

## Remodelación Cardíaca: Análisis Seriado e Índices de Detección Precoz de Disfunción Ventricular

Olga de Castro Mendes<sup>1,2</sup>, Dijon Henrique S. de Campos<sup>1</sup>, Ricardo Luiz Damatto<sup>1</sup>, Mário Mateus Sugizaki<sup>1,2</sup>, Carlos Roberto Padovani<sup>1</sup>, Katashi Okoshi<sup>1</sup>, Antônio Carlos Cicogna<sup>1</sup>

Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina FMB - UNESP<sup>1</sup>, Botucatu, Faculdades Integradas de Bauru<sup>2</sup>, Bauru, SP - Brasil

### Resumen

**Fundamento:** La estenosis aórtica supraavalvular (EAo) se utiliza para el estudio de la remodelación cardíaca (RC) por sobrecarga de presión. En este modelo, no están claramente establecidos el comportamiento del RC desde la fase inicial, ni los mejores parámetros para la identificación de la disfunción ventricular.

**Objetivo:** 1) Caracterizar, precoz y evolutivamente, las modificaciones morfofuncionales durante el RC en ratones con EAo, y 2) identificar el índice más sensible para detección del momento de la aparición de la disfunción diastólica y sistólica del ventrículo izquierdo (VI).

**Métodos:** Ratones Wistar se dividieron en dos grupos - control (GC, n=13) y EAo (GEAo, n=24) - y estudiados en las 3<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> y 18<sup>a</sup> semanas post cirugía. Los corazones se analizaron por medio de ecocardiograma (ECO).

**Resultados:** Al final del experimento, las relaciones del VI, del ventrículo derecho y de los atrios con el peso corporal final fueron aumentadas en el GEAo. El ECO mostró que el atrio izquierdo sufrió una remodelación significativa a partir de la 6<sup>a</sup> semana. En el GEAo, el porcentaje de acortamiento endocárdico presentó disminución significativa a partir de la 12<sup>a</sup> semana y el porcentaje de acortamiento mesocárdico, en la 18<sup>a</sup> semana. La relación onda E y onda A (E/A) fue superior en el GC en comparación al GEAo en todos los momentos analizados.

**Conclusión:** El ventrículo izquierdo de los ratones con EAo, durante el proceso de remodelación, presentó hipertrofia concéntrica, disfunción diastólica precoz y mejora de la función sistólica, con posterior deterioro del desempeño. Además de ello, se constató que los índices ecocardiográficos más sensibles para la detección de la disfunción diastólica y sistólica son, respectivamente, la relación E/A y el porcentaje de acortamiento endocárdico. (Arq Bras Cardiol 2010; 94(1) : 59-66)

**Palabras clave:** Estenosis aórtica supraavalvular, remodelación ventricular, ecocardiograma, ratones, disfunción ventricular/medición de riesgo.

### Introducción

La remodelación cardíaca (RC) es una alteración en la expresión génica en respuesta a una agresión, resultando en cambios moleculares, celulares e intersticiales miocárdicos, y que se expresa por variaciones en el tamaño, forma y función del corazón<sup>1</sup>. También es un mecanismo adaptativo a la sobrecarga hemodinámica, permitiendo al corazón mantener sus funciones en vigencia de aumento de carga<sup>2-4</sup>. Se considera factor de riesgo para el desarrollo de disfunción ventricular e insuficiencia cardíaca (IC)<sup>5</sup>.

Se han propuesto diversos modelos experimentales para el estudio del RC por sobrecarga presórica, como la

estenosis aórtica supraavalvular (EAo) en ratones<sup>6-8</sup>. Cuando la constricción aórtica se realiza en animales jóvenes, la sobrecarga presórica inicial es leve, acentuándose con el crecimiento. Las ventajas de la EAo son: El desarrollo gradual de RC asociado, a corto plazo, a la mejora de la función sistólica; ausencia de severas lesiones anatómicas miocárdicas; y bajo costo de mantenimiento<sup>9</sup>. Alrededor de la 20<sup>a</sup> semana de EAo ocurre deterioro del desempeño sistólico e IC<sup>10-13</sup>. Este modelo se asemeja parcialmente a la EAo en el hombre<sup>11</sup>.

Experimentos en nuestro laboratorio, realizados en ratones con EAo, evaluaron aspectos morfofuncionales cardíacos, por medio de ecocardiograma (ECO), en diferentes períodos de RC, constatando función sistólica supranormal en la 6<sup>a</sup> u 8<sup>a</sup> semana<sup>4,9,12</sup>, disfunción diastólica a partir de la 12<sup>a</sup> semana<sup>9</sup> y deterioro del desempeño sistólico en la 21<sup>a</sup> semana, siendo incluidos en esta última tanda animales con señales de insuficiencia cardíaca<sup>9</sup>. Algunos autores, utilizando evaluación hemodinámica, verificaron aumento en la presión diastólica final del ventrículo izquierdo (VI) después de la 6<sup>a</sup> semana

**Correspondencia:** Olga de Castro Mendes •

Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP - Depto de Clínica Médica - Rubião Júnior, S/N - 18618-000 - Botucatu, SP - Brasil

E-mail: ocmendes2003@yahoo.com.br

Artículo recibido el 05/11/08; revisado recibido el 23/03/09; aceptado el 05/06/09.

- en contraste, la evaluación de la función diastólica por ECO se mostró inalterada<sup>13</sup>. Litwin et al<sup>8</sup> evaluando, por medio de ECO, ratones con EAo en las 6<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> y 18<sup>a</sup> semanas, observaron disfunción diastólica a partir de la 6<sup>a</sup> semana y deterioro en el desempeño sistólico en la 18<sup>a</sup> semana.

El análisis de los trabajos citados muestra controversias de resultados y ausencia de una evaluación en un período más inicial post inducción de EAo. El objetivo del trabajo fue caracterizar, precoz y evolutivamente, las modificaciones morfofuncionales durante el RC en ratones con EAo, buscando identificar el índice más sensible para detección del momento de la aparición de la disfunción diastólica y sistólica del ventrículo izquierdo.

## Métodos

Los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigación Animal de la Facultad de Medicina de Botucatu-UNESP, el 19/10/2005, con el nº 506/2005.

### Animales y protocolo experimental

Se utilizaron 37 ratones Wistar, machos y jóvenes, provenientes del Bioterio del Departamento de Clínica Médica de la Facultad de Medicina de la UNESP - Botucatu/SP, los cuales se dividieron en dos grupos: control (GC, n=13) y estenosis aórtica supravalvular (GEAo, n=24). El GEAo fue sometido a la cirugía con implantación de un clip en la arteria aorta para la inducción de la EAo. El GC fue sometido a la misma cirugía, pero sin la colocación del clip. Se mantuvieron cinco animales por caja, a temperatura ambiente de 23°C, con ciclos de luminosidad de 12 horas, alimentados con ración estándar Purina® y agua *ad libitum*.

Los animales se estudiaron en las 3<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> y 18<sup>a</sup> semanas después de la cirugía. Estos períodos son adecuados para la observación de alteraciones morfofuncionales en ratones con EAo y anteceden la instalación de la IC, que ocurre en torno de la 20<sup>a</sup> semana<sup>9,10,13</sup>.

Al final del experimento, se buscó identificar señales de IC, considerándose criterio de exclusión la presencia de taquipnea asociada a una de las siguientes señales: edema, ascitis, derrame pleuropericárdico, trombo en atrio izquierdo (AI) e hipertrofia del ventrículo derecho (VD)<sup>14</sup>.

Al final de la 18<sup>a</sup> semana, los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico intraperitoneal (50 mg/kg) y decapitados, realizándose entonces el análisis morfológico cardíaco.

### Inducción de estenosis aórtica supravalvular

La EAo fue inducida de acuerdo con el método utilizado en nuestro laboratorio<sup>4,12</sup>. Los animales, pesando de 70 a 90 g, después de la anestesia con clorhidrato de ketamina (60 mg/kg) y clorhidrato de xylazina (10 mg/kg) intraperitoneal, fueron sometidos a toracotomía mediana. La aorta ascendente fue disecada y un clip de plata, con 0,6 mm de diámetro interno, colocado aproximadamente a 3 mm de su raíz. Los animales del GC fueron sometidos a la misma cirugía, pero sin la colocación del clip.

### Evaluación ecocardiográfica

La función y la estructura del corazón fueron analizadas por ECO de acuerdo con la metodología utilizada en nuestro laboratorio<sup>4,9,10,14</sup>. Los animales fueron anestesiados con clorhidrato de ketamina (50 mg/kg) y clorhidrato de xylazina (1 mg/kg) por vía intraperitoneal. Fue utilizado un ecocardiógrafo (Philips®, modelo HDI 5000) modo-M, equipado con transductor electrónico de 12 MHz. Se evaluaron los siguientes parámetros morfológicos del VI: Diámetros diastólico (DDVI) y sistólico (DSVI), espesores diastólicos y sistólicos de la pared posterior (EDPP y ESPP) y del septo interventricular (EDSIV y ESSIV) y masa (MASA VI). El índice de masa del VI (IMVI) fue determinado normalizando la masa del VI por el peso corporal (PC). El espesor relativo de la pared del VI (ERelVI) se obtuvo por la fórmula (2xEDPP)/DDVI.

La función sistólica del VI fue determinada por el porcentaje de acortamiento endocárdico ( $\Delta D$  endo) y mesocárdico ( $\Delta D$  meso), velocidad de acortamiento de la pared posterior del VI (VAPP), débito cardíaco (DC) e índice cardíaco (InC). La  $\Delta D$  meso fue calculada por la fórmula  $\{[(DDVI + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} EDSIV) - (DSVI + \frac{1}{2} ESPP + \frac{1}{2} ESSIV)] / (DDVI + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} EDSIV)\}$ ; la VEPP se determinó por la tangente máxima del movimiento sistólico de la pared posterior; el DC por la fórmula  $[(DDVI^3 - DSVI^3) \times \text{frecuencia cardíaca}]$ ; y el InC por la relación del DC con el PC.

La función diastólica se evaluó por las ondas E y A, relación entre ondas E y onda A (E/A), tiempos de desaceleración de la onda E (TDE) y de relajación isovolumétrica del VI (TRIV)<sup>15,16</sup>.

### Análisis morfológico

Las variables morfológicas para caracterizar los animales fueron: pesos corporales finales (PCF) del VI, del VD, de los atrios (ATs) y las relaciones VI/PCF, VD/PCF y ATs/PCF.

### Análisis estadístico

Los parámetros morfológicos fueron analizados por el test t de Student, cuando la variable presentaba distribución normal de probabilidad, y por el test de Mann-Whitney, cuando esta característica estaba ausente. Para comparaciones de los grupos en el proceso evolutivo, se utilizó el método de análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas en dos grupos independientes, complementado por el procedimiento de comparación múltiple de Bonferroni. Para la variable onda A, el procedimiento estadístico consideró la técnica no paramétrica; para las otras variables, se consideró la técnica paramétrica<sup>17</sup>. En todas las pruebas, se fijó en el 5% ( $p < 0,05$ ) el nivel de significancia. Los gráficos presentan los resultados en promedio y error estándar. Los cálculos estadísticos se realizaron con el auxilio del paquete estadístico SigmaStat 3.5 for Windows version (Copyright© 2006, Systat Software Inc.).

## Resultados

Al final del experimento, de los 24 ratones del GEAo murieron 10 (41,6%) y 2 presentaron IC (14,28%), siendo excluidos del estudio. En el GC ocurrieron 2 muertes (15,4%).

Así, los grupos estudiados estaban constituidos de 11 en el GC y 12 en el GEAO. La mortalidad observada está de acuerdo con otros autores que constataron tasas variando de 30 a 49%<sup>5,7,12,13</sup>.

### Características generales

El peso inicial de los ratos no diferió, siendo  $82 \pm 5$  g para el GC y  $85 \pm 5$  g para el GEAO. El análisis evolutivo del peso corporal mostró que el GC fue mayor que el GEAO sólo en la 12ª semana, con tendencia a la superioridad en la 18ª semana ( $p=0,07$ ). Las características generales de los animales al final del experimento están expuestas en la Tabla 1. El peso del VI y de los ATs y las relaciones VI/PCF, VD/PCF y A/PCF fueron aumentados en el GEAO.

### Evaluación ecocardiográfica de los parámetros estructurales del corazón

La Tabla 2 presenta la evaluación secuencial estructural de corazón por ECO. El IMVI disminuyó en los animales del GC en las 12ª y 18ª semanas, en comparación a la 3ª semana, y no se alteró en el GEAO. El índice fue mayor en el GEAO con relación al GC a partir de la 6ª semana, aunque en la 3ª semana ya había una tendencia estar aumentada en el GEAO ( $p=0,058$ ). El DDVI fue igual en las 6ª, 12ª y 18ª semanas, superiores a la 3ª semana en ambos grupos. Esta variable fue menor en el GEAO, cuando se la compara la GC. La relación DDVI/PC en el GC y en el GEAO fue mayor en la 3ª semana con relación a las demás semanas, siendo las 12ª y 18ª semanas inferiores a la 6ª semana. No hubo diferencia entre los grupos. El DSVI fue superior en las 6ª y 12ª semanas con relación a la 3ª en el GC. En el GEAO, el DSVI aumento en las 6ª, 12ª y 18ª semanas con relación a la 3ª, siendo la 18ª diferente de la 6ª semana. El DSVI fue menor en el GEAO con relación al GC.

Las EDPP y EDSIV no se alteraron en el GC durante el período experimental; aumentaron en los momentos 12 y 18 con relación a los momentos 3 y 6 en los animales del GEAO. Estos parámetros fueron superiores en el GEAO con relación al GC en todos los momentos. La ErelVI no se alteró

en el GC; la 18ª semana diferió de la 6ª semana en el GEAO. Esta variable fue mayor en el GEAO que en el GC en todas las semanas. No hubo variación del AI en el GC, aunque hubiera una tendencia a ser mayor en las 12ª ( $p=0,075$ ) y 18ª ( $p=0,063$ ) semanas con relación a la 3ª semana; en el GEAO, el AI fue mayor a partir de la semana 6, no sufriendo posterior variación. El AI presentó valores más elevados en el GEAO que en el GC a partir de la 6ª semana. La relación AI/PC fue inferior en las 6ª, 12ª y 18ª semanas - menores que la semana 6 en ambos grupos cuando se las compara a la 3ª y a las 12ª y 18ª semanas. Esta relación fue mayor en el GEAO que en el GC en todos los períodos. El AO en el GC en las 6ª y 12ª semanas fue diferente de la 3ª semana. La 18ª semana diferió de todas las anteriores. En el GEAO, las 6ª, 12ª y 18ª semanas fueron superiores a la 3ª semana. Esta variable fue menor en el GEAO con relación al GC en la 18ª semana. No hubo variación en la relación AI/AO entre los diferentes momentos en ambos grupos. Aunque el grupo GEAO haya presentado aumento del AI/AO con relación al GC, sólo en la 18ª semana hubo una tendencia de los valores del GEAO a ser mayores que el GC ( $0,07 > p < 0,13$ ). Los datos absolutos y relativos del AI muestran que esta cámara sufrió una remodelación significativa a partir de la 6ª semana.

### Evaluación ecocardiográfica de la función sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo

En las Tablas 3 y 4 se describen respectivamente, la FC y los parámetros de la evaluación funcional sistólica y diastólica del VI. No se observaron diferencias en la FC entre grupos y momentos. No hubo diferencia en el  $\Delta D$  endo y meso en función del tiempo en el GC. En el GEAO, la  $\Delta D$  endo de la 12ª semana fue menor que la de la 3ª y mayor que la de la 18ª semana, menor que la 3ª y la 6ª semanas. La  $\Delta D$  meso en el GEAO fue menor en la 18ª semana con relación a la 3ª y 6ª. Las  $\Delta D$  endo y meso fueron mayores en el GEAO que en el GC en todos los momentos, con excepción de la 18ª semana, en que el  $\Delta D$  meso fue igual en ambos grupos (Tabla 3). En las Figuras 1 y 2, se puede visualizar que, mientras la  $\Delta D$  endo y meso no se alteraron en el GC, en el GEAO hubo una caída de estos índices durante la evolución del proceso, volviéndose significativos a partir de la 12ª semana en el  $\Delta D$  endo y en la 18ª en el  $\Delta D$  meso.

La VEPP, cuando se evalúa intragrupo, se mostró significativamente mayor en la 18ª semana con relación a las 3ª y 6ª semanas en el GC, y no alterada en el GEAO. Hubo reducción del VEPP en el GEAO con relación al GC en la 18ª semana. El DC aumento en las 12ª y 18ª semanas con relación a la 3ª en el GC, con tendencia a ser superior en la 6ª semana con relación a la 3ª ( $p=0,083$ ). En el GEAO, las 6ª, 12ª y 18ª semanas fueron superiores a la 3ª. Hubo diferencia en el DC entre grupos sólo en la 18ª semana, siendo menor en el GEAO. El lnC disminuyó en la 12ª y 18ª semanas en el GC con relación a las semanas anteriores. En el GEAO, la 18ª semana fue menor que las 3ª y 6ª semanas. Hubo una tendencia de la 12ª semana a ser menor que la 6ª semana ( $p=0,069$ ). No hubo diferencia entre los grupos (Tabla 3).

En el GC y GEAO (Tabla 4), las ondas E y A no presentaron alteraciones en los diferentes períodos de evaluación. Mientras la onda E fue igual intergrupos, la onda A fue mayor en el GEAO

**Tabla 1 - Características generales de los ratones al final del período experimental**

Variable	Grupo	
	GC (n=11)	GEAO (n=12)
PCF (g)	492±69	453±52
VI (g)	0,86±0,13	1,18±0,22*
VD (g)	0,30±0,07	0,33±0,06
ATs (g)	0,10±0,02	0,17±0,05*
VI/PCF (mg/g)	1,76±0,11	2,69±0,47*
VD/PCF (mg/g)	0,60±0,09	0,73±0,15*
ATs/PCF (mg/g)	0,20±0,03	0,39±0,13*

Valores en promedio±desviación estándar. GC - grupo control; GEAO - grupo estenosis aórtica; PCF - peso corporal final; VI - ventrículo izquierdo; VD - ventrículo derecho; ATs - atrios; n: número de animales. Test t de Student para muestras independientes; \*  $p < 0,05$  vs GC.

Tabla 2 – Evaluación ecocardiográfica de los parámetros estructurales del corazón

VARIABLE	GRUPO	PERÍODO DE EVALUACIÓN (semanas)			
		3	6	12	18
IMVI (g/kg)	GC	3,02±0,26	2,62±0,36	2,25±0,32*	2,14±0,32*
	GEAo	3,46±0,51	3,29±0,66§	3,26±0,58§	3,01±0,96§
DDVI (mm)	GC	7,57±0,56	8,34±0,55*	8,63±0,68*	8,52±0,90*
	GEAo	6,84±0,64§	7,62±0,45*§	7,98±0,56*§	7,79±0,86*§
DDVI/PC (mm/kg)	GC	31,27±3,64	25,33±3,27*	19,34±2,05†	17,51±2,32†
	GEAo	30,80±5,18	24,93±3,01*	19,99±2,64†	17,42±2,80†
DSVI (mm)	GC	3,67±0,39	4,32±0,47*	4,27±0,45*	4,20±0,55
	GEAo	2,38±0,64§	2,97±0,43*§	3,20±0,48*§	3,50±0,99†§
EDPP (mm)	GC	1,42±0,11	1,42±0,11	1,52±0,07	1,59±0,10
	GEAo	1,68±0,26§	1,77±0,18§	2,04±0,20†§	2,12±0,34†§
EDSIV (mm)	GC	1,46±0,11	1,46±0,11	1,56±0,08	1,60±0,08
	GEAo	1,70±0,26§	1,79±0,18§	2,04±0,21†§	2,12±0,34†§
ERelVI	GC	0,38±0,04	0,34±0,03	0,35±0,03	0,38±0,04
	GEAo	0,50±0,12§	0,47±0,07§	0,51±0,07§	0,55±0,11†§
AI (mm)	GC	5,08±0,76	5,60±0,62	5,76±0,57	5,78±0,73
	GEAo	5,41±0,47	6,22±0,42*§	6,43±0,64*§	6,43±0,91*§
AI/PC (mm/kg)	GC	20,86±2,52	16,95±2,29*	13,08±2,76†	11,83±2,65†
	GEAo	24,22±2,73§	20,40±2,92*§	16,07±2,11†§	14,43±2,95†§
AO (mm)	GC	3,25±0,20	3,58±0,21*	3,78±0,23*	4,12±0,20††
	GEAo	3,21±0,22	3,66±0,24*	3,82±0,19*	3,90±0,27*§
AI/AO	GC	1,57±0,20	1,57±0,19	1,53±0,19	1,42±0,17
	GEAo	1,70±0,24	1,71±0,17	1,69±0,21	1,66±0,30§

Valores en promedio±desviación estándar. GC (n=11) - grupo control; GEAo (n=12) - grupo estenosis aórtica; VI - ventrículo izquierdo; IMVI - índice de masa; DDVI y DSVI - diámetros diastólico y sistólico; PC - peso corporal; EDPP - espesor diastólico de la pared posterior; ERelVI - espesor relativo; EDSIV - espesor diastólico del septo interventricular; AO - diámetro de la aorta; AI - diámetro del atrio izquierdo. Diferencias significativas - \*: vs semana 3; †: vs semana 6; ‡: vs semana 12; §: vs GC; ANOVA complementada con el test de Bonferroni; p<0,05.

que en el GC en todos los períodos. La relación E/A presentó disminución en el GC en la 18ª semana con relación a la 3ª, con tendencia a ser menor en la 18ª semana con relación a la 6ª (p=0,067) y 12ª (p=0,095) semanas. En el GEAo no hubo diferencia entre los momentos, con tendencia a la diferencia entre las 3ª y 18ª semanas (p=0,10). La relación E/A se mostró superior en el GC en los diferentes momentos evaluados (Tabla 4 y Figura 3). El TRIV fue similar en el GC en todos los momentos. En el GEAo, fue mayor en la 18ª semana con relación a la 3ª y 6ª. No hubo diferencia entre los grupos. El TDE fue similar en el GC. En el GEAo hubo tendencia a la diferencia entre las 6ª y 18ª semanas (p=0,058) y 12ª y 18ª semanas (p=0,063). El TDE fue menor en el GEAo en los momentos 3, 12 y 18 con relación al GC.

## Discusión

En este estudio se evaluaron la morfología y la función cardíaca durante el proceso de remodelación en ratones sometidos a EAo. La remodelación que ocurre frente a esa agresión puede acarrear disfunción ventricular. El principal

criterio para el diagnóstico de esa alteración funcional, en estudios experimentales, ha sido el nivel de la presión final diastólica del VI, evaluado por método hemodinámico<sup>18</sup>. No obstante, su determinación requiere un proceso invasivo, hecho que perjudica estudios longitudinales. Además de ello, la cateterización del VI puede causar daños a la válvula aórtica o afectar el desempeño cardíaco<sup>19</sup>.

El ECO representa una alternativa para el estudio de la función ventricular y puede ofrecer importantes informaciones sobre desempeño cardíaco en roedores<sup>19</sup>. Éste permite evaluar la morfología y la función cardíaca<sup>8,19-21</sup>, la evolución de la disfunción ventricular causada por diferentes tipos de agresión<sup>22</sup> y los efectos de diferentes intervenciones<sup>13,23</sup>. Es un método versátil, seguro, indoloro, no invasivo e importante para análisis seriales *in vivo*<sup>24</sup>.

Los resultados ecocardiográficos en este estudio muestran importantes alteraciones estructurales del VI durante el proceso de la evolución de la remodelación<sup>25</sup>. El IMVI disminuyó en el GC a partir de la 12ª semana en razón del aumento del peso corporal de los ratones; en el GEAo el IMVI se mantuvo estable.

Tabla 3 – Evaluación ecocardiográfica de la función sistólica del ventrículo izquierdo

VARIABLE	GRUPO	PERÍODO DE EVALUACIÓN (semanas)			
		3	6	12	18
FC (lpm)	GC	328±49	311±34	284±28	327±66
	GEAo	340±47	327±46	300±25	345±48
ΔD endo (%)	GC	51,66±2,13	48,20±4,17	50,44±4,17	50,35±3,00
	GEAo	65,41±7,81§	61,05±5,04§	59,83±5,74*§	55,65±9,20*†§
ΔD meso (%)	GC	31,29±2,43	29,71±3,51	31,08±3,81	31,41±2,35
	GEAo	37,52±5,08§	37,07±2,64§	34,60±3,40§	31,60±4,75*†
VEPP (mm/s)	GC	38,26±4,35	39,57±3,58	42,95±7,70	45,87±5,56*†
	GEAo	38,29±7,72	38,97±6,70	40,05±8,31	39,94±9,75§
DC (ml/min)	GC	125,81±21,64	156,01±30,67	160,62±32,19*	185,01±40,26*
	GEAo	104,45±27,42	136,99±29,87*	142,69±23,52*	147,84±40,91*§
lnC (ml/min.g-1)	GC	0,52±0,08	0,47±0,09	0,36±0,06*†	0,38±0,07*†
	GEAo	0,47±0,15	0,45±0,11	0,36±0,06*	0,33±0,09*†

Valores en promedio±desviación estándar. GC (n=11) - grupo control; GEAo (n=12) - grupo estenosis aórtica; FC - frecuencia cardíaca; VI - ventrículo izquierdo; ΔD endo - porcentaje de acortamiento endocárdico; ΔD meso - porcentaje de acortamiento mesocárdico; VEPP - velocidad de acortamiento de la pared posterior; DC - débito cardíaco; lnC - índice cardíaco. Diferencias significativas - \*: vs semana 3; †: vs semana 6; §: vs GC; ANOVA complementada con el test de Bonferroni; p<0,05.

Tabla 4 - Evaluación ecocardiográfica de la función diastólica del ventrículo izquierdo

VARIABLE	GRUPO	PERÍODO DE EVALUACIÓN (semanas)			
		3	6	12	18
Onda E (cm/s)	GC (n=11)	90,36±8,31	93,00±12,45	87,91±13,07	79,36±9,87
	GEAo (n=12)	96,41±16,25	103,00±16,64	89,58±12,07	88,92±26,69
Onda Aa (cm/s)	GC (n=10)	49,00±7,50	51,00±7,00	52,50±9,50	51,50±24,50
	GEAo (n=11)	72,00±19,50§	73,00±41,00§	70,00±17,00§	88,00±43,50
E/A	GC (n=10)	1,82±0,29	1,76±0,16	1,74±0,25	1,43±0,36*
	GEAo (n=11)	1,37±0,25§	1,32±0,30§	1,28±0,25§	1,09±0,54§
TRIV (ms)	GC (n=10)	21,00±3,83	22,50±3,78	21,70±5,60	23,40±4,43
	GEAo (n=12)	18,16±4,71	18,33±5,63	24,50±6,11	26,00±11,14*†
TDE (ms)	GC (n=10)	51,44±10,88	51,11±8,02	59,10±6,86	50,57±6,70
	GEAo (n=06)	43,74±7,37§	48,00±5,02	47,83±10,36§	35,60±7,82§

Valores en promedio±desviación estándar; GC (n=11) - grupo control; GEAo (n=12) - grupo estenosis aórtica; E/A - razón entre picos de velocidad de flujo de llenado inicial (onda E) y de la contracción atrial (onda A) del flujo transmitral; TRIV - tiempo de relajación isovolumétrica del VI; TDE - tiempo de desaceleración de la onda E. Diferencias significativas - \*: vs semana 3; †: vs semana 6; §: vs GC; ANOVA complementada con el test de Bonferroni; a mediana ± semi-amplitud total, Friedman para medidas repetidas y Mann-Whitney; p<0,05.

Como este parámetro no es directamente proporcional al peso corporal, en situación de pérdida o ganancia de peso corporal los valores normalizados estarán aumentados o disminuidos, respectivamente. Varios parámetros indicadores de hipertrofia, como EDPP, EDSIV y EReVI, se presentaron alterados a partir de la 3ª semana y el IMVI después de la 6ª semana. El análisis de la EReVI indicó que la EAo resultó, precozmente, en hipertrofia concéntrica del VI, mantenida hasta el final del experimento. La remodelación ventricular izquierda por el ECO fue confirmado por evaluación estructural cardíaca después del sacrificio de los ratones (Tabla 1).

Además de la hipertrofia ventricular izquierda, los resultados muestran que los ratones del GEAo, al momento del sacrificio, presentaban una hipertrofia del ventrículo derecho evaluada por la relación VD/PC. A pesar de que el diagnóstico de insuficiencia cardíaca, en este experimento, se realizó por la asociación de las señales clínicas morfológicas, descritas anteriormente, el hallazgo aislado del aumento de esta relación no significa que los ratones del GEAo estarían con insuficiencia cardíaca. Sin embargo, los aumentos del peso atrial y de su relación con el peso corporal muestran que los ratones, al momento del sacrificio, presentaban disfunción ventricular izquierda.

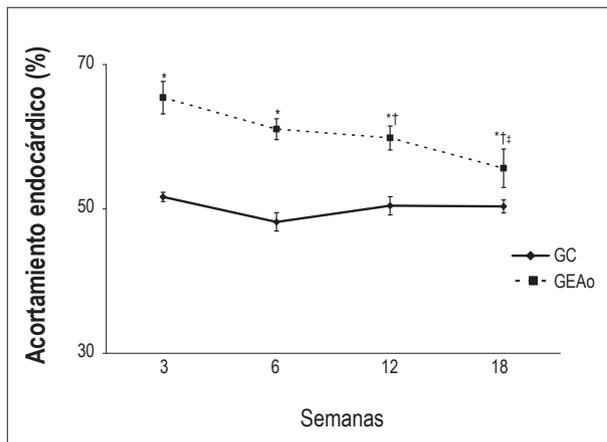


Fig. 1 - Comportamiento del porcentaje de acortamiento endocárdico ( $\Delta D$  endo) durante el período de evaluación. GC - grupo control; GEAO - grupo estenosis aórtica. \*: vs GC; †: vs semana 3; ‡: vs semana 6; ANOVA y test de Bonferroni;  $p < 0,05$ . Valores en promedio y error estándar.

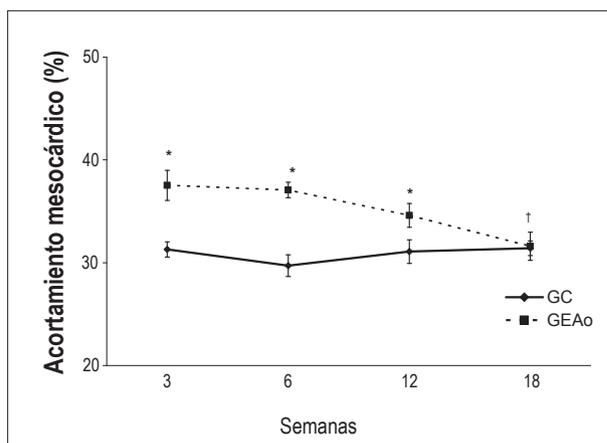


Fig. 2 - Comportamiento del porcentaje de acortamiento mesocárdico ( $\Delta D$  meso) durante el período de evaluación. GC - grupo control; GEAO - grupo estenosis aórtica. \* vs GC; †: vs semana 3 y 6; ANOVA y test de Bonferroni;  $p < 0,05$ . Valores en promedio y error estándar.

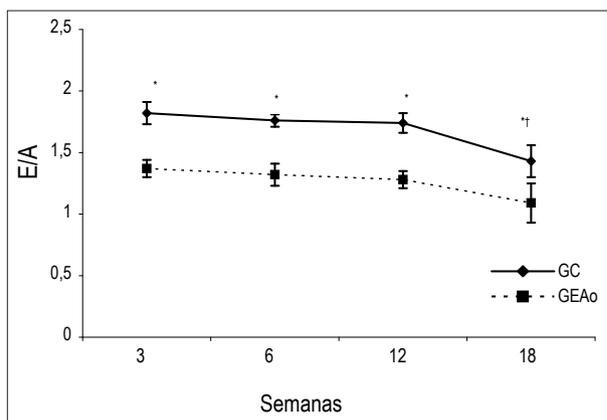


Fig. 3 - Comportamiento de la relación E/A durante el período de evaluación. GC - grupo control (n=10); GEAO - grupo estenosis aórtica (n=11). \*: vs GC; †: vs semana 3; ANOVA y test de Bonferroni;  $p < 0,05$ . Valores en promedio y error estándar.

Los datos estructurales del VI, determinados por ECO o post sacrificio, están de acuerdo con un sinnúmero de trabajos que detectaron hipertrofia ventricular en diferentes fases del RC después de la inducción de EAo<sup>4,6,8,11,12</sup>. Valores observados en el DSVI están en desacuerdo con la bibliografía, que no encontró alteración de esta variable en el GEAO después de la 6ª semana de inducción de EAo<sup>4,19</sup>.

El desarrollo de la hipertrofia ventricular izquierda fue una respuesta adaptativa a la elevación de la presión intraventricular a la EAo, ya que el aumento del espesor de la pared y disminución de la cavidad pueden normalizar el estrés parietal y, por consiguiente, la función ventricular. La hipertrofia concéntrica se deriva del aumento del diámetro de los miocitos con poca o ninguna modificación en la longitud celular<sup>26</sup>. Concomitantemente, se observan modificaciones en las proporciones de los componentes intersticiales del miocardio, incluyendo acumulación de colágeno en la musculatura ventricular<sup>27,28</sup>. El estímulo para el RC ocurre por factores mecánicos y bioquímicos que actúan en los receptores, canales iónicos y en las integrinas presentes en la membrana sarcolemal que, activando señalizadores bioquímicos citosólicos, desencadenan aumento de la síntesis de proteínas y alteraciones en la expresión génica<sup>2,12</sup>.

El análisis de la función sistólica del VI mostró mejora de los  $\Delta D$  endo y  $\Delta D$  meso en el GEAO con relación al GC, que se deterioraron durante el proceso de remodelación. La disminución significativa del  $\Delta D$  endo en el GEAO ocurrió a partir de la 12ª semana; la disminución del  $\Delta D$  meso fue significativa en la 18ª (Figuras 1 y 2). A pesar de que estos índices disminuyeron a lo largo del tiempo, éstos se mantuvieron superiores en el GEAO, con excepción de la 18ª semana, en la cual la  $\Delta D$  meso se igualó en los dos grupos. Aunque el DC haya aumentado en los dos grupos entre las 3ª y 18ª semanas, la elevación fue menor en el GEAO que en el GC sólo en la 18ª semana. Otro parámetro que analiza la función de eyección del corazón, pero que toma en consideración el peso corporal, el InC, se mostró igual en ambos grupos. El análisis de los diferentes índices muestra que el más sensible para la detección de la disfunción sistólica fue el  $\Delta D$  endo, que detectó una caída significativa en la 12ª semana. Los otros dos índices detectaron más tardíamente, en la 18ª semana.

No se encontraron trabajos que evaluaran la función sistólica del VI secuencialmente en los mismos períodos analizados en este experimento (3ª, 6ª, 12ª y 18ª semanas). Autores que evaluaron la función cardíaca de ratones con EAo después de la 6ª, 12ª y 18ª semanas encontraron  $\Delta D$  endo supranormal en la 6ª semana y  $\Delta D$  meso disminuido en todos los períodos con relación al GC. Mientras que la  $\Delta D$  endo decreció, la  $\Delta D$  meso permaneció estable entre la 6ª y la 18ª semanas en el GEAO<sup>9</sup>. Otro estudio observando la 6ª, 12ª y 21ª semanas encontró una caída en el porcentaje de acortamiento en la 21ª semana<sup>9</sup>.

La mejora de la función sistólica en el GEAO con relación al GC debe estar relacionada al desarrollo de la hipertrofia concéntrica, normalización de la tensión sistólica y mantenimiento de los límites fisiológicos del consumo de oxígeno de las fibras miocárdicas<sup>2,16,19, 29</sup>. La pérdida progresiva de la función sistólica puede estar relacionada: 1) a la remodelación geométrica adverso de la cavidad<sup>30,31</sup>; 2) a

alteraciones de la composición del miocardio, como aumento de la matriz extracelular y disminución del número de miocitos, por necrosis o apoptosis<sup>16,31</sup>; 3) al compromiso de la contractilidad<sup>32</sup> o 4) a la combinación de estos factores<sup>2,19,28</sup>.

La evaluación del desempeño diastólico mostró la ocurrencia de disfunción precoz en el GEAO con relación al GC. A partir de la 3ª semana después de la inducción de la EAo, en el grupo con sobrecarga presórica ocurrió un aumento de la onda A, reducción de la relación E/A y del tiempo de desaceleración de la onda E (Tabla 4 y Figura 3). Este dato muestra que la caída de la función diastólica precede a la sistólica, que ocurrió en la 12ª semana.

No se encontraron experimentos que observaran la función diastólica en los períodos evaluados en esta investigación. Litwin et al<sup>8</sup> encontraron en el GEAO aumento de la onda E en las 6ª, 12ª y 18ª semanas y disminución de la onda A en la 18ª semana, al compararlo con el GC. La relación E/A fue mayor en el GEAO que en el GC en las 12ª y 18ª semanas. Los autores concluyen que la EAo promovió una disfunción diastólica del tipo restrictiva a partir de la 6ª semana. Ribeiro et al<sup>9</sup> verificaron aumento de la relación E/A a partir de la 12ª semana en animales con EAo. El análisis comparativo entre los trabajos de la bibliografía y este experimento muestra que, aunque en ambos la disfunción diastólica fuera un hecho consistente y precoz, el comportamiento de la relación E/A fue diferente. Mientras en esta investigación la relación E/A disminuyó, los otros autores encontraron aumento de esta variable. Esta discrepancia de resultados tal vez se deba a dificultades técnicas en la obtención de buenas imágenes para análisis de efecto Doppler y a la alta frecuencia cardíaca de estos animales, que funde las ondas E y A dificultando la mensuración de la función diastólica<sup>33,34</sup>.

A pesar de la diferencia de los valores de la relación E/A con la bibliografía, el diámetro del AI, aisladamente, se mostró aumentado a partir de la 6ª semana, y al normalizarlo por el peso corporal, se presentó superior al GC desde la 3ª semana; la relación AI/AO indicó tendencia a ser mayor en el GEAO a partir de la 3ª semana ( $0,07 < p < 0,13$ ). Por lo tanto, la remodelación del AI en la 3ª o 6ª semana refleja disfunción diastólica del VI, desde que el desempeño sistólico se mostró mejorado en el GEAO con relación al GC en estos dos momentos. Estos datos están de acuerdo con otros autores<sup>4,11</sup> que constataron aumento de esta variable.

El deterioro de la función diastólica observada en este estudio puede estar relacionado con las alteraciones de las propiedades elásticas y a disturbios en el manejo del calcio intracelular. Estudios experimentales asociaron el aumento de la rigidez miocárdica en la EAo a la elevación de la deposición de las fibras colágenas<sup>29,35</sup>. Las alteraciones de las proteínas

relativas a la recaptura del calcio intracelular, principalmente la bomba de calcio del retículo sarcoplasmático, también se han relacionado con la caída del desempeño diastólico en la EAo<sup>29</sup>.

El estudio de la función diastólica del VI es de gran importancia, teniendo en vista que las alteraciones en el llenado de esta cavidad pueden anteceder a la disfunción sistólica<sup>36</sup>. Actualmente, la forma más viable y factible de evaluación de la función diastólica es el análisis de las velocidades del flujo transmitral, durante la fase inicial del llenado diastólico del ventrículo izquierdo, representado por la onda E, y del llenado ventricular durante la contracción atrial, expresada por la onda A. De la misma forma, se pueden obtener valores referentes a la relación E/A, al tiempo de desaceleración de la onda E y al tiempo de relajación isovolumétrica (TRIV)<sup>25</sup>. La observación de valores menores de onda E y de la relación E/A, cuando se comparan con el grupo contro, sugiere la presencia de disfunción diastólica<sup>37</sup>. Otra forma de determinación de la severidad de la disfunción diastólica es la evaluación del atrio izquierdo por ecocardiografía<sup>38</sup>. Durante la diástole ventricular, el AI está expuesto directamente a presiones intraventriculares por medio de la válvula mitral abierta. Las eventuales elevaciones de presiones de llenado ventricular conllevan un aumento del volumen y de la presión atrial<sup>38</sup> y consiguiente remodelación atrial.

## Conclusión

Se concluye, después del examen de los datos de este trabajo, que: 1) el ventrículo izquierdo de los ratones con EAo, durante el proceso de remodelación, presenta hipertrofia concéntrica, disfunción diastólica precoz y mejora de la función sistólica, con posterior deterioro del desempeño; 2) los índices ecocardiográficos más sensibles para la detección de la disfunción diastólica y sistólica son, respectivamente, la relación E/A y el porcentaje de acortamiento endocárdico.

## Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

## Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

## Vinculación Académica

Este artículo forma parte de la tesis de Maestría de Olga de Castro Mendes del Departamento de Clínica Médica de la Facultad de Medicina de Botucatu.

## Referências

1. Cohn JN, Ferrarri R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35: 562-82.
2. Cicogna AC, Okoshi MP, Okoshi K. História natural da remodelação

miocárdica: da agressão aos sintomas. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 2000; 10: 8-16.

3. Olivetti G, Cigola E, Maestri R, Lagrasta C, Corradi D, Quaini F. Recent advances in cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res*. 2000; 45: 68-75.

4. Gonçalves G, Zornoff LAM, Ribeiro HB, Okoshi MP, Cordaro FRS, Okoshi K, et al. O bloqueio do sistema renina-angiotensina atenua a remodelação cardíaca de ratos submetidos a estenose aórtica. *Arq Bras Cardiol.* 2005; 84: 304-8.
5. Kaplan NM. Systemic hypertension: mechanisms and diagnosis. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P. eds. *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine.* Philadelphia: Saunders Company; 2001 p. 941-71.
6. Weinberg EO, Schoen FJ, George D, Kagaya Y, Douglas PS, Litwin SE, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure with pressure overload hypertrophy due ascending aortic stenosis. *Circulation.* 1994; 90: 1410-22.
7. Bruckschlegel G, Holmer SR, Jandeleit K, Grimm D, Muders F, Kromer EP, et al. Blockade of the renin-angiotensin system in cardiac pressure-overload hypertrophy in rats. *Hypertension.* 1995 ;25: 250-9.
8. Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell HB, Aurigemma GP, Douglas PS, et al. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure overload hypertrophy chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation.* 1995; 91: 2642-54.
9. Ribeiro HB, Okoshi K, Cicogna AC, Bregagnollo EA, Rodrigues MAM, Padovani CR, et al. Estudo evolutivo da morfologia e função cardíaca em ratos submetidos a estenose aórtica supra-avalvar. *Arq Bras Cardiol.* 2003; 81: 562-8.
10. Moreira VO, Castro AVB, Yaegaschi MY, Cicogna AC, Okoshi MP, Pereira CA, et al. Critérios ecocardiográficos para definição de graus de disfunção ventricular em ratos portadores de estenose aórtica. *Arq Bras Cardiol.* 2006; 86: 432-8.
11. Mestrinel MA. Avaliação morfológica, bioquímica e funcional do remodelamento cardíaco desencadeado por sobrecarga pressórica em ratos com e sem insuficiência cardíaca congestiva. [dissertação]. Botucatu: Faculdade Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2003.
12. Okoshi K, Ribeiro HB, Okoshi MP, Matsubara BB, Gonçalves G, Barros R, et al. Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy. *Jpn Heart J.* 2004; 45: 647-56.
13. Bregagnollo EA, Okoshi K, Bregagnollo IF, Okoshi MP, Padovani CR, Cicogna AC. Effects of the prolonged inhibition of the angiotensin-converting enzyme on the morphological and functional characteristics of left ventricular hypertrophy in rats with persistent pressure overload. *Arq Bras Cardiol.* 2005; 84: 225-32.
14. Bregagnollo EA, Zornoff LAM, Okoshi K, Sugizaki M, Mestrinel MA, Padovani CR, et al. Myocardial contractile dysfunction contributes to the development of heart failure in rats with aortic stenosis. *Int J Cardiol.* 2006; 113: 188-93.
15. Momken I, Kahapip J, Bahi L, Badoual T, Hittinger I, Ventura-Clapier R, et al. Does angiotensin-converting enzyme inhibition improve the energetic status cardiac and skeletal muscles in heart failure induced by aortic stenosis in rats? *J Mol Cell Cardiol.* 2003; 33: 399-407.
16. Boluyt MO, O'Neil L, Meredith AL, Bing OHL, Brooks WW, Conrad CH, et al. Alterations in cardiac gene expression during the transition from stable hypertrophy to heart failure: marked upregulation of genes encoding extracellular matrix proteins. *Circ Res.* 1994;75:23-32.
17. Zar JH. *Biostatistical analysis.* 4th ed. New York: Prentice-Hall; 1995.
18. Tanaka N, Dalton N, Mao L, Rockman HA, Peterson KL, Gottshall KR, et al. Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. *Circulation.* 1996; 94: 1109-17.
19. Cantor EJ, Babick AP, Vasanji Z, Dhalla NS, Netticadan T. A comparative serial echocardiographic analysis of cardiac structure and function in rats subjected to pressure or volume overload. *J Mol Cell Cardiol.* 2005; 38: 777-86.
20. Paiva SAR, Zornoff LAM, Okoshi MP, Okoshi K, Matsubara LS, Matsubara BB, et al. Ventricular remodeling induced by retinoic acid supplementation in adult rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 284: H2242-6.
21. Bregagnollo EA, Mestrinel MA, Okoshi K, Carvalho FC, Bregagnollo IF, Padovani CR, et al. Papel relativo da remodelação geométrica do ventrículo esquerdo, morfológica e funcional do miocárdio na transição da hipertrofia compensada para a falência cardíaca em ratos com estenose aórtica supra-avalvar. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 88: 225-33.
22. Satoh S, Ueda Y, Suematsu N, Oyama J, Kadokami T, Sugano M, et al. Beneficial effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on sarcoplasmic reticulum function in the failing heart of the Dahl rat. *Circ J.* 2003; 67: 705-11.
23. Ono K, Masuyama T, Yamamoto K, Doi R, Sakata Y, Nishikawa N, et al. Echo Doppler assessment of left ventricular function in rats with hypertensive hypertrophy. *J Am Soc Echocardiogr.* 2002; 15: 109-17.
24. Saha DC, Saha AC, Malik G, Astiz ME, Rackow EC. Comparison of cardiovascular effects of tiletamine-zolazepam, pentobarbital, and ketamine-xylazine in male rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2007; 46: 74-80.
25. Yang X, Liu Y, Rhaleb N, Kurihara N, Kim HE, Carretero, OA. Echocardiographic assessment of cardiac function in conscious and anesthetized mice. *Am J Physiol Heart Cir Physiol.* 1999; 277: 1967-74.
26. Rakusan K. Left ventricular hypertrophy alterations in myocyte number, size, shape and structure. In: Scheridan DJ. (ed.) *Left ventricular hypertrophy.* London: Churchill Livingstone; 1998. p. 23-8.
27. Buccino RA, Haris S, Spann JF. Response of myocardial tissue to development of experimental hypertrophy. *Am J Physiol.* 1969; 216: 425-8.
28. Weber KT, Pick R, Jalil JE, Janicki JS, Carroll EP. Patterns of myocardial fibrosis. *J Mol Cell Cardiol.* 1989; 21: 121-31.
29. Boluyt MO, Robinson KG, Meredith AL, Sem S, Lakatta EG, Crow MT, et al. Heart failure after long-term supra-avalvar aortic constriction in rats. *Am J Hypertens.* 2005; 18: 202-12.
30. Norton GR, Woodiwiss AJ, Gaash WH, Mela T, Chung ES, Aurigemma GP, et al. Heart failure in pressure overload hypertrophy: the relative roles of ventricular remodeling and myocardial dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39: 664-71.
31. Mann DL. Mechanism and models in heart failure: a combinatorial approach. *Circulation.* 1999; 100: 999-1008.
32. Houser SR, Margulies KB. Is depressed myocyte contractile centrally involved in heart failure? *Circ Res.* 2003; 92: 350-8.
33. Pritchett AM, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Rodeheffer RJ, Bailey KR, Redfield MM. Left atrial volume as an index of left atrial size: a population-based study. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 41: 1036-43.
34. Gelape CL, Sanches MD, Torres RM, Couto CA, Paixão PC, Melo JRC. Análise ecocardiográfica da função diastólica do ventrículo esquerdo após infarto do miocárdio em ratos. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2005; 20: 63-8.
35. Jalil JE, Christian WD, Janicki JS, Pick R, Shroff SC, Weber KT. Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res.* 1989; 64: 1041-50.
36. Jessup M, Brozena S. Heart failure. *N Engl J Med.* 2003; 348: 2007-18.
37. Mady C, Salemi VMC, Ianni BM, Ramires FJA, Arteaga E. Capacidade funcional máxima, fração de ejeção e classe funcional na cardiomiopatia chagásica: existe relação entre estes índices? *Arq Bras Cardiol.* 2005; 84: 152-5.
38. Sousa ACS. Volume atrial esquerdo como índice da função diastólica. *Arq Bras Cardiol.* 2006; 87: e27-e33.