solução de ANG II 20 nM. Durante a realização dos protocolos experimentais a preparação era mantida em uma solução nutritora de Krebs com uma concentração de cálcio de 1,25 mM, com a pressão diastólica a 5 mmHg e temperatura de 33° C.

#### 5. – AVALIAÇÃO DOS DADOS PONDERAIS:

Após análise de todos os dados o coração era pesado ainda úmido. Primeiramente pesava-se o pulmão retirado no início do experimento. Logo após os VE e VD eram pesados separadamente. No caso dos corações infartados o VE era pesado apenas o miocárdio remanescente. Por último os pesos dos órgãos eram relacionados ao peso corporal dos animais e avaliados as razões PVE/PC, PVD/PC e PP/PC.

## 6. – FÁRMACOS E REAGENTES:

Angiotensina I (Sigma)

Angiotensina II (Sigma)

Bicarbonato de Sódio (Merck)

Cloreto de Cálcio Dihidratado (Merck)

Cloreto de Magnésio Hexahidratado (Merck)

Cloreto de Potássio (Merck)

Cloreto de Sódio (Merck)

Fosfato de sódio Difásico (Merck)

Fosfato de sódio Monobásico (Merck)

Glicose (Reagen)

Heparina Sódica (Roche)

L- Isoproterenol (Sigma)

Sulfato de Sódio (Merck)

Uretana (Sigma)

Quetamina (Konig)

Xilazina (Bayer)

## 7. – ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Foi usado ANOVA uma e duas vias e o teste  $t$  intergrupos para comparar as médias dos grupos. Para o post hoc em ANOVA uma e duas vias eram utilizados o método de Fisher LSD e Bonferroni. Os valores foram considerados significantes quando o  $P < 0,05$ . Os programas para a análise dos dados foram os GraphPad Prims 5 e GB- STATv6.5.

## RESULTADOS

### 1. - AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA E PONDERAL:

Nas tabelas 1 e 2 são mostrados os dados hemodinâmicos e ponderais respectivamente, obtidos nos animais anestesiados após 1 semana do infarto agudo do miocárdio. Através dos dados obtidos, observa-se uma separação em três grupos experimentais: um grupo SHAM, um grupo INF sem sinais de IC e um grupo infartado com sinais de (IC). Os animais que sofreram infarto foram divididos em dois grupos em função das diferenças apresentadas em relação aos valores pressóricos e ponderais, indicados na tabela, sem, no entanto, apresentarem diferença na área de cicatriz do infarto (INF=  $31,6 \pm 1,6$  vs IC=  $30,8 \pm 0,8$  % da área total do ventrículo esquerdo).

Não houve mudança nas pressões arterial sistólica e diastólica nem na frequência cardíaca dos grupos experimentais. As pressões dos ventrículos direito e esquerdo foram diferentes entre os grupos SHAM, IC e (Figura 5). A pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE) dos ratos INF, com e sem IC, tiveram diferença significativa em relação ao grupo SHAM (SHAM=  $104 \pm 1,58$ ; INF=  $92 \pm 1,17^*$ ; IC=  $95 \pm 2,9^*$  mmHg,  $P < 0,05$ ). Essa diferença correspondeu a uma diminuição de aproximadamente 9 % para o grupo infarto em relação ao SHAM e, de aproximadamente 12 % no grupo IC em relação ao SHAM.

Em relação à pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) houve diferença entre os grupos SHAM e IC (SHAM =  $3,35 \pm 0,9$  vs IC=  $18 \pm 1,5^*$  mmHg,  $P < 0,05$ ) e entre o grupo INF e IC (INF =  $3,6 \pm 0,9$  vs IC =  $18 \pm 1,5^*$  mmHg,  $P < 0,05$ ). Essas diferenças corresponderam a um aumento de aproximadamente 400 %.

Os valores da primeira derivada temporal negativa de pressão em relação ao tempo obtidas no VE,  $dP/dt-$ , estão demonstrados na figura 5. Houve uma queda de 33 % da  $dP/dt-$  no grupo INF comparado ao grupo SHAM (SHAM =  $5563 \pm 353$  INF=  $4330 \pm 316^*$  mmHg/s,  $P < 0,05$ ). Não houve diferença para a  $dP/dt+$  entre os grupos. Na Tabela 1, as pressões intraventriculares do ventrículo direito apresentaram-se elevadas somente no grupo insuficiente. As pressões sistólica e diastólica do ventrículo direito do grupo IC foram diferentes

dos grupos SHAM e infarto (PSVD: SHAM =  $29 \pm 2,2$ ; INF =  $28 \pm 2,2$ ; IC =  $40 \pm 2,3^{##}$  mmHg; e PDfVD: SHAM =  $1,13 \pm 0,2$ ; INF =  $1,33 \pm 0,3$ ; IC =  $2,2 \pm 1,2^{##}$  mmHg,  $^{##}P < 0,05$ ). Essa diferença correspondeu a um aumento aproximadamente 37% para a pressão sistólica e de aproximadamente 136 % para a pressão diastólica final do ventrículo direito. Quando comparados os valores da primeira derivada negativa do ventrículo direito (dP/dt- VD) não houve nenhuma diferença. Entretanto, a dP/dt+ do ventrículo direito do grupo IC mostrou diferença em relação ao SHAM (SHAM =  $971 \pm 191$ ; IC =  $1915 \pm 210^*$  mmHg/s,  $P < 0,05$ ), correspondendo a um aumento de 97%.

Tabela 1: Valores hemodinâmicos dos grupos experimentais:

	SHAM(n=10)	Infarto(n=10)	Insuficiente(n=06)
PAS (mmHg)	$95 \pm 4$	$82 \pm 4$	$95 \pm 1,7$
PAD (mmHg)	$65 \pm 4$	$58 \pm 4$	$73 \pm 2$
FC (bpm)	$353 \pm 16$	$364 \pm 15$	$346 \pm 25$
PSVE (mmHg)	$104 \pm 1,5$	$92 \pm 1,1^*$	$96 \pm 3^*$
PDfVE (mmHg)	$3,3 \pm 0,6$	$3,6 \pm 0,9$	$18 \pm 1,5^{##}$
dP/dt+ VE (mmHg/s)	$5047 \pm 331$	$3980 \pm 524$	$4440 \pm 253$
dP/dt- VE (mmHg/s)	$5563 \pm 353$	$4330 \pm 316^*$	$4653 \pm 224$
PSVD (mmHg)	$29 \pm 2,2$	$28 \pm 2,2$	$40 \pm 2,3^{##}$
PDfVD (mmHg)	$1,13 \pm 0,2$	$1,33 \pm 0,3$	$2,2 \pm 1,2^{##}$
dP/dt+ VD (mmHg/s)	$971 \pm 191$	$1228 \pm 239$	$1915 \pm 210^*$
dP/dt- VD (mmHg/s)	$1307 \pm 161$	$1263 \pm 114$	$1420 \pm 106$

Pressão arterial tanto sistólica (PAS); Pressão arterial diastólica (PAD); Pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE); Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDfVE); Primeira derivada temporal positiva do ventrículo esquerdo (dP/dt + VE); Primeira derivada temporal negativa do ventrículo esquerdo (dP/dt - VE); Pressão sistólica do ventrículo direito (PSVD); Pressão diastólica final do ventrículo direito (PDfVD); Primeira derivada temporal positiva do ventrículo direito (dP/dt + VD); Primeira derivada temporal negativa do ventrículo direito (dP/dt - VD). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 1 via, post hoc de Fisher LSD, para todas as análises. \*  $p < 0,05$  vs SHAM; #  $p < 0,05$  vs INF.

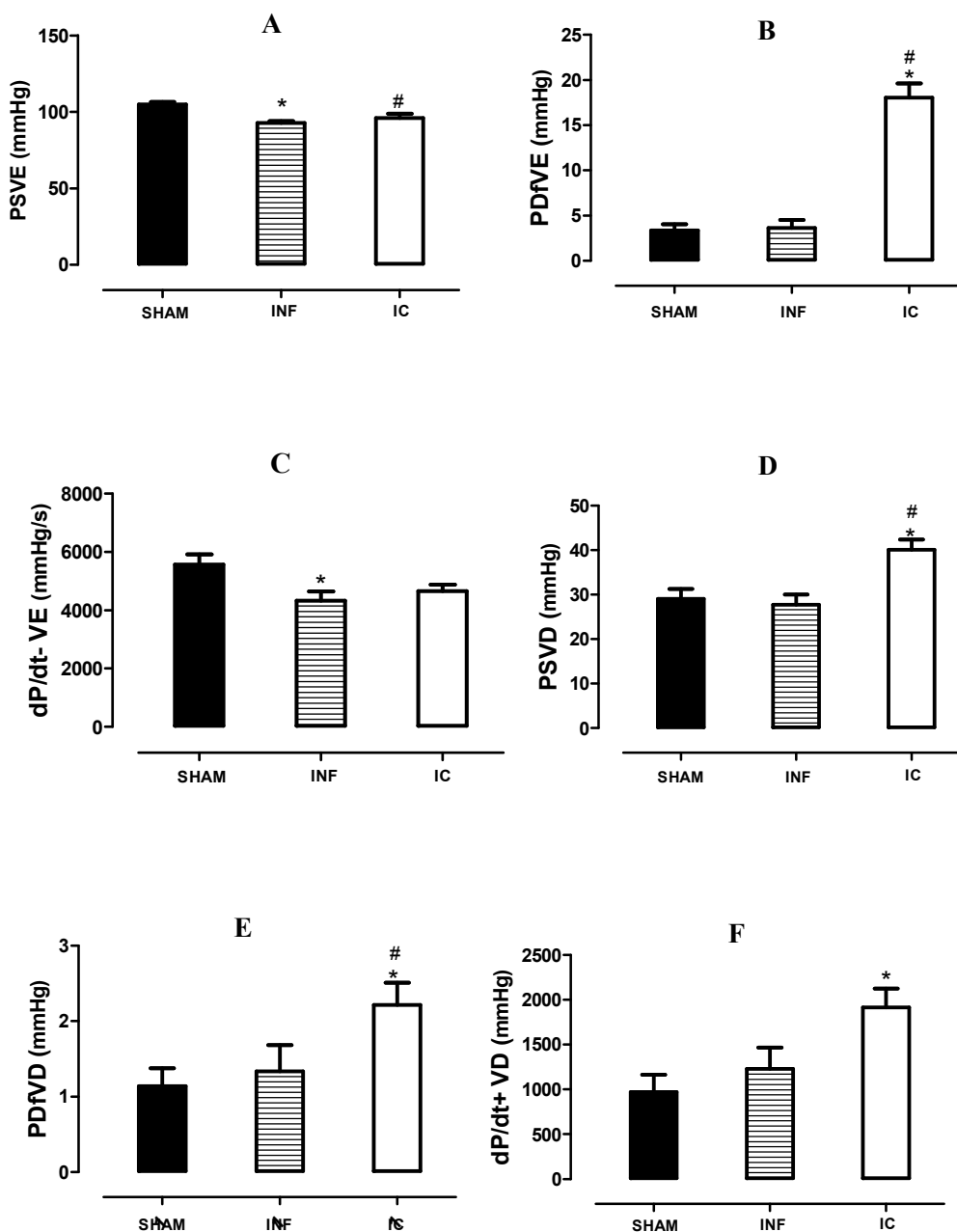


Figura 7: Dados hemodinâmicos do grupo SHAM (n=10); INF (n=10) e IC (n=06). G: Pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE); Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDfVE); Primeira derivada temporal mínima do ventrículo esquerdo (dP/dt- VE); Pressão sistólica do ventrículo direito (PSVD); Pressão diastólica final do ventrículo direito (PDfVD); Primeira derivada temporal máxima do ventrículo direito (dP/dt+ VD). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 1 via, post hoc de Fisher LSD, para todas as análises. \* p < 0,05 vs SHAM; # p < 0,05 vs INF.

Na tabela 2 estão indicados os dados ponderais. O peso corporal dos grupos SHAM e infarto não foram diferentes entre si, mas quando estes eram comparados ao grupo insuficiente, foi visto uma redução (SHAM =  $273 \pm 4,9$  INF =  $261 \pm 8,4$ ; IC =  $226 \pm 11^{**}$  g  $P < 0,05$ ), correspondendo a uma diminuição de aproximadamente 14% entre os grupos. Os pesos do ventrículo direito e do ventrículo esquerdo não foram diferentes entre os grupos. Entretanto, quando realizada a correção do peso dos ventrículos com o peso corporal, houve diferença significativa tanto do grupo IC em relação ao SHAM e ao grupo INF (VE/PC: SHAM =  $2,6 \pm 0,07$ ; INF =  $2,6 \pm 0,9$ ; IC =  $3,2 \pm 0,19^{**}$  g/g; VD/PC: SHAM =  $0,77 \pm 0,05$  INF =  $0,86 \pm 0,05$ ; IC =  $1,2 \pm 0,1^{**}$  g/g) correspondendo a um aumento de 23 % na razão VE/PC. Na razão VD/PC este aumento foi de 36 % quando se comparou a razão entre os grupos INF vs IC e, de 55% quando se comparou esta razão entre os grupos SHAM vs IC.

Na avaliação do peso pulmonar, tanto os valores absolutos quanto os normalizados pelo peso corporal (peso do pulmão/peso corporal: PP/PC) apresentaram diferença, mostrando alterações entre SHAM e IC, assim como entre INF vs IC (PP: SHAM =  $1,6 \pm 1$ ; INF =  $1,8 \pm 1,9$ ; IC =  $3 \pm 1,6^{**}$  g/g; PP/PC: SHAM =  $5,5 \pm 0,3$ ; INF =  $6,9 \pm 0,8$ ; IC =  $13 \pm 0,8^{**}$  g/g). Essas diferenças corresponderam a um aumento de aproximadamente 87 % para o PP e, de aproximadamente 136% para a razão PP/PC.

Tabela 2: Valores ponderais dos grupos experimentais:

	<i>SHAM</i> (n=10)	<i>Infarto</i> (n=10)	<i>Insuficiente</i> (n=06)
<i>PC</i> (g)	273 ± 5	261 ± 8	226 ± 11*#
<i>PVE</i> (mg)	737 ± 21	695 ± 38	724 ± 28
<i>PVD</i> (mg)	211 ± 16	225 ± 11	264 ± 18
<i>PP</i> (mg)	1,6 ± 1	1,8 ± 1,9	3 ± 1,6*#
<i>PVE/PC</i> (g/g)	2,6 ± 0,07	2,6 ± 0,9	3,2 ± 0,1*#
<i>PVD/PC</i> (g/g)	0,77 ± 0,05	0,8 ± 0,05	1,2 ± 0,10*#
<i>PP/PC</i> (g/g)	5,5 ± 0,35	6,9 ± 0,83	13 ± 0,83*#
<i>AI</i> (%)		31,6 ± 1,6	30,8 ± 0,8

Peso corporal (PC); Peso do ventrículo esquerdo (PVE); Peso do ventrículo direito (PVD); Peso do pulmão (PP); Razão peso do ventrículo esquerdo com o peso corporal (PVE/PC); Razão peso do ventrículo direito com o peso corpo (PC); Área de infarto (AI). Dados expressos como Média ± EPM. ANOVA 1 via, post hoc de Fisher LSD, para as análises exceto área de infarto que foi utilizado test t Student não pareado. \* p < 0,05 vs SHAM; # p < 0,05 vs INF.



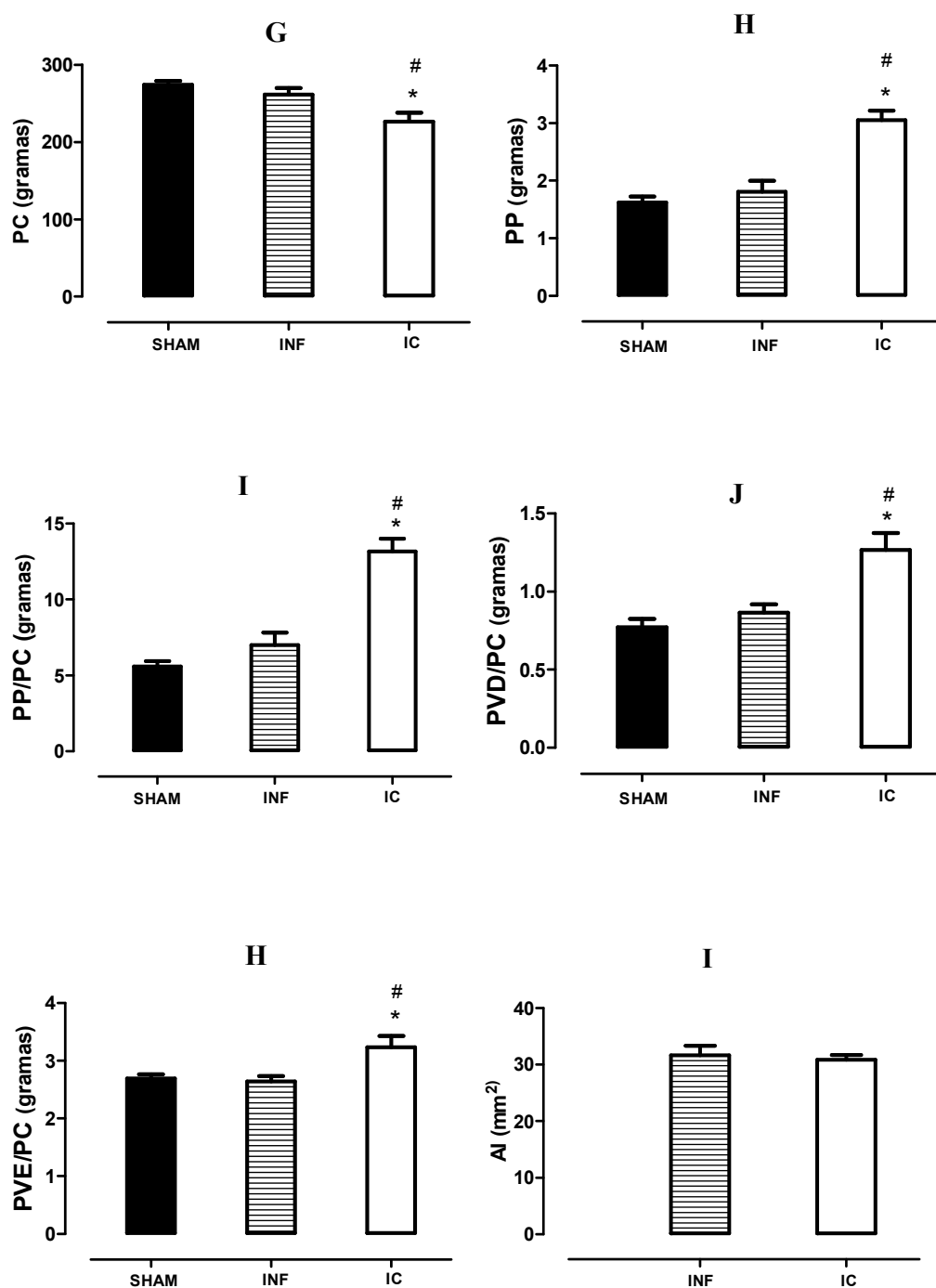


Figura 8: Dados Ponderais do grupo SHAM (n=10); INF (n=10) e IC (n=06). A: Peso corporal (PC); B: Peso do pulmão (PP); Razão peso do pulmão com o peso corporal (PP/PC); Razão peso do ventrículo direito com o peso corporal (PVD/PC); Razão peso do ventrículo esquerdo com o peso corporal (PVE/PC); Área de infarto (AI). Dados expressos como Média  $\pm$  EPM. ANOVA 1 via, post hoc de Fisher LSD para as análises exceto área de infarto que foi utilizado test t Student não pareado. \* p < 0,05 vs SHAM; # p < 0,05 vs INF.

## 2. - AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO CONTRATIL ATRAVÉS DO LANGENDORFF:

O estudo da contratilidade miocárdica foi realizado através da técnica de coração isolado de Langendorff. Foram feitas medidas da resposta inotrópica com as seguintes manobras:

-Intervenção heterométrica: curva estiramento-tensão para avaliar o mecanismo de Frank-Starling;

-Intervenção homeométrica: curva concentração-resposta ao  $Ca^{2+}$  extracelular; dose única de: isoproterenol, angiotensina I e angiotensina II.

### 2.1 - PRESSÃO SISTÓLICA BASAL DO VENTRÍCULO DIREITO NA PREPARAÇÃO DE LANGENDORFF:

Após o coração ter sido conectado ao sistema de Langendorff, o balão de látex foi introduzido no VD para início dos registros de pressão diastólica e sistólica isovolumétricas do ventrículo direito (PDVD e PSVD, respectivamente). Após a estabilização funcional de 15 min, a PDVD foi mantida em 5 mmHg para avaliação da PSVD basal nos grupos SHAM, INF e IC. Os resultados demonstram diferença entre os grupos (SHAM =  $30 \pm 2,5$ ; INF =  $32 \pm 1,8$ ; IC =  $24 \pm 1,8^{* \#}$  mmHg). A queda de PSVD no grupo IC foi de aproximadamente 25 % (Figura 9, *in vitro*).

### 2.2.- INTERVENÇÃO HETEROMÉTRICA ATRAVÉS DA CURVA DE FRANK-STARLING

Os valores gerados pela curva estiramento-tensão são mostrados na figura 10. O incremento da pressão diastólica promoveu um efeito inotrópico positivo, sendo este maior no grupo SHAM, do que no grupo INF, o qual, por sua vez, foi maior que o grupo IC. Deve-se salientar entretanto, que os valores pressóricos dos grupos INF e IC já se apresentavam menores do que os do

grupo SHAM mesmo nas pressões basais. Assim, considerando o fato de que os aumentos de PDVD provocaram elevações percentuais da PSVD maiores nos grupos IC e INF não nos parece que houve prejuízo efetivo da capacidade de resposta ao estiramento nestes animais, e sim uma preservação do mecanismo de Frank Starling às expensas da queda do inotropismo ao  $\text{Ca}^{2+}$  e ao isoproterenol.

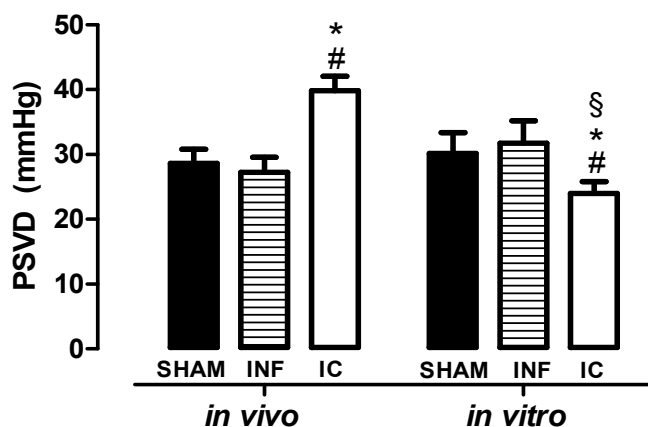


Figura 9: Pressão sistólica basal do ventrículo direito (PSVD) medida em animais anestesiados (*in vivo*), e na preparação de Langendorff (*in vitro*) usando pressão diastólica constante de 5 mmHg nos grupos SHAM (n=10); INF (n=10) e IC (n=06). Os dados estão expressos como média  $\pm$  EPM. ANOVA 1 via com o post hoc de Fisher LSD, \*  $p < 0,05$  vs SHAM; #  $p < 0,05$  vs INF, §  $p < 0,05$  vs IC.

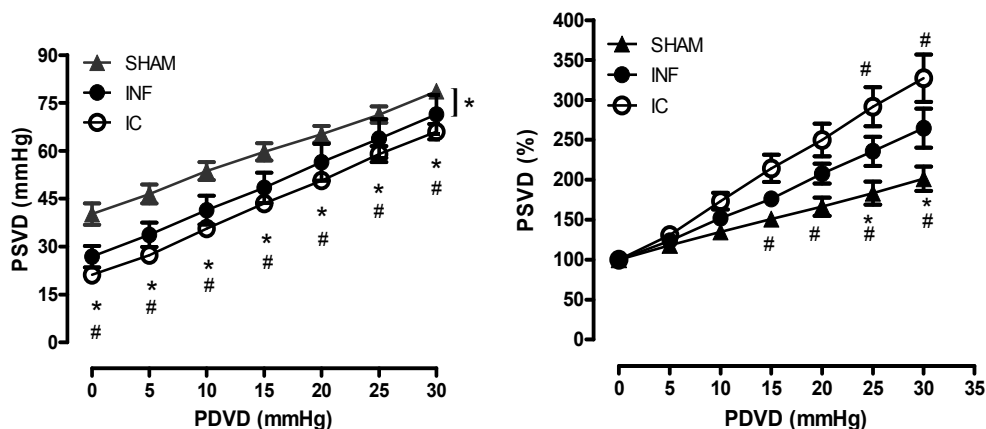


Figura 10: Pressão sistólica do ventrículo direito (PSVD) em valores absolutos e percentuais após incrementos da pressão diastólica (PDVD) nos grupos SHAM (n=10); INF (n=10) e IC (n=06). Os valores foram obtidos através da variação da pressão diastólica dos ventrículos direitos a qual a pressão diastólica variava de 0 até 30 mmHg, e esses aumentos eram feitos com incrementos de 5 mmHg. Para realizar o experimento a preparação era mantida com solução a nutridora de Krebs com concentração de cálcio em 1,25Mm, temperatura de 33° C. Os dados eram expressos em Média ± EPM. ANOVA 2 vias com post hoc de Fisher LSD, \* p < 0,05 vs SHAM; # p < 0,05 vs INF.

### 2.3.- INTERVENÇÃO HOMEOMÉTRICA: RESPOSTA INOTRÓPIA AO CÁLCIO:

A figura 11 refere-se à resposta inotrópica em função do aumento crescente das concentrações de  $Ca^{2+}$  extracelular (0,62 mM, 1,25 mM, 2,5 mM e 3,75 mM) na preparação de Langendorff. Como era de se esperar o incremento da concentração de  $Ca^{2+}$  aumentou a PSVD em todos os grupos. Nas concentrações maiores do que 1,25 mM, o efeito inotrópico ao  $Ca^{2+}$  foi menor no grupo IC quando comparado a resposta dos grupos SHAM e INF. Não houve diferença entre os grupos SHAM e INF.

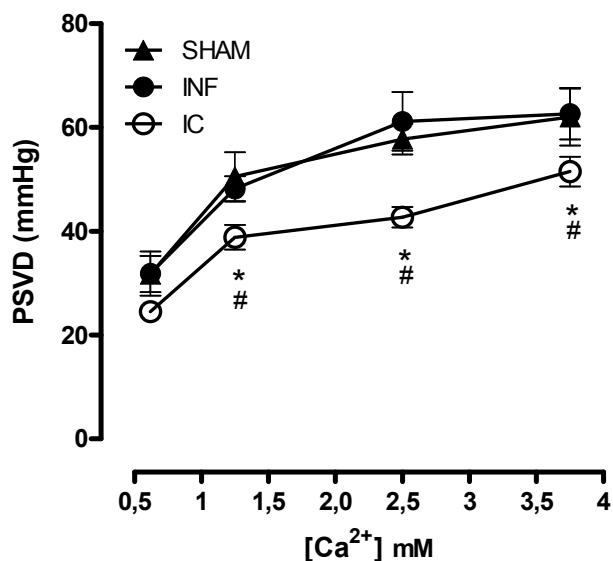


Figura 11: Valores absolutos da pressão sistólica do ventrículo direito (PSVD) em relação aos valores crescentes da concentração de cálcio, que variam de 0,62 até 3,75 mM dos grupos SHAM (n=10), INF (n=10), IC (n=06). Os dados estão expressos como Média  $\pm$  EPM. ANOVA 2 vias com post hoc de Fisher LSD, \* p < 0,05 vs SHAM; # p < 0,05 vs INF.

A figura 12 mostra os valores referentes aos dados de contratilidade do ventrículo direito em relação ao aumento das concentrações extracelulares de cálcio através da  $dP/dt+$ . Os animais do grupo IC mostraram uma diminuição na resposta contrátil em relação aos grupos SHAM e ao INF a partir da concentração de 1,25 mM. Os animais SHAM e INF não apresentaram diferença na resposta contrátil entre si.

A figura 13 mostra a primeira derivada temporal negativa do ventrículo direito ( $dP/dt-$  VD) em relação aos valores crescentes de cálcio extracelular. Os animais do grupo IC apresentaram menores valores de  $dP/dt-$  nas maiores concentrações de cálcio, quando comparado ao grupo SHAM e INF. Essa diferença começou a ser observada na concentração de 1,25 mM de cálcio, fato semelhante ao ocorrido na  $dP/dt+$  VD.

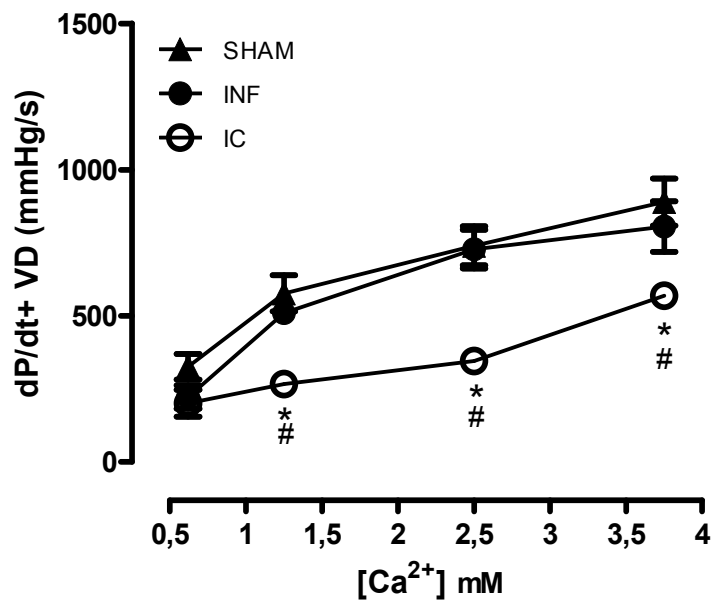


Figura 12: Primeira derivada temporal positiva do ventrículo direito (dP/dt+ VD) em relação aos valores crescentes da concentração de cálcio, que variam de 0,62 até 3,75 mM dos grupos SHAM (n=10), INF (n=10), IC (n=06). Os dados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 2 vias com post hoc de Fisher LSD, \* p < 0,05 vs SHAM; # p < 0,05 vs INF.

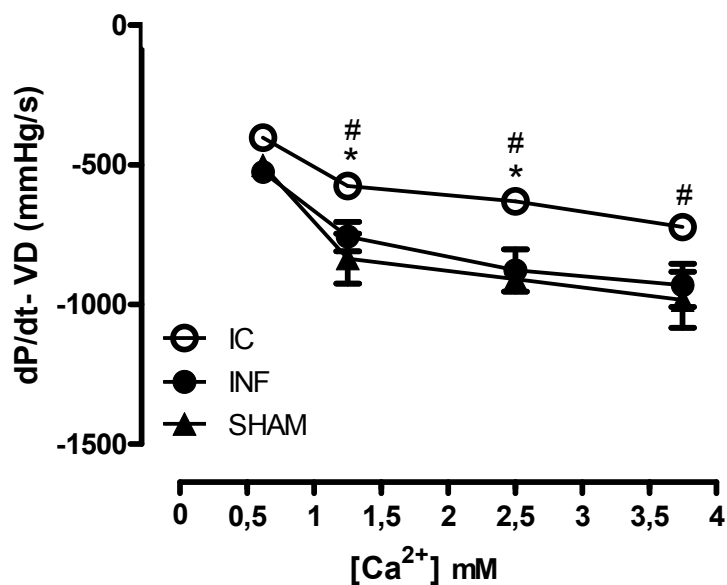


Figura 13: Primeira derivada temporal negativa do ventrículo direito (dP/dt- VD) em relação aos valores crescentes da concentração de cálcio, que variam de 0,62 até 3,75 mM dos grupos SHAM (n=10), INF (n=10), IC (n=06). Os dados eram expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 2 vias com post hoc de com post hoc de Fisher LSD, \*  $p < 0,05$  vs SHAM; #  $p < 0,05$  vs INF

#### 2.4.- INTERVENÇÃO HOMEOMÉTRICA ATRAVÉS DA DOSE *IN BOLUS* DE ISOPROTERENOL:

Na figura 14 estão demonstrados os valores referentes ao aumento da pressão sistólica no VD em função de dose única de isoproterenol  $10^{-5}$  M, nos grupos SHAM, INF e IC. Todos os grupos apresentaram efeito inotrópico positivo. Entretanto, nos animais do grupo IC houve uma diminuição na resposta  $\beta$ -adrenérgica em relação aos outros grupos.

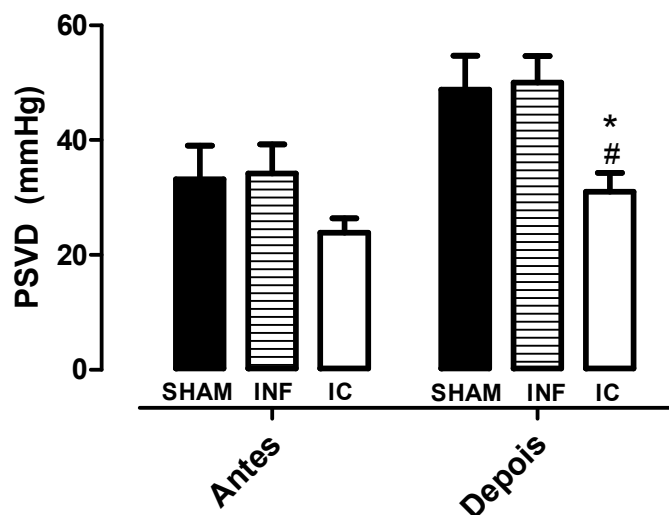


Figura 14: Pressão sistólica do ventrículo direito (PSVD), após dose-única de isoproterenol  $10^{-5}$  M, dos grupos SHAM (n=10), INF (n=10) e IC (n=06). Os dados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 2 vias com post hoc de Bonferroni, \*  $p < 0,05$  vs SHAM; #  $p < 0,05$  vs INF.

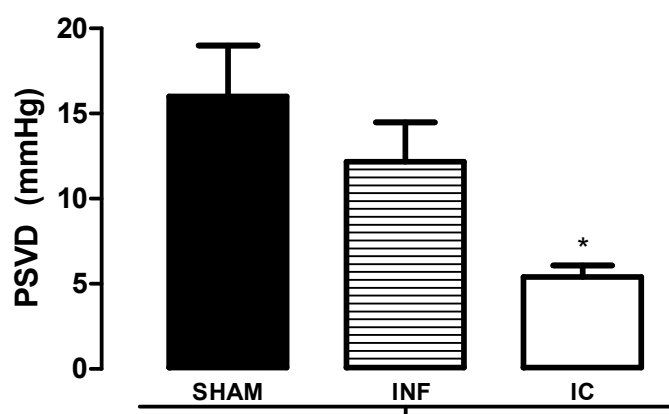


Figura 15: Variação da pressão sistólica do ventrículo direito (PSVD), após dose-única de isoproterenol  $10^{-5}$  M, dos grupos SHAM, Infarto (INF) e Insuficiente (IC). Os dados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 2 vias com post hoc de Bonferroni, \*  $p < 0,05$  vs SHAM; #  $p < 0,05$  vs INF.



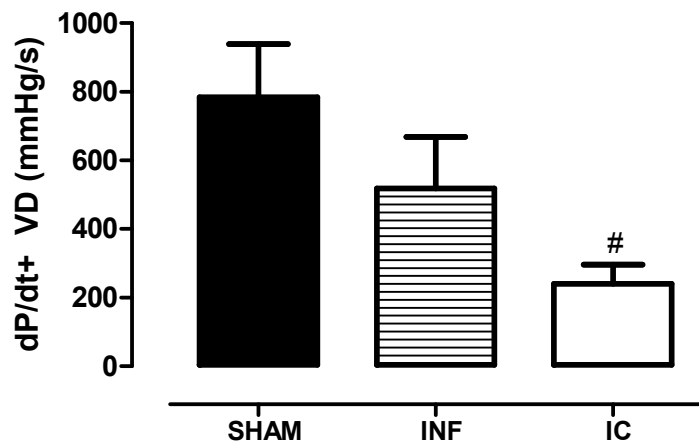


Figura 16: Primeira derivada temporal positiva do ventrículo direito (dP/dt+ VD) após dose-única do isoproterenol  $10^{-5}$  M, nos grupos SHAM (n=10), INF (n=10), IC (n=06). Os dados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 1 via com post hoc de Fisher LSD, \* p < 0,05 vs SHAM; # p < 0,05 vs INF

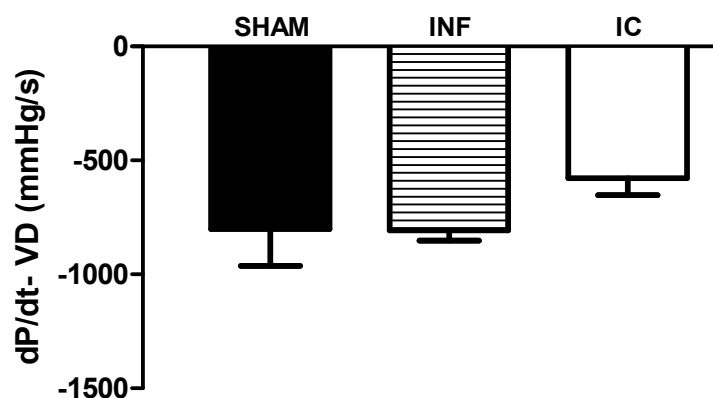


Figura 17: Primeira derivada temporal negativa do ventrículo (dP/dt- VD) após, dose-única de isoproterenol, dos grupos SHAM (n=10), INF (n=10), IC (n=06). Os dados estão expressos como Média  $\pm$  EPM. ANOVA 1 via.

## 2.5. - INTERVENÇÃO HOMEOMÉTRICA: RESPOSTA INOTRÓPICA A ANGIOTENSINA I E II:

A resposta inotrópica a ANG foi avaliada em duas etapas. A primeira etapa era dada uma dose de ANG I com o intuito de avaliar a atividade funcional da enzima conversora de angiotensina (ECA) na formação da ANG II. Na figura 18 demonstra que a dose única de ANG I (20 nM) não promoveu efeito inotrópico em nenhum dos grupos estudados. Um padrão semelhante ocorreu com o uso de ANG II (figura 19). Não houve qualquer alteração da resposta inotrópica nos grupos.

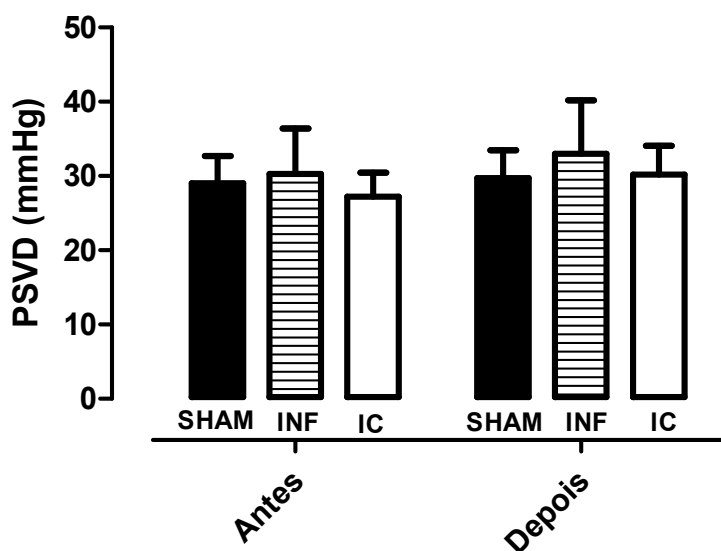


Figura 18: Pressão sistólica do ventrículo direito (PSVD), após dose-única de angiotensina I, dos grupos SHAM (n=10), INF (n=10), IC (n=06). Os dados eram expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 2 vias com post hoc de Fisher LSD, \*  $p < 0,05$  vs SHAM; #  $p < 0,05$  vs INF.

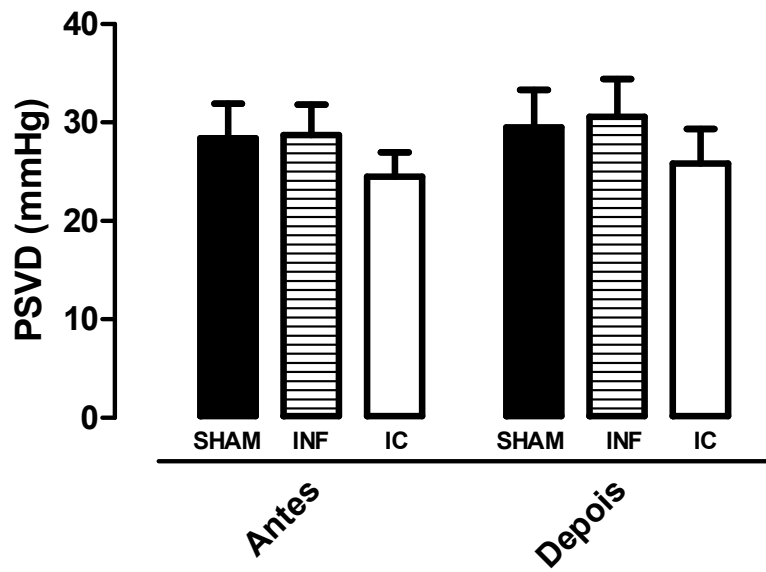


Figura 19: Pressão sistólica do ventrículo direito (PSVD), após dose-única de angiotensina II, dos grupos SHAM (n=10), INF (n=10), IC (n=06). Os dados eram expressos em Média  $\pm$  EPM. ANOVA 2 vias com post hoc de Fisher LSD, \*  $p < 0,05$  vs SHAM; #  $p < 0,05$  vs INF.

## DISSCUSSÃO

O principal achado deste estudo foi mostrar que, já numa fase tão precoce quanto 7 dias após INF, a função de bomba do VD, “in vivo”, estava preservada no grupo INF e exacerbada no grupo IC. Por outro lado, a análise do VD, na preparação de coração isolado, confirmou a manutenção da contratilidade do grupo INF, e evidenciou um prejuízo no grupo IC. No grupo IC as respostas inotrópicas ao  $Ca^{2+}$  e  $\beta$ -adrenérgica estavam prejudicadas sem modificação na resposta inotrópica a ANG II.

O estudo de Moura (2007), em ratos 8 semanas após INF, demonstrou que a PSVD, no grupo IC, era maior *in vivo* do que *in vitro*. No VD do grupo IC as respostas inotrópicas ao  $Ca^{2+}$  e ao isoproterenol, avaliadas na preparação de Langendorff, estavam prejudicadas quando comparadas com as dos grupos SHAM e INF. O presente estudo, analisado na fase inicial após INF, corroborou os dados dos estudos crônicos descritos por Moura (2007). Em relação à ANG I e ANG II, não houve efeito inotrópico em nenhum dos grupos. Este resultado sugere que este hormônio não contribua significativamente para a regulação da resposta inotrópica em ratos que sofreram IAM, com ou sem IC, mesmo apresentando ativação do SRA cardíaco (Paul, Mehr, Kreutz, 2006).

O peso do pulmão dos ratos do grupo IC quase dobrou quando comparado aos ratos INF e SHAM, devido ao remodelamento pulmonar causado pelo IC logo no início do desenvolvimento da doença. Jasmin et al (2003) mostraram que os pulmões dos ratos com IC, apresentavam o dobro do tamanho dos animais controle. Os autores relataram que a causa do remodelamento estrutural seria principalmente consequência do aumento da deposição de colágeno e de proliferação celular mais do que por edema na região pulmonar.

O estudo demonstrou ainda que o SRA influencia diretamente a resposta por aumentar a disfunção ventricular esquerda, o tônus vascular pulmonar, frente à disfunção pressórica do VE e ser responsável pelo estímulo aos fibroblastos pulmonares em relação à deposição de colágeno. O estudo de Jasmin et al. foi realizado com animais insuficientes com 2 semanas do infarto agudo. No nosso trabalho, todas as alterações cardíacas e, principalmente do

remodelamento pulmonar, foram vistas 1 semana após o infarto, o que indica que todo o processo de remodelamento já acontece no início da doença.

Estudos demonstram que a IC gera aumento da pressão pulmonar devido ao aumento da PDfVE, e que o aumento da resistência pulmonar funcional com aumento de pós carga para o VD. Com isso, o VD necessita gerar mais pressão para manter o volume sistólico. Como consequência ocorre hipertrofia concêntrica do VD, sendo esse fator preponderante para um mau prognóstico da IC (Abramson et al., 1992; Butler et al., 1999; Cappola, 2002; Ghio et al. 2001).

Os artigos evidenciam que tanto o VD quanto o VE sofrem alterações de diâmetro e espessura após o infarto agudo do miocárdio com o intuito de diminuir o estresse sobre a parede miocárdica em consequência da diminuição de força gerada pela perda dos cardiomiócitos infartados (Grossman,1975).

Anversa et al. (1985) descreveram que 3 dias após o infarto agudo do miocárdio tanto o VE remanescente quanto o VD começam a sofrer remodelamento, principalmente a hipertrofia muscular. Além da hipertrofia é sabido que ocorre alargamento da cavidade ventricular para compensar o incremento do volume diastólico final. Essas adaptações são descritas na literatura como benéficas no início do infarto, principalmente para compensar a perda de força muscular, mas quando essa exposição se torna freqüente, leva ao desenvolvimento da insuficiência cardíaca levando a falência do órgão acometido e aumentando a morbidade e a mortalidade desses animais. (Gerdes,2002).

Muitos estudos mostram que essas alterações pressóricas intra - cardíacas culminam com o aumento da espessura da parede miocárdica e no alargamento da câmara cardíaca, e que essas alterações estão diretamente ligadas á atividade neuro-humoral, principalmente do SRA, da aldosterona, do sistema simpático e da endotelina. Todas elas têm o potencial de interferir na atividade genômica na produção da hipertrofia dos cardiomiócitos, da hipertrofia dos fibroblastos, da apoptose dos cardiomiócitos e do aumento da produção de colágeno no interstício do tecido cardíaco pelos fibroblastos (Francis et al., 1990; Leite-Moreira, 2003; Iwai, 1995; Struthers, 2004).

Park et al. (2001) descreveram que nos VD hipertrofiados de ratos 3 e 6 semanas após INF possuíam alterações na produção de RNAm de receptores

AT1, ECA, angiotensinogênio, endotelina -1 e expressão genética da eNOS e que essas alterações estavam relacionados ao processo hipertrófico da câmara.

Estudos do nosso laboratório mostraram que tanto o VD como o VE dos animais do grupo IC apresentaram alterações do peso quando relacionado ao peso corporal. Faria et al. (2007) demonstrou, em ratas, as mesmas alterações no remodelamento do VD dos grupos IC e INF com 7 dias de infarto.

Outros trabalhos no nosso laboratório têm mostrado diferença no remodelamento e na função hemodinâmica em ratos que possuem ou não insuficiência cardíaca 4 e 8 semanas após o infarto (Pereira et al,2005; Giubert et al, 2005; Fernandes, 2006; Dias, 2007; Cappato , 2007; Moura, 2007).

Pouco se sabe sobre a diferença no remodelamento entre ratos que desenvolveram IC para os que não desenvolveram. Como dito anteriormente é sabido que o sistema neuro-humoral está relacionado com o deterioramento das funções cardíacas após o INF e que é um dos principais responsáveis para o desenvolvimento da IC. Será que os ratos que não desenvolveram IC possuem uma menor exposição ao sistema neuro-humoral? Ou se o sistema neuro-humoral está atuando de forma diferenciada com os ratos que não possuem IC com os que ratos que possuem IC?

Sun & Weber (2000) descreveram que a cicatriz após o infarto do miocárdio tem sua formação total com 6 a 8 semanas após a isquemia, e que a sua formação é de suma importância para o não desenvolvimento da insuficiência cardíaca. Li et al. (2006) descrevem que a ANG II é responsável por promover uma piora na formação cicatricial após INF, e que essa alteração pode ser um dos motivos para o favorecimento de um aumento do estresse de parede e conseqüentemente o alargamento da câmara cardíaca e hipertrofia dos músculos remanescentes do VE. Os autores comentam que essa má formação cicatricial influencia diretamente a dinâmica de funcionamento cicatricial, e que provavelmente favoreça ao aumento do estresse promovido pela pré-juízo contrátil do VE.

Sendo isto, será que os ratos do grupo INF possuem uma diminuição das atividades deletérias causadas pela via do SRA enquanto os animais IC possuem uma ativação maior dessa via? E como a área de INF entre os dois

grupos eram as mesmas, a formação da própria cicatriz não seria um fator preponderante para a gênese da diferença entre animais INF com e sem IC?

O SRA e a aldosterona tem sido descrito como um dos responsáveis para a formação tanto de hipertrofia do cardiomiócito como do meio extracelular. Anavekar e Solomon (2005) descreveram que a ANG II realiza a vasoconstrição, estimula a liberação de aldosterona e aumenta a liberação de catecolaminas, que também são responsáveis pela hipertrofia e remodelamento após o infarto, através principalmente do receptor AT1. Interessantemente, em camundongos *Knockout* para o receptor AT1 possuem uma melhora no processo de remodelamento e aumento da sobrevivência após o IAM,

Sugden & Clark (1998) descreveram que a ANG II pode por si só estimular a hipertrofia do cardiomiócito através do receptor AT1. E que essa ligação no receptor AT1 estimularia a via da proteína G estimulatória, ativando a fosfolipase C e a proteína kinase C, e essas duas favorecerem a cascata de hipertrofia do cardiomiócito (Shi & Li, 2007).

Quang et al. (2003), relataram que o remodelamento e a hipertrofia do VD e do VE se desenvolvem igualmente após 4 dias de infarto e 2 semanas após o INF. Isso sugere que tanto o VD como o VE sofrem alterações no mesmo momento após o IAM do VE. Os autores descreveram ainda que o bloqueio do receptor AT1 através do fármaco lbesartan (bloqueador seletivo do receptor AT1) não diminuiu o remodelamento e as pressões sistólicas e diastólicas dos animais após 4 dias de infarto. Após 2 semanas apenas o remodelamento indicava sinais de melhora após o bloqueio do receptor AT1. Esse fato sugere que há a participação de outras vias não influenciadas pelo receptor AT1 e principalmente na influência da função contrátil e no remodelamento do VD

É sabido ainda que na fase aguda após INF, há aumento das vias pró-inflamatórias, visto através de algumas citocinas como a TNF- $\alpha$ , a mais estudada (Levine et al., 1990; Kubota et al., 2000). Alguns estudos têm relacionado o aumento da produção do TNF -  $\alpha$  com a piora de todas as funções cardíacas, sendo elas ligadas ao remodelamento e/ou ligadas à função hemodinâmica tanto do VE como a do VD (Janczewski et al., 2003; Odeh, Sabo & Oliven, 2006).

Moro et al. (2007) mostraram em seus estudos que a liberação de TNF -  $\alpha$  tem o seu maior pico no 2 dia após o infarto. No terceiro e dia em diante não há mais um aumento na produção da citocina, sendo vista um novo aumento no sétimo dia após o INF, data essa que tem início todo o processo nas alterações hemodinâmicas dos animais IC. Os autores descrevem que a liberação da citocina pode ser um fato marcante para o aparecimento e desenvolvimento da IC. Mais do que um efeito no remodelamento, o TNF -  $\alpha$  possui um efeito inotrópico negativo direto, através da ativação da enzima óxido nítrico sintase induzível, iNOS, e que esse possível efeito pode ser estimulado pela via da ANG II (Hosenpud et al., 1989; Mann, 2002; Yong et al., 1999).

A diferença na formação do processo inflamatório após o INF do miocárdio é um evento a qual pode ser diferente e ter repercussões nos animais infartados com IC em relação aos ratos INF sem IC. O remodelamento causado pelo rato INF sem IC pode ser demonstrada por todas as alterações nos dados ponderais e hemodinâmicos quando relacionados aos IC. Considerando então que o padrão do processo inflamatório é bastante influente na gênese de todas as alterações que cursam no desenvolvimento do IC, esse pode ser um fator marcante na separação da evolução desses animais.

Quando avaliamos esses corações na preparação de Langendorff, os dados referentes à função do VD mostravam diferença em relação à função sistólica. A pressão sistólica dos animais IC no experimento *in vivo* era maior do que nos animais INF. No experimento *in vitro* houve uma diminuição em sua função sistólica em relação aos animais INF.

Segundo Moura (2007), essa piora na função sistólica do VD é visualizado nos animais com 8 semanas após o IAM. Nos resultados do nosso trabalho, a alteração da resposta inotrópica do VD mostra que esta alteração, medida no sistema de Langendorff, acontece mesmo que todo o processo de remodelamento cardíaco não esteja completo. Assim, mesmo os corações de ratos analisados 7 dias após INF, a semelhança do que ocorreu nos grupos estudados mais tardiamente com 6 semanas, já apresentam disfunção contrátil. Reafirmando que a influência de um sistema de regulação da função sistólica do VD é determinante para o desenvolvimento da IC.



Quando testada a resposta estiramento – tensão do VD foi visto que a resposta inotrópica ao aumento da pressão diastólica estava aumentada no grupo IC em comparação aos grupos INF e SHAM. O grupo INF também apresentou um melhor desempenho ventricular em relação ao grupo SHAM.

É sabido que o mecanismo de Frank – Starling tem explicação no aumento da sensibilidade ao  $Ca^{2+}$  causado pela aproximação dos miofilamentos e aumentando a atividade desses miofilamentos na contratilidade (Fukuda & Granzier, 2005). Assim, neste estudo foi possível demonstrar que os aumentos de PDVD provocaram elevações percentuais da PSVD maiores nos grupos IC e INF. Por esta razão não nos parece que houve prejuízo efetivo da capacidade de resposta ao estiramento nestes animais, e sim uma preservação do mecanismo de Frank Starling as expensas da queda do inotropismo ao  $Ca^{2+}$  e ao isoproterenol. O trabalho de Moura (2007), realizado aos 60 dias após IAM, corroborou os dados do presente estudo.

Daniels et al. (2001), trabalhando com animais aos 12 dias após infarto, descreveram que a relação comprimento-tensão dos VD desses animais estava diminuída,. Além disso, após o tratamento com o antagonista do receptor AT1 Losartan, a resposta inotrópica ao estiramento melhorou, sendo essa melhora resultada de uma melhor complacência do VD.

Com relação aos efeitos homeométricos, esses foram divididos em 3 fases. A primeira fase foi à avaliação dos grupos INF e IC a mudança da concentração extracelular de  $Ca^{2+}$ . A resposta inotrópica estava prejudicada no grupo IC em relação ao SHAM a partir das concentrações 1,25 mM de  $Ca^{2+}$ . Essas alterações mostram que a regulação da atividade ao  $Ca^{2+}$  já está prejudicada a no VD logo no início do desenvolvimento da doença. Em relação aos valores de contratilidade ( $dP/dt+$ ) e relaxamento ( $dP/dt-$ ), estes também se mostraram deficientes quando era aumentada a concentração de cálcio extracelular também a partir de 1,25 mM.

Os resultados do presente estudo mostraram que o animal INF não consegue preservar a função contrátil após o infarto em relação aos animais com IC. Essa adaptação pode ser proveniente das alterações na manutenção das estruturas que fazem o controle do  $Ca^{2+}$  no interior do cardiomiócito como a SERCA, o PLB, os canais de RyR<sub>2</sub>, dihidropiridina, além das bombas e trocadores de  $Ca^{2+}$ .

Davani et al. (2004) estudando a participação das células imunológicas na alteração da função do cardiomiócito na inflamação pós o infarto agudo do miocárdio, demonstrou que a interação dos leucócito com as moléculas de adesão na superfície dos cardiomiócitos favorece a alteração da liberação e da recaptção do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular para o retículo sarcoplasmático. Eles descrevem que após o acoplamento dessas células ao cardiomiócito, o sincronismo entre o receptor de RyR com o de dihidropiridina se alteram gerando um prejuízo na liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  –  $\text{Ca}^{2+}$  induzido além de um aumento na ocorrência dos *sparks* de  $\text{Ca}^{2+}$ . Eles relacionam essas alterações à mudança na organização estrutural do citoesqueleto após a aderência nas moléculas de adesão.

A disfunção contrátil na fase precoce do IAM associado às alterações cardíacas por consequência do processo inflamatório após o INF pode ser um dos fatores iniciais para o desenvolvimento das alterações sub-celulares que controlam a movimentação de  $\text{Ca}^{2+}$  para as atividades funcionais do cardiomiócito, sendo esses fatores relacionados como um dos prováveis causadores do processo de má adaptação do cardiomiócito após o INF e da IC.

Estudos mostram que a influência das citocinas pró-inflamatórias no IAM, principalmente o  $\text{TNF-}\alpha$ , diminui a função ventricular e estimula as alterações nas expressões das proteínas contrateis. Janczewski et al. (2003) estudando corações de camundongos que super-expressavam o  $\text{TNF-}\alpha$ , possuíam uma alteração na resposta contrátil, de relaxamento e na diminuição na resposta  $\beta$ -adrenérgica após a estimulação com isoproterenol no VE.

Interessantemente, nesse estudo os animais do grupo IC apresentaram alterações semelhantes de contratilidade e no relaxamento miocárdio durante o aumento crescente de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular, além de mostrar uma diminuição à resposta ao isoproterenol.

Estudos, recentes, têm mostrado que há uma interação das vias inflamatórias, como as células de adesão, citocinas e alterações nucleares através de ativação da via  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  com a atividade do SRA (Hernandez-Presa et al., 1997; Luft et al.; 2001; Kalra et al., 2000). Sekiguchi et al. (2004) mostraram que o cardiomiócito exposto a ANG II, liberava  $\text{TNF-}\alpha$  devido a inflamação causada diretamente pela ANG II.

Dhalla et al. (2008) descreveram que ao inibirmos a ação do receptor AT1 com o enalapril ocorre melhora de todas as atividades de várias proteínas cardíacas, principalmente na diminuição da  $\beta$  – MHC, aumento da  $\alpha$  – MHC, aumento da quantidade de receptor de RyR, de fosfolambam, da bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  e da restauração das subunidades da NKA.

Outra proteína importante no desenvolvimento da IC, e que tem sido estudada atualmente, é a S100A1 (Most et al., 2006). Essa proteína tem sido descrita como facilitadora da mobilização de  $\text{Ca}^{2+}$  no interior dos cardiomiócitos (Donato, 2003). Ehlermann et al. (2000) estudando o VD após o hipertensão pulmonar demonstraram que para manter a função normal do VD o cardiomiócito lança mão do aumentar na produção da proteína S100A1 para contrabalancear a disfunção função contrátil. Quando essa produção não consegue ser permanecida, há o aparecimento da IC nos animais hipertensos. Most et al., (2004) mostraram que em VE, a atividade da proteína S100A1 está diminuída nos ratos com IC, e quando tratado geneticamente esses ventrículos, eles voltam a ter a suas atividades cardíacas mais próximas do normal.

Todas essas mudanças na função dos cardiomiócitos levam a crer que provavelmente os animais infartados possuem algum tipo de controle das alterações das proteínas reguladoras do  $\text{Ca}^{2+}$  e que mantém a função do VD o mais normal possível após o INF, diferente dos animais IC que não conseguem o mesmo.

Nesse estudo, o controle da movimentação do  $\text{Ca}^{2+}$  se mostrou prejudicada nos animais do grupo IC em relação aos animais do grupo SHAM e INF. Moura (2007) mostrou que a regulação ao aumento crescente ao  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular estava diminuída nos animais do grupo IC em relação aos animais dos grupos SHAM e INF após 60 dias do IAM.

Possivelmente as estruturas que fazem a regulação do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular estão prejudicadas no cardiomiócitos dos animais do grupo IC, sendo que nos animais do grupo INF se mantém preservadas.

Há um grande envolvimento do sistema adrenérgico nos corações INF. Alguns autores relatam que o sistema simpático facilita todas as alterações cardíacas após o INF, como o remodelamento cardíaco e da matriz extracelular (Leimbach et al., 1986). Alguns autores descrevem que o animal IC possui, devido ao aumento do estímulo simpático, uma dissensibilização e/ou uma

diminuição da quantidade do receptor  $\beta_1$  e aumento do receptor  $\beta_2$  (Bristow et al., 1982; Bristow, 1993; Ungerer, 1993). Interessante é que, neste estudo presumi - se que mesmo com uma possível diminuição da atividade do receptor  $\beta_1$  o VD se mantém até melhor nos ratos do grupo IC do que os ratos do grupo SHAM e INF. Nos estudo *in vivo*, os animais IC possuem uma melhora na função contrátil e um prejuízo no relaxamento, sendo que *in vitro* a capacidade a resposta contrátil está diminuída, preservando somente o mecanismo de Starling

Moura (2007) demonstrou as mesmas alterações em relação à contratilidade do VD *in vivo* e *in vitro* nos ratos 8 semanas após o INF, corroborando com os dados desse estudo.

O receptor  $\beta_1$  possui um importante relação com o SRA. Há evidências de que exista receptores AT1 na terminação sináptica do sistema simpático, favorecendo a regulação da atividade adrenérgica a partir do aumento da atividade da ANG II. Além disso, estudos mostram que essa co - ativação  $\beta$  – adrenérgica através do receptor AT1 pode ser vista nos animais INF entre o terceiro e décimo dia após a lesão (Akers & Cassi, 2000; Wendell et al., 2004).

Kimura et al. (2007) descreveram que os animais que sofrem hipertrofia ventricular através do aumento da pressão pulmonar possuem um incremento na inervação simpática devido o processo conhecido como reinervação. Paradoxalmente, o VD possui uma diminuição da função simpática mesmo com o processo de reinervação. Os autores relataram que esta diminuição esta relacionado com à diminuição da produção e recaptção de noradrenalina nessas estruturas reinervadas.

No nosso trabalho não foi notado nenhuma diferença na frequência cardíaca e nenhuma alteração na pressão arterial dos animais INF com e sem IC, o que pode sugerir que o sistema nervoso simpático não está tendo um papel principal na influência do aumento da PSVD dos animais do grupo IC.

Sabendo que a ANG II atua e influencia a função cardiovascular, estudamos a participação inotrópica desse hormônio nos animais INF, IC e SHAM. Primeiro foi utilizado a ANG I, com o intuito de investigar a atividade funcional da ECA no tecido cardíaco. Nossa hipótese era de que a infusão de ANG I transformando-se em ANG II promoveria efeito inotrópico via receptor

AT1. Assim, poderíamos verificar se a alteração do efeito contrátil dos animais INF e IC era modulada diretamente pela ECA local. O resultado, porém, não mostrou qualquer efeito inotrópico direto devido o estímulo da clivagem da ANG I em ANG II pela ECA. Além disso, não houve nenhuma resposta inotrópica com a ANG II diretamente infundida em todos os grupos estudados.

A ação inotrópica da ANG II é bastante discutida pelos pesquisadores que estudam o efeito desse hormônio sobre o coração. Os estudos realizados até então mostram que no coração normal de vários mamíferos pode ocorrer desde um efeito inotrópico positivo (Fujita & Endoh, 1999; Ikenouchi et al., 1994; Ishihata & Endoh, 1993; Mattiazzi et al., 1997; Moravec et al., 1990; Vila Petroff et al., 2000), negativo (Capasso et al., 1993; Li et al., 1994; Meissner et al., 1998; Moravec et al., 1990; Lefroy et al., 1996; Rosenkranz et al., 1997; Sakurai et al., 2002) ou mesmo nenhum efeito inotrópico (Lefroy et al., 1996; Ishihata & Endoh, 1993; Holubarsch, 1993; Lenz et al., 1995).

Lefroy et al., 1996 mostraram que a ANG II não possuía nenhum efeito inotrópico nos animais de vários mamíferos, sendo um deles o rato. Esse resultado está relacionado tanto com os corações sadios como em corações INF. Em seus estudos eles mostraram que a ANG II não consegue influenciar o inotropismo nem dos ratos e nem de outros mamíferos como os do cardiomiócito humano.

Ford et al., 2001, mostraram que após estudos com Langendorff, realizando a técnica de isquemia-reperfusão, a ANG II não influenciou em nada o efeito inotrópico desses animais, somente interferiu na formação da cicatriz pós INF. Os dados sugeriram que mesmo não havendo nenhuma ação direta sobre o estado inotrópico do cardiomiócito, a ANG II participa no remodelamento cardíaco.

Esses resultados discrepantes nos mostram que o efeito da ANG II sobre o cardiomiócito não está bem elucidado. No presente estudo, a dose única de ANG I e ANG II não foi possível gerar nenhuma atividade inotrópica.

## CONCLUSÃO

Os dados apresentados neste estudo nos permitem concluir que, já numa fase tão precoce quanto 7 dias após infarto, a função de bomba do ventrículo direito, "in vivo", estava preservada no grupo INF e exacerbada no grupo IC. Por outro lado, a análise do ventrículo direito, na preparação de coração isolado, confirmou a manutenção da contratilidade do grupo INF, e evidenciou um prejuízo no grupo IC. No grupo IC as respostas inotrópicas ao cálcio e  $\beta$ -adrenérgica estavam prejudicadas sem modificação na resposta inotrópica a angiotensina II.

Isso indica que a disfunção do VD já se mostra presente sem ao menos todo o processo de remodelamento e adaptação do VE esteja completamente terminado.

Além disso, o SRA, provavelmente, não interfere diretamente do controle ou disfunção sistólica e diastólica dos corações SHAM, INF e IC dos VD.

Provavelmente outros fatores possam estar influenciando a função contrátil do VD dos animais IC, sendo que nos animais INF possa não ter essas influências ou possuírem outros tipos de influencia. A atividade simpática, substâncias que atuem no remodelamento ou fatores locais no processo inflamatório poderiam interferir no controle da atividade tanto contrátil quanto de relaxamento do grupo IC, sendo que no grupo INF há uma melhor adaptação da lesão cardíaca.

A causa que faz com que os animais INF possuam uma diferença na resposta adaptativa, gerando ou não IC ainda não está é descrita, sendo que ainda há a necessidade de mais estudos nesse fenômeno a qual possa dar maior clareza das alterações que ocorrem nesses animais e porque alguns ratos conseguem se manter estável ao ponto que o outro fique com deteriorado.

## REFERÊNCIAS

Akers WS and Cassis LA (2000). Presynaptic modulation of sympathetic neurotransmission in rat left ventricle slices: effect of pressure overload. *Journal of Neural Transmission*; 107: 885–902.

Akhter SA, Milano CA, Shotwell KF, Cho MC, Rockman HA, Lefkowitz RJ, Koch WJ (1997). In vivo alpha1-adrenergic receptor-mediated regulation of beta-adrenergic signaling. *Journal of Biology Chemistry*; 272(34): 21253–21259.

Akira Ishihata & Masao Endoh (1993). Pharmacological characteristics of the positive inotropic effect of angiotensin II in the rabbit ventricular myocardium. *British Journal of Pharmacology*; 108, 999-1005.

American Heart Association (2009). Heart Disease and Stroke Statistics—2009 Update a report from the american heart association statistics committee and stroke statistics Subcommittee. *Circulation*; 119:e1-e161.

Abramson SV, Burke JF, Kelly Jr. JJ et al (1992). Pulmonary hypertension predicts mortality and morbidity in patients with dilated cardiomyopathy. *Annals of Internal Medicine*.116:888–895.

Anand IS, Liu D, Chugh SS, Prahash AJ, Gupta S, John R, Popescu F, Chandrashekhar Y (1997). Isolated myocyte contractile function is normal in postinfarct remodeled rat heart with systolic dysfunction. *Circulation*; 96:3974-84

Anavekar NS, Solomon SD (2005). Angiotensin II receptor blockade and ventricular remodelling. *Journal of the Renin - Angiotensin-Aldosterone System*; 2005. Volume, 6. Number 1.

Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G (1985, a). Left ventricular failure induced by myocardial infarction. I. Myocyte hypertrophy. *American Journal of Physiology*; 248(6 Pt 2):H876-82.

Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G (1985, b). Left ventricular failure induced by myocardial infarction. II. Tissue morphometry. *American Journal of Physiology*; 248(6 Pt 2):H883-9.

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

Anversa P, Cheng W, Liu Y, Leri A, Redaelli G, and Kajstura J (1998). Apoptosis and myocardial infarction. *Basic Research Cardiology*; 93 Suppl 3: 8–12.

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

Baltatu O & Bader M. (2003) Brain renin-angiotensin system. Lessons from functional genomics. *Neuroendocrinology* 78: 253–259.

Barreto ACP, Nobre MRC, Wajngarten M, Canesin MF, Ballas D, Serro-Azul JB (1998). Insuficiência cardíaca em grande hospital terciário de São Paulo. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*; 71: 15-20

Bers DM, Guo T (2005). Calcium signaling in cardiac ventricular myocytes. *Annual New York Academic Science*. 1047, 86–98.

Bishop JE. (1998) Regulation of cardiovascular collagen deposition by mechanical forces. *Molecular Medicine Today*. Feb;4(2):69-75. Review.



Bishopric NH, Simpson PC, Ordahl CP (1987). Induction of the skeletal alpha-actin gene in alpha 1-adrenoceptor-mediated hypertrophy of rat cardiac myocytes. *Journal of Clinical Investigation*; 80(4):1194–1199

Booz GW, Dostal DE, Slinger HA, Baker KM (1994). Involvement of protein kinase C and Ca<sup>2+</sup> in angiotensin II-induced mitogenesis of cardiac fibroblasts. *Journal of Physiology* **267**: C1308–C1318.

Booz GW, Baker KM (1995). Molecular signaling mechanisms controlling growth and function of cardiac fibroblasts. *Cardiovascular Research*. **30**: 537–543.

Bristow, M. R., Minobe, W., Raynolds, M. V., Port, J. D., Rasmussen, R., Ray, P. E. Feldman, A. M (1993). Reduced beta 1 receptor messenger RNA abundance in the failing human heart. *Journal of Clinical Investigation*; 92, 2737–2745.

Brunner, HR, Laragh, JH, Baer, L, Newton, MA, Goodwin, FT, Krakoff, LR, Bard, RH, Buhler, FR (1972). Essential Hypertension : Renin and aldosterona, heart attack and stroke. *New England Journal of Medicine*; 286 (9): 441 – 119.

Burlew BS, Weber KT (2000). Connective tissue and the heart. Functional significance and regulatory mechanisms. *Cardiology of Clinical*;18(3):435–442

Bishop JE (1988). Regulation of cardiovascular collagen deposition by mechanical forces. *Molecular Medicine Today*; 4:69-75.

Busche S, Gallinat S, Bohle RM, Reinecke A, Seebeck J, Franke F, Zhu LFM, Sumners C, Unger T (2000). Expression of Angiotensin AT1 and AT2 Receptors in Adult Rat Cardiomyocytes after Myocardial Infarction A Single-Cell Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Study. *American Journal of Pathology*; Vol. 157, No. 2.

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

Buttrick P, Malhotra A, Factor S, Greene D, Scheuer J (1988). Effect of chronic dobutamine administration on hearts of normal and hypertensive rats. *Circulation Research*; 63: 173–181.

Cappola TP, Felker GM, Kao WH et al (2002). Pulmonary hypertension and risk of death in cardiomyopathy: patients with myocarditis are at higher risk. *Circulation*. 105:1663–1668.

Capasso JM, Li P, Zhang X, Meggs LG, Anversa P (1993). Alterations in ANG II responsiveness in left and right myocardium after infarction – induced heart failure in rats. *American Journal of Physiology*; Jun;264 (6 Pt 2):H2056-67.

Cigola E, Kajstura J, Li B, Meggs LG, and Anversa P (1997). Angiotensin II activates programmed myocyte cell death in vitro. *Experimental Cellular Research*; 231: 363–371.

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N (2000). Cardiac remodeling – concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *Journal of American College of Cardiology*; 35: 569–582.

Daniëls MCG, Keller RS, Tombe PP (2001). Losartan prevents contractile dysfunction in rat myocardium after left ventricular myocardial infarction. *American Journal of Physiology and Heart Circulation and Physiology*; 281:2150-2158.

Davani EY, Dorscheid DR, Lee CH, Breemen CV, Walley KR (2004). Novel regulatory mechanism of cardiomyocyte contractility involving ICAM-1 and the cytoskeleton. *American Journal of Physiology and Heart Circulation Physiology* 287: H1013–H1022.

Davies CH, Harding SE, Poole-Wilson PA (1996). Cellular mechanisms of contractile dysfunction in human heart failure. *European Heart Journal*; 17:189–198, 1996

De Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, and Unger T (2000). International Union of Pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacology Reviews* 52: 415–472.

Dhalla NS, Heyliger CE, Beamish RE, Innes IR (1987). Pathophysiological aspects of myocardial hypertrophy. *Canadian Journal of Cardiology*; 4:183–196.

Dhalla NS, Afzal N, Beamish RE, Naimark B, Takeda N, Nagano M (1993). Pathophysiology of cardiac dysfunction in congestive heart failure. *Canadian Journal of Cardiology*; 9:873–887.

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

Dhalla NS, Dent NR, Tappia PS, Sethi R, Barta J, Goyal RK (2006). Subcellular Remodeling as a Viable Target for the Treatment of Congestive Heart Failure. *Journal of Cardiovascular Pharmacology Therapeutic*; 11(1):31–45.

Dhalla NS, Wang X, Beamish RE (1996). Intracellular calcium handling in normal and failing hearts. *Experience of Clinical Cardiology* 1:7.

Dhalla NJ, Saini-Chohan HK, Leyva DR, Elimban V, Dent MR, Tappia PS (2008). Subcellular remodelling may induce cardiac dysfunction in congestive heart failure. *Cardiovascular Research*; 10.1093/cvr/cvn281.

Dhalla NS, Dixon IMC, Beamish RE (1991). Biochemical basis of heart function and contractile failure. *Journal Apply Cardiology*; 6: 7–30.

Dhalla NS, Saini-Chohan HK, Leyva DR, Elimban V, Dent MR, Tappia PS. Subcellular remodelling may induce cardiac dysfunction in congestive heart failure. *Cardiovascular Research*.

Dhalla NS, Dent MR, Tappia PS, Sethi R, Barta J, Goyal RK (2006). Subcellular Remodeling as a Viable Target for the Treatment of Congestive Heart Failure. *Journal of Cardiovascular Pharmacology Therapeutic*; 11(1):31–45.

Dias FMV (2007). Atividade funcional da  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -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.

Donato, R. (2003). Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Microscopy Research and Technology*. **60**:540–551.

Dorn GW, Force T (2005). Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy. *Journal of Clinic Investigation*. 115, 527–537.

Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, Bhat GJ, Karoor J, McWhinney CD, Baker KM (1997).. Molecular Mechanisms of Angiotensin II in Modulating Cardiac Function: Intracardiac Effects and Signal Transduction Pathways. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*; 29, 2893–2902.

Dostal DE, Baker KM (1997). Pathophysiology of the renin–angiotensin system in heart failure: Molecular control through endocrine, paracrine, and autocrine pathways. In: Altschuld RA, Haworth RA (eds). *Heart*.

Dzau VJ & Re R (1994). Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine. A paradigm shift? *Circulation* 89: 493–498.

Dzau, VJ (1988). Molecular and physiological aspects of tissue renin – angiotensin system: emphasis on cardiovascular control. *Journal of Hypertension*; 6 (suppl 3): S7 – S12.

Ehlermann P, Remppis A, Guddat O, Weimann J, Schnabel PA, Motsch J, Heizmann CW, Katus HA (2000). Right ventricular upregulation of the Ca<sup>2+</sup> binding protein S100A1 in chronic pulmonary hypertension. *Biochimical and Biophysical Acta*; 1500; 249<sup>^</sup>255.

Ertl G., Kloner R.A., Alexander R.W, Braunwald E. (1982). Limitation of experimental infarct size by an angiotensin converting enzyme inhibitor. *Circulation*, 65, 40–48.

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 Sociedade de Biologia Experimental – FeSBE* 22:51.

Ferrario, CM; Chappell, MC; Dean, RH; Iyer, SN (1998). Novel angiotensin peptide regulates blood pressure, endothelial function and natriuresis. *Journal American of Society Nephrology*; 9: 1716 – 1722.

Ferrario CM, Brosnihan KB, Diz DI, Jaiswal N, Khosla MC, Milsted A, Tallant EA (1991). Angiotensin-(1-7): a new hormone of the angiotensin system. *Hypertension* 18 *Suppl* III: III-126 –III-133.

Fernandes AA (2006). Diferença na contratilidade de ventriculos direito e esquerdo de ratos com e sem insuficiencia cardiaca após infarto do miocárdio. Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

Fink MA, Zakhary DR, Mackey JA, Desnoyer RW, Apperson-Hansen C, Damron DS, Bond M (2001). AKAP mediated targeting of protein kinase A regulates contractility in cardiac myocytes. *Circulation Research*; 88(3):291–297

Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR (1978). Experimental myocardial infarction in the rat. Qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. *American Journal of Pathology*; 90:57-70.

Fletcher PJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. (1981) Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction. Effects on systolic function. *Circulation Research* 49: 618-626.

Francis GS, Benedict C, Johnstone DE, Kirlin PC, Nicklas J, Liang CS, Kubo SH, Rudin-Toretsky E, Yusuf S (1990). Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Circulation*; 82:1724-9.

Fujita S & Endoh M (1999). Influence of a Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> Exchange inhibitor ethylisopropylamiloride, a Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchange inhibitor KB-R7943 and combination on the increases in contractility and Ca<sup>2+</sup> transient induced by angiotensin II in isolated adult rabbit ventricular myocytes. *Naunyn Schmiedebergs Archive of Pharmacology*; Nov; 360(5):575-84.

Fukuda N, Granzier HL (2005). Titin/connectin-based modulation of the Frank-Starling mechanism of the heart. *Journal of Muscle Research and Cell Motil*; **26**: 319 – 323.

Ganten D, Marquez-Julio A, Granger P, Hayduk K, Karsunky KP, Boucher R, Genest J (1971). Renin in the dog brain. *American Journal of Physiology*; 221: 1733–1737.

Ganten D, Minnich JL, Granger P, Hayduk K, Brecht HM, Barbeau A, Boucher R, Genest J (1971). Angiotensin-forming enzyme in brain tissue. *Science* 173: 64–65.

Gerald W. Dorn II (2002). Adrenergic Pathways and Left Ventricular Remodeling. *Journal of Cardiac Failure* Vol. 8 No. 6 Suppl.

Gerdes M.A (2002). Cardiac Myocyte Remodeling in Hypertrophy and Progression to Failure. *Journal of Cardiac Failure*; Vol. 8 No. 6 Suppl.S264.

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 of American College of Cardiology*.1;37:183–188

Giubert K (2006). 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.

Glagov S (1994). Mechanical determinants of intimal adaptive reactions and restenosis. *Circulation*; **89**:2888-91.

Grossman W, Jones D, McLaurin LP (1975). Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *Journal of Clinical Investigation*; 1975;56:56–64.

Haddad F, Hunt S A, Rosenthal D N, Murphy D J. (2008). Right Ventricular Function in Cardiovascular Disease, Part I: Anatomy Physiology, Aging, and Functional Assessment of the Right Ventricle. *Circulation* 2008;117;1436-1448

Hefti MA, Harder BA, Eppenberger HM (1997). Signaling pathways in cardiac myocyte hypertrophy. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*; 29:2873–2892.

Hernandez-Presa M, Bustos C, Ortega M, Tunon J, Renedo G, Ruiz- Ortega M (1997). Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor-kB activation, monocyte chemoattractant protein- 1 expression, and

macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation*; 95:1532–41.

Hollenberg NK and Williams GH (1979). Angiotensin as a renal, adrenal, and cardiovascular hormone: responses to saralasin in normal man and in essential and secondary hypertension. *Kidney Int 9 Suppl*: S29–S35.

Hort W, da Canalis S, Just H (1964) Untersuchungen bei chronischem experimentellen Herzinfarkt der Ratte. *Archiv Kreisf-Forsch*; 44:288-299.

Hosenpud JD, Campbell SM, Mendelson DJ (1989). Interleukin-1-induced myocardial depression in an isolated beating heart preparation. *Journal of Heart Transplant*; 8:460–464.

Ikenouchi H., Barry W. H., Bridge J.H.B., Weinberg E. O., Apstein C.S., Lorell B. H (1994). Effects of angiotensin II on intracellular Ca<sup>2+</sup> and pH in isolated beating rabbit hearts and myocytes loaded with the indicator indo-1. *Journal of Physiology*; 480.2.

Iwai N & Inagami T (1992). Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor. *FEBS Letter*; 298: 257–260.

Iwai N, Shimoike H, Kinoshita M (1995). Cardiac rennin - angiotensin system in the hypertrophied heart. *Circulation*; 92:2690-6.

Izumo S, Lompre A, Matsuoka R, Koren G, Schwartz K, Nadal-Ginard B, Mahdavi V (1987). Myosin heavy chain messenger RNA and protein isoform transitions during cardiac hypertrophy. *Journal of Clinical Investigation*; 79: 970–977.

Janczewski AM, Kadokami T, Lemster B, Frye CS, Mctiernan CF, Feldman AR (2003). Morphological and functional changes in cardiac myocytes isolated from mice overexpressing TNF-  $\alpha$ . *American Journal of Physiology and Heart Circulation of Physiology*; 284: H960–H969.



Jasmin JF, Calderone A, Leung TK, Villeneuve L, Dupuis J (2003). Lung structural remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: complete reversal with irbesartan. *Cardiovascular Research* 58 621–631.

Jones V. J. (2000). Wall stress and the heart. *Journal of Cardiovascular Risk*. 7:159-161.

Kalra D, Baumgarten G, Dibbs Z, Seta Y, Sivasubramanian N, Mann DL (2001). Nitric oxide provokes tumor necrosis factor- $\alpha$  expression in adult feline myocardium through a cGMP-dependent pathway. *Circulation*; 102:1302 –7.

Kaschina E & Unger T (2003). Angiotensin AT1/AT2 receptors: regulation, signalling and function. *Blood Pressure*; 12: 70–88.

Kass, R. S. & Blair, M. L. (1981). Effects of angiotensin II on membrane current in cardiac Purkinje fibers. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 13, 797-809.

Kawano S, Kubota T, Monden Y, Kawamura N, Tsutsui H, Takeshita A, Sunagawa K (2005). Blockade of NF- $\kappa$ B ameliorates myocardial hypertrophy in response to chronic infusion of angiotensin II. *Cardiovascular Research*; 67 689 – 698.

Kimura K, Ieda M, Kanazawa H, Yagi T, Tsunoda M, Ninomyia S, Kurosawa H, Yoshimi K, Mochizuki H, Yamazaki K, Ogawa S, Fukuda K (2007). Cardiac Sympathetic Rejuvenation: A Link Between Nerve Function and Cardiac Hypertrophy. *Circulation Research*. 100:1755-1764.

Koch-Weser J (1964). Myocardial actions of angiotensin. *Circulation Research* 14: 337–344.

Korup E, Dalsgaard D, Nyvad O, Jensen TM, Toft E, Berning J (1997). Comparisons of degrees of left ventricular dilatation within 3 hours and up to 6

days following first acute myocardial infarction. *American Journal of Cardiology*; 80:447-52.

Kubota T, Miyagishima M, Alvarez RJ, Kormos R, Rosenblum WD (2000). Expression of proinflammatory cytokines in the failing human heart: comparison of recent-onset and end-stage congestive heart failure. *Journal of the Heart and Lung Transplant*; 19:819–24.

Lefroy DC, Crake T, Del Monte F, Vescovo G, Dalla Libera L, Harding S, Poole-Wilson PA (1996). Angiotensin II and contraction of isolated myocytes from human, guinea pig, and infarcted rat hearts. *American Journal of Physiology*; 270(6 Pt 2):H2060-9.

Leimbach, W. N., Wallin, G., Victor, R. G., Aylward, P. E., Sundlof, G. & Mark A. L (1986). Direct evidence from intraneural recordings for increased central sympathetic outflow in patients with heart failure. *Circulation* 73, 913–919.

Leite-Moreira AF, Bras-Silva C, Pedrosa CA, Rocha-Sousa AA (2003). ET-1 increases distensibility of acutely loaded myocardium: a novel ETA and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger-mediated effect. *American Journal of Physiology Heart and Circulation Physiology*; 284:H1332–9.

Levin RI, Dolgin M, Fox AC, Gorling R (1994). *Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels (LWW Handbooks)*. 9<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins

Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M, Demetris AJ (1990). Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *New England Journal of Medicine*. 323:236–41.

Li P, Sonnenblick EH, Anversa P, Capasso JM (1994). Length-dependent modulation on ANG II inotropism in rat myocardium: effects of myocardium infarction. *American Journal of Physiology*; Feb;266(2 Pt 2):H779-86.

Lindpaintner K & Ganten D (1991). The cardiac renin-angiotensin system: an appraisal of present experimental and clinical evidence. *Circulation Research*; 68: 905–921.

Litwin S.E., Litwin, C.M., Raya T.E, Warner A.L., Goldman S. (1991). Contractility and stiffness of noninfarcted myocardium after coronary ligation in rats. Effects of chronic angiotensin converting enzyme inhibition. *Circulation*. Mar;83(3):1028-37.

Lloyd-Jones DM, Evans JC, Larson MG, Levy D (2002). Treatment and control of hypertension in the community: a prospective analysis. *Hypertension*; 40(5):640-6.

Long CS, Ordahl CP, Simpson PC (1989). Alpha 1-adrenergic receptor stimulation of sarcomeric actin isogene transcription in hypertrophy of cultured rat heart muscle cells. *Journal of Clinical Investigation*; 83(3):1078–1082

Lopes RL, Martins JF, Moreira AFL (2008). Acute neurohumoral modulation of diastolic function. *Peptides*. Nov 5 rats. Effects of chronic angiotensin converting enzyme inhibition.;, 83, 1028–1037.

Luft FC (2001). Workshop: mechanisms and cardiovascular damage in hypertension. *Hypertension*; ;37:594– 8.

Mandinov L., Eberli F.R., Seiler C., Hess O. M (2000). Diastolic heart failure. *Cardiovascular Research*; 45 813–825.

Mann, D L (2002). Angiotensin II as an inflammatory mediator: Evolving concepts in the role of the renin angiotensin system in the failing heart. *Cardiovascular Drugs and Therapy*; **16**, 7–9.

Martin P, Mehr PP, Kreutz R (2006). Physiology of Local Renin-Angiotensin Systems. *Physiological Reviews*; 86: 747–803.

Mattiazzi A, Perez NG, Vila-Petroff MG, Alvarez B, Camilión de Hurtado MC, Cingolani HE (1997). Dissociation between positive inotropic and alkalizing effects of angiotensin II in feline myocardium. *American Journal of Physiology*; Mar;272(3 Pt 2):H1131-6.

Mattiazzi, A (1997). Positive inotropic effect of angiotensin II. Increases in intracellular Ca<sup>2+</sup> or changes in myofilament Ca<sup>2+</sup> responsiveness? *Journal of Pharmacology and Toxicology Methods*; 37,205–214.

Meggs LG, Coupet J, Huang H, Cheng W, Li P, Capasso JM, Homcy CJ, Anversa P (1993). Regulation of angiotensin II receptors on ventricular myocytes after myocardial infarction in rats. *Circulation. Research*; 72;1149-1162.

Meissner A, Min JY, Simon R (1998). Effects of angiotensin II on inotropy and intracellular Ca<sup>+</sup> handling in normal and hypertrophied rat myocardium. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*; Nov;30(11):2507-18.

Mendzef SD & Slovinski JR (2004). Neurohormones and heart failure. *Nurse Clinical of North American*; 39 845–861.

Mill J.G., Stefanon I., Leite C.M. e Vassallo D.V (1990). Changes in performance of surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovascular Research*, 24: 748 – 753 .

Moravec C.S., Schluchter M.D., Paranandi L., MSHP, Czerska B., Stewart R.W., Rosenkranz E., Bond M (1990). Inotropic Effects of Angiotensin II on Human Cardiac Muscle In Vitro. *Circulation*; 82;1973-1984.

Morgan JP, Erny RE, Allen PD, Grossman W, Gwathmey JK. (1990) Abnormal intracellular calcium handling, a major cause of systolic and diastolic dysfunction in ventricular myocardium from patients with heart failure. *Circulation*; 81(suppl):III21–III32.

Moro C, Jouan MG, Rakotavao A, Toufektsian MC, Ormezzano O, Nagy N, Tosaki A, de Leiris J, Boucher F (2007). Delayed expression of cytokines after reperfused myocardial infarction: possible trigger for cardiac dysfunction and ventricular remodeling. *American Journal of Physiology Heart Circulation Physiology* 293:3014-3019.

Most P., Seifert H., Gao E., Funakoshi H., Völkers M., Heierhorst J., Remppis A., Pleger S.T., DeGeorge, Jr B. R., Eckhart A. D., Feldman A. M., Koch W. J (2006). Cardiac S100A1 Protein Levels Determine Contractile Performance and Propensity Toward Heart Failure After Myocardial Infarction. *Circulation*;114:1258-1268.

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 Regulation Integrative and Comparative Physiology*; 293: R568–R577.

Most P, Pleger ST, Völkers M, Heidt B, Boerries M, Weichenhan D , Löffler E, Janssen PML, Eckhart AD, Martini J, Williams ML, Katus HA, Remppis A, Koch WJ (2004). Cardiac adenoviral S100A1 gene delivery rescues failing myocardium. *The Journal of Clinical Investigation*; Volume 114 Number 11.

Moura VGC. (2007), Função ventricular direita de corações isolados de ratos com e sem sinais de insuficiência cardíaca oito semanas após infarto agudo do miocárdio. Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

Neves LA, Almeida AP, Khosla MC, Campagnole-Santos MJ, Santos (1997). Effect of angiotensin-(1-7) on reperfusion arrhythmias in isolated rat hearts.. *Brazilian Journal of Medicine and Biology Research*; 30(6):801-9.

Nguyen QT, Colombo F, Clement R, Gosselin H, Rouleau JL; Calderone A (2003). AT1 receptor antagonist therapy preferentially ameliorated right

ventricular function and phenotype during the early phase of remodeling post-MI. *British Journal of Pharmacology*; 138, 1485–1494.

Nicholls DP, Onuoha GN, McDowell G, Elborn JS, Riley MS, Nugent AM (1996). Neuroendocrine changes in chronic cardiac failure. *Basic Research of Cardiology* 1996; 91(Suppl. 1):13–20.

Odeh M, Sabo E, Oliven A (2006). Circulating levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  correlate positively with severity of peripheral oedema in patients with right heart failure. *European Journal of Heart Failure*; 8(2):141-6.

Opie H L, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA (2006). Controversies in ventricular remodelling. *Lancet* . 367: 356–67.

Packer M (1988). Neurohormonal interactions and adaptations in congestive heart failure. *Circulation*; 77:721–730.

Park HK, Park SJ, Kim CS, Paek YW, Lee JU, Lee WJ (2001). Enhanced gene expression of renin-angiotensin system, TGF- $\beta$ 1, endothelin-1 and nitric oxide synthase in right-ventricular hypertrophy. *Pharmacological Research*. 43(3):265-73.

Palomeque J, Sapia I, Hajjar RJ, Mattiazzi A, Vila Petroff M (2006). Angiotensin II-induced negative inotropy in rat ventricular myocytes: role of reactive oxygen species and p38 MAPK. *American Journal of Physiology and Heart Circulation Physiology*; 290: H96–H106.

Parmley WW (1995). Neuroendocrine changes in heart failure and their clinical relevance. *Clinical of Cardiology*; 18:440–445.

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.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E (1985). Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circulation Research*; 57: 84–95.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, Braunwald E (1991). Progressive Ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *American Journal of Physiology*. 260. H1406-H1414.

Pfeffer MA, Braunwald E (1990). Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation*; 81: 1161–72.

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.

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

Sakai K and Sigmund CD (2005). Molecular evidence of tissue renin angiotensin systems: a focus on the brain. *Curr Hypertens Rep* 7: 135–140.

Schorb W, Conrad KM, Singer HA, Dostal DE, Baker KM (1995). Angiotensin II is a potent stimulator MAP-kinase in neonatal rat cardiac fibroblasts. *Journal Molecular and Cellular Cardiology*; 27: 1151–1160.

Scott D. Mendzef, RN, Jennifer R. Slovinski, RN (2004). Neurohormones and heart failure. *Nurse Clinical of North American*; 39 845–861

Shi ST, Li YF (2007). Interaction of signal transduction between angiotensin AT1 and AT2 receptor subtypes in rat senescent heart. *Chinese Medicine Journal*; 120: 1820-1824.

Singh VP, Baker KM, Kumar R (2008). Activation of the intracellular renin-angiotensin system in cardiac fibroblasts by high glucose: role in extracellular matrix production. *American Journal of Physiology Heart and Circulation Physiology*; 294: H1675–H1684.

Solomon SD, Greaves SC, Rayan M, Finn P, Pfeffer MA, Pfeffer JM (1999). Temporal and Dissociation of Left Ventricular Function Remodeling Following Experimental Myocardial Infarction in Rats. *Journal of Cardiac Failure* Vol. 5 No. 3; 213 – 223.

Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E (1979). Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circulation Research*; 44:503-512.

Stella P, Manunta P, Mallamaci F, Melandri M, Spotti D, Tripepi G, Hamlyn JM, Malatino LS, Bianchi G, Zoccali C (2008). Endogenous ouabain and cardiomyopathy in dialysis patients. *Journal of International Medicine*; 263: 274–280.

Struthers A.L (2004). Aldosterone blockade in heart failure. *Journal of Renin Angiotensin Aldosterone System*; 5 (suppl 1):S23–S27.

Sugden PH, Clerk A (1998). Cellular mechanism of cardiac hypertrophy. *Journal of Molecular Medicine*; 76: 725-746.

Sun Y, Weber KT (2000). Infarct scar: a dynamic tissue. *Cardiovascular Research* 46 250–256.

Suzuki J, Matsubara H, Urakami M, Inada M (1992). Rat angiotensin II (Type 1A) receptor mRNA regulation and subtype expression in myocardial growth and hypertrophy. *Cell*; 69:11-25.

Swedberg K, Eneroth P, Kjeksus J, Wilhelmsen L (1990). Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. Consensus trial study group. *Circulation*; 82:1730–1736.



Swynghedauw B (1999). Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiological Reviews*; 79: 215–262.

Turek Z, Grandtner M, Kubat M, Ringnalda BEM, Kreuzer F (1978). Arterial blood gases, muscle fiber diameter and intercapillary distance in cardiac hypertrophy of rats with an old myocardial infarction. *Pflugers Archive*; 376:209-215.

Ungerer, M., Bohm, M., Elce, J. S., Erdmann, E; Lohse, M. L (1993). Altered expression of beta-adrenergic receptor kinase and beta 1-adrenergic receptors in the failing human heart. *Circulation*; 87, 454–463.

Urata H, Nishimura H, and Ganten D (1996). Chymase-dependent angiotensin II forming systems in humans. *American Journal of Hypertension*; 9: 277–284.

Urata H, Kinoshita A, Perez DM, Misono KS, Bumpus FM, Graham RM, and Husain A (1991). Cloning of the gene and cDNA for human heart chymase. *Journal of Biology Chemistry*; 266: 17173–17179.

Van Kesteren CA, van Heugten HA, Lamers JM, Saxena PR, Schalekamp MA, and Danser AH (1997). Angiotensin II-mediated growth and antigrowth effects in cultured neonatal rat cardiac myocytes and fibroblasts. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*; 29: 2147–2157.

Vassallo D.V., Lima E.Q., Campagnaro P, Stefanon I., leite C.M., Mill J.G. (1994). Effects of isoproterenol on the mechanical activity of isolated papillary muscle and perfused rats heart in various calcium concentrations. *Pharmacology Research* 29 (3): 251-60.

Vila Petroff MG & Mattiazzi RA (2001). Angiotensin II in cardiac E-C coupling. *Heart, Lung and Circulation*; 2001 10.

Vila Petroff M. G., Aiello E. A., Palomeque J., Salas M.A., Mattiazzi A (2000). Subcellular mechanisms of the positive inotropic effect of angiotensin II in cat myocardium. *Journal of Physiology*; 529.1, pp. 189—203

Von Lutterotti N, Catanzaro DF, Sealey JE, and Laragh JH (1994). Renin is not synthesized by cardiac and extrarenal vascular tissues. A review of experimental evidence. *Circulation* 89: 493–498.

Wang QD & Nygren E (2003). Various inotropic effects of angiotensin II in post-ischaemic rat hearts depending on ischaemic time with possible involvement of protein kinase C. *Acta Physiology of Scandinavia*; 178, 189–196.

Weber KT, Anversa P, Armstrong PW, Brilla CG, Burnett JC, Cruickshank JM, Devereux, RB, Giles TD, Korsgaard N, LeierCV, Mendelsohn FAO, Motz, WH, Mulvany MJ, Strauer BE (1992). Remodeling and reparation of the cardiovascularsystem. *Journal of American College of Cardiology*; 20:3–16.

Weber KT, Brilla CG (1991). Pathological hypertrophy and cardiac interstitium: Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation*; **83**:1849-65.

Weber, K. T., Sun, Y., Tyagi, S. C., Cleutjens, J. P. M. (1994). Collagen network of the myocardium: function, structural remodeling and regulatory mechanisms. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*; 26, 279–292.

Wendell S. Akers and Lisa A. Cassis. Presynaptic modulation of evoked NE release contributes to sympathetic activation after pressure overload. *American Journal of Physiology and Heart Circulation Physiology* 286.

Wikman-Coffelt J, Parmley WW, Mason DT (1979). The cardiac hypertrophy process: Analyses of factors determining pathological vs. physiological development. *Circulation Research*; 45:697–707.

Yamada T, Horiuchi M, and Dzau VJ (1996). Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proceeding of the National Academic Science USA*; 93: 156–160.

Yasuda N, Akazawa H, Qin Y, Komuro I (2007). A novel mechanism of mechanical stress-induced angiotensin II type 1–receptor activation without the involvement of angiotensin II. *Naunyn-Schmiedeberg's Archive Pharmacology*; DOI 10.1007/s00210-007-0215-1.

Young, J.B (1999). Angiotensin-converting enzyme inhibitors and cytokines in heart failure: Dose and effect? *Journal American College of Cardiology*. **34**, 2068–2071.