

Remodelamento Cardíaco: Análise Seriada e Índices de Detecção Precoce de Disfunção Ventricular

Cardiac Remodeling: Serial Analysis and Indexes for Early Detection of Ventricular Dysfunction

Olga de Castro Mendes^{1,2}, Dijon Henrique S. de Campos¹, Ricardo Luiz Damatto¹, Mário Mateus Sugizaki^{1,2}, Carlos Roberto Padovani¹, Katashi Okoshi¹, Antônio Carlos Cicogna¹

Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina FMB – UNESP¹, Botucatu, Faculdades Integradas de Bauru², Bauru, SP, Brasil

Resumo

Fundamento: A estenose aórtica supravalvar (EAO) é utilizada para o estudo da remodelação cardíaca (RC) por sobrecarga pressórica. Nesse modelo, não estão claramente estabelecidos o comportamento da RC desde a fase inicial, nem os melhores parâmetros para a identificação da disfunção ventricular.

Objetivos: 1) Caracterizar, precoce e evolutivamente, as modificações morfofuncionais durante a RC em ratos com EAO e 2) identificar o índice mais sensível para detecção do momento do aparecimento da disfunção diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo (VE).

Métodos: Ratos Wistar foram divididos em dois grupos – controle (GC, n=13) e EAO (GEAO, n=24) – e estudados nas 3^a, 6^a, 12^a e 18^a semanas pós-cirurgia. Os corações foram analisados por meio de ecocardiograma (ECO).

Resultados: Ao final do experimento, as relações do VE, do ventrículo direito e dos átrios com o peso corporal final foram aumentadas no GEAO. O ECO mostrou que o átrio esquerdo sofreu uma remodelação significativa a partir da 6^a semana. No GEAO, a porcentagem de encurtamento endocárdico apresentou queda significativa a partir da 12^a semana e a porcentagem de encurtamento mesocárdico, na 18^a semana. A relação onda E e onda A (E/A) foi superior no GC em comparação ao GEAO em todos os momentos analisados.

Conclusões: O ventrículo esquerdo dos ratos com EAO, durante o processo de remodelação, apresentou hipertrofia concêntrica, disfunção diastólica precoce e melhoria da função sistólica, com posterior deterioração do desempenho. Além disso, constatou-se que os índices ecocardiográficos mais sensíveis para a detecção da disfunção diastólica e sistólica são, respectivamente, a relação E/A e a porcentagem de encurtamento endocárdico. (Arq Bras Cardiol 2010; 94(1) : 62-70)

Palavras-chave: Estenose Aórtica Supravalvar, Remodelação Ventricular, Ecocardiografia, Ratos, Disfunção Ventricular / Medição de Risco.

Abstract

Background: Supravalvar aortic stenosis (SVAS) is used to study overload-induced cardiac remodeling (CR). In this model, neither CR behavior since beginning stage nor the best parameters to identify ventricular dysfunction are clearly stated.

Objective: 1) Characterizing, early and evolutively, morphological and functional modifications during CR in rats with SVAS and 2) identifying the most sensitive index for detecting the moment when the diastolic and systolic dysfunction first appeared in the left ventricle (LV).

Methods: Wistar Rats were divided into two groups – control (CG, n=13) and SVAS (SVASG, n=24) – and studied in post-surgical 3rd, 6th, 12th and 18th weeks. Hearts were analyzed by means of an echocardiogram (ECHO).

Results: By the end of the experiment, ratios between the LV, right ventricle and atria and the final body weight were increased in the SVASG. The ECHO showed that the left atrium underwent significant remodeling from the 6th on. The percent of endocardial shortening underwent significant drop as of the 12nd week and the percent of, as of the 18th week, in the SVASG. The ratio between E-wave and A-wave (E/A) was higher in CG compared to the SVASG in all events analyzed.

Conclusions: During the remodeling process, the left ventricle of rats with SVAS presented concentric hypertrophy, early diastolic dysfunction and improvement of systolic function, with posterior performance deterioration. Besides this, the study found out the most sensitive echocardiographic indexes for detecting systolic and diastolic dysfunction are, respectively, the ratio E/A and the percent of endocardial shortening. (Arq Bras Cardiol 2010; 94(1) : 59-66)

Key Words: Aortic Stenosis, Supravalvular; Ventricular Remodeling; Echocardiography; Rats; Ventricular Dysfunction / Risk Assessment.

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

Correspondência: 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

Artigo recebido em 05/11/08; revisado recebido em 23/03/09; aceito em 05/06/09

Introdução

Remodelação cardíaca (RC) é uma alteração na expressão gênica em resposta a uma agressão, resultando em mudanças moleculares, celulares e intersticiais miocárdicas, e que se expressa por variações no tamanho, forma e função do coração¹. É também um mecanismo adaptativo à sobrecarga hemodinâmica, permitindo ao coração manter suas funções em vigência de aumento de carga²⁻⁴. É considerado fator de risco para o desenvolvimento de disfunção ventricular e insuficiência cardíaca (IC)⁵.

Diversos modelos experimentais têm sido propostos para o estudo da RC por sobrecarga pressórica, como a estenose aórtica supralvar (EAO) em ratos⁶⁻⁸. Quando a constrição aórtica é realizada em animais jovens, a sobrecarga pressórica inicial é leve, acentuando-se com o crescimento. As vantagens da EAO são: o desenvolvimento gradual de RC, associado, a curto prazo, à melhoria da função sistólica; ausência de severas lesões anatômicas miocárdicas; e baixo custo de manutenção⁹. Em torno da 20ª semana de EAO ocorre a deterioração do desempenho sistólico e IC¹⁰⁻¹³. Esse modelo assemelha-se parcialmente à EAO no homem¹¹.

Experimentos em nosso laboratório, realizados em ratos com EAO, avaliaram aspectos morfofuncionais cardíacos, por meio de ecocardiograma (ECO), em diferentes períodos da RC, constatando função sistólica supranormal na 6ª ou 8ª semana^{4,9,12}, disfunção diastólica a partir da 12ª semana⁹ e deterioração do desempenho sistólico na 21ª semana, sendo incluídos nesta última leva animais com sinais de insuficiência cardíaca⁹. Alguns autores, utilizando avaliação hemodinâmica, verificaram aumento na pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (VE) após a 6ª semana – em contraste, a avaliação da função diastólica por ECO mostrou-se inalterada¹³. Litwin e cols.⁸ avaliando, por meio de ECO, ratos com EAO nas 6ª, 12ª e 18ª semanas, observaram disfunção diastólica a partir da 6ª semana e deterioração no desempenho sistólico na 18ª semana.

A análise dos trabalhos citados mostra controvérsias de resultados e ausência de uma avaliação em um período mais inicial pós-indução de EAO. O objetivo do trabalho foi caracterizar, precoce e evolutivamente, as modificações morfofuncionais durante a RC em ratos com EAO, procurando identificar o índice mais sensível para detecção do momento do aparecimento da disfunção diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo.

Métodos

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, em 19/10/2005, sob nº 506/2005.

Animais e protocolo experimental

Foram utilizados 37 ratos Wistar, machos e jovens, provenientes do Biotério do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UNESP-Botucatu/SP, os quais foram divididos em dois grupos: controle (GC, n=13) e estenose aórtica supralvar (GEAO, n=24). O GEAO foi submetido à cirurgia com implantação de um clipe na artéria

aorta para a indução da EAO. O GC foi submetido à mesma cirurgia, porém sem a colocação do clipe. Foram mantidos cinco animais por caixa, em temperatura ambiente de 23°C, com ciclos de luminosidade de 12 horas, alimentados com ração padrão Purina® e água *ad libitum*.

Os animais foram estudados nas 3ª, 6ª, 12ª e 18ª semanas após a cirurgia. Esses períodos são adequados para a observação de alterações morfofuncionais em ratos com EAO e antecedem a instalação da IC, que ocorre em torno da 20ª semana^{9,10,13}.

No final do experimento, procurou-se identificar sinais de IC, sendo considerado critério de exclusão a presença de taquipneia associada a um dos seguintes sinais: edema, ascite, derrame pleuropericárdico, trombo em átrio esquerdo (AE) e hipertrofia do ventrículo direito (VD)¹⁴.

Ao final da 18ª semana, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico intraperitoneal (50 mg/kg) e decapitados, realizando-se então a análise morfológica cardíaca.

Indução de estenose aórtica supralvar

A EAO foi induzida de acordo com o método utilizado em nosso laboratório^{4,12}. Os animais, pesando de 70 a 90 g, após anestesia com cloridrato de ketamina (60 mg/kg) e cloridrato de xylazina (10 mg/kg) intraperitoneal, foram submetidos à toracotomia mediana. A aorta ascendente foi dissecada e um clipe de prata, com 0,6 mm de diâmetro interno, colocado aproximadamente a 3 mm da sua raiz. Os animais do GC foram submetidos à mesma cirurgia, mas sem a colocação do clipe.

Avaliação ecocardiográfica

A função e a estrutura do coração foram analisadas pelo ECO de acordo com metodologia utilizada em nosso laboratório^{4,9,10,14}. Os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina (50 mg/kg) e cloridrato de xylazina (1 mg/kg) por via intraperitoneal. Foi utilizado um ecocardiógrafo (Philips®, modelo HDI 5000) modo-M, equipado com transdutor eletrônico de 12 MHz. Foram avaliados os seguintes parâmetros morfológicos do VE: diâmetros diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE), espessuras diastólicas e sistólicas da parede posterior (EDPP e ESPP) e do septo interventricular (ESIV e ESSIV) e massa (MASSA VE). O índice de massa do VE (IMVE) foi determinado normalizando-se a massa do VE pelo peso corporal (PC). A espessura relativa da parede do VE (ERLVE) foi obtida pela fórmula $(2 \times EDPP) / DDVE$.

A função sistólica do VE foi determinada pela porcentagem de encurtamento endocárdico (ΔD endo) e mesocárdico (ΔD meso), velocidade de encurtamento da parede posterior do VE (VEPP), débito cardíaco (DC) e índice cardíaco (InC). A ΔD meso foi calculada pela fórmula $\{[(DDVE + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} ESIV) - (DSVE + \frac{1}{2} ESPP + \frac{1}{2} ESSIV)] / (DDVE + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} ESIV)\}$; a VEPP foi determinada pela tangente máxima do movimento sistólico da parede posterior; o DC pela fórmula $[(DDVE^3 - DSVE^3) \times \text{frequência cardíaca}]$; e o InC pela relação do DC com o PC.

A função diastólica foi avaliada pelas ondas E e A, relação entre ondas E e onda A (E/A), tempos de desaceleração da onda E (TDE) e de relaxamento isovolumétrico do VE (TRIV)^{15,16}.

Análise morfológica

As variáveis morfológicas para caracterizar os animais foram: pesos corporais finais (PCF) do VE, do VD, dos átrios (ATs) e as relações VE/PCF, VD/PCF e ATs/PCF.

Análise estatística

Os parâmetros morfológicos foram analisados pelo teste t de Student, quando a variável mostrou-se aderente à distribuição normal de probabilidade, e pelo teste de Mann-Whitney, quando esta característica estava ausente. Para comparações dos grupos no processo evolutivo, utilizou-se o método de análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas em dois grupos independentes, complementado pelo procedimento de comparação múltipla de Bonferroni. Para a variável onda A, o procedimento estatístico considerou a técnica não paramétrica; para as outras variáveis, considerou-se a técnica paramétrica¹⁷. Em todos os testes, fixou-se em 5% ($p < 0,05$) o nível de significância. Os gráficos apresentam os resultados em média e erro padrão. Os cálculos estatísticos foram realizados com o auxílio do pacote estatístico SigmaStat 3.5 for Windows version (Copyright® 2006, Systat Software Inc.).

Resultados

Ao final do experimento, dos 24 ratos do GEAO 10 morreram (41,6%) e 2 apresentaram IC (14,28%), sendo excluídos do estudo. No GC, ocorreram 2 mortes (15,4%). Assim, os grupos estudados foram constituídos de 11 animais no GC e 12 no GEAO. A mortalidade observada está de acordo com outros autores que constatarem taxas variando de 30 a 49%^{5,7,12,13}.

Características gerais

O peso inicial dos ratos não diferiu, sendo 82 ± 5 g para o GC e 85 ± 5 g para o GEAO. A análise evolutiva do peso corporal mostrou que o GC foi maior do que o GEAO somente na 12ª semana, com tendência à superioridade na 18ª semana ($p = 0,07$). As características gerais dos animais ao final do experimento estão expostas na Tabela 1. O peso do VE e dos ATs e as relações VE/PCF, VD/PCF e A/PCF foram aumentados no GEAO.

Avaliação ecocardiográfica dos parâmetros estruturais do coração

A Tabela 2 apresenta a avaliação sequencial estrutural do coração pelo ECO. O IMVE diminuiu nos animais do GC nas 12ª e 18ª semanas, em comparação à 3ª semana, e não se alterou no GEAO. O índice foi maior no GEAO em relação ao GC a partir da 6ª semana, embora na 3ª semana já houvesse uma tendência a estar aumentada no GEAO ($p = 0,058$). O DDVE foi igual nas 6ª, 12ª e 18ª semanas, superiores à 3ª semana em ambos os grupos. Essa variável foi menor no GEAO, quando comparada ao GC. A relação DDVE/PC no GC e no GEAO foi maior na 3ª semana em relação às demais semanas, sendo as 12ª e 18ª semanas inferiores à 6ª semana. Não houve diferença entre os grupos. O DSVE foi superior nas 6ª e 12ª semanas em relação à 3ª no GC. No GEAO, o DSVE aumentou nas 6ª, 12ª e 18ª semanas em relação à 3ª,

Tabela 1 - Características gerais dos ratos no final do período experimental

VARIÁVEL	GRUPO	
	GC (n=11)	GEAO (n=12)
PCF (g)	492±69	453±52
VE (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*
VE/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 em média±desvio padrão. GC - grupo controle; GEAO - grupo estenose aórtica; PCF - peso corporal final; VE - ventrículo esquerdo; VD - ventrículo direito; ATs - átrios; n: número de animais. Teste t de Student para amostras independentes; * $p < 0,05$ vs GC.

sendo a 18ª diferente da 6ª semana. O DSVE foi menor no GEAO em relação ao GC.

As EDPP e EDSIV não se alteraram no GC durante o período experimental; aumentaram nos momentos 12 e 18 em relação aos momentos 3 e 6 nos animais do GEAO. Esses parâmetros foram superiores no GEAO em relação ao GC em todos os momentos. A ErelVE não se alterou no GC; a 18ª semana diferiu da 6ª semana no GEAO. Essa variável foi maior no GEAO do que o GC em todas as semanas. Não houve variação do AE no GC, embora houvesse uma tendência a ser maior nas 12ª ($p = 0,075$) e 18ª ($p = 0,063$) semanas em relação à 3ª semana; no GEAO, o AE foi maior a partir da semana 6, não sofrendo posterior variação. O AE apresentou valores mais elevados no GEAO do que no GC a partir da 6ª semana. A relação AE/PC foi inferior nas 6ª, 12ª e 18ª semanas – menores que a semana 6 em ambos os grupos quando comparadas à 3ª e às 12ª e 18ª semanas. Essa relação foi maior no GEAO que no GC em todos os períodos. O AO no GC nas 6ª e 12ª semanas foi diferente da 3ª semana. A 18ª semana diferiu de todas as anteriores. No GEAO, as 6ª, 12ª e 18ª semanas foram superiores à 3ª semana. Essa variável foi menor no GEAO em relação ao GC na 18ª semana. Não houve variação na relação AE/AO entre os diferentes momentos em ambos os grupos. Embora o grupo GEAO tenha apresentado aumento do AE/AO em relação ao GC, somente na 18ª semana houve uma tendência dos valores do GEAO serem maiores que o GC ($0,07 > p < 0,13$). Os dados absolutos e relativos do AE mostram que essa câmara sofreu uma remodelação significativa a partir da 6ª semana.

Avaliação ecocardiográfica das funções sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo

Nas Tabelas 3 e 4 são descritos, respectivamente, a FC e os parâmetros da avaliação funcional sistólica e diastólica do VE. Não foram observadas diferenças na FC entre grupos e momentos. Não houve diferença no ΔD endo e meso em função do tempo no GC. No GEAO, a ΔD endo da 12ª semana

Tabela 2 – Avaliação ecocardiográfica dos parâmetros estruturais do coração

VARIÁVEL	GRUPO	PERÍODO DE AVALIAÇÃO (semanas)			
		3	6	12	18
IMVE (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§
DDVE (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*§
DDVE/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*†
DSVE (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*†§
ERelVE	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†§
AE (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*§
AE/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*§
AE/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 em média±desvio padrão. GC (n=11) - grupo controle; GEAo (n=12) - grupo estenose aórtica; VE - ventrículo esquerdo; IMVE - índice de massa; DDVE e DSVE - diâmetros diastólico e sistólico; PC - peso corporal; EDPP - espessura diastólica da parede posterior; ERelVE - espessura relativa; EDSIV - espessura diastólica do septo interventricular; AO - diâmetro da aorta; AE - diâmetro do átrio esquerdo. Diferenças significativas - *: vs semana 3; †: vs semana 6; ‡: vs semana 12; §: vs GC; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; p<0,05.

foi menor que a da 3ª e maior do que a da 18ª semana, menor que a 3ª e a 6ª semanas. A ΔD meso no GEAo foi menor na 18ª semana em relação à 3ª e 6ª. As ΔD endo e meso foram maiores no GEAo do que no GC em todos os momentos, com exceção da 18ª semana, em que o ΔD meso foi igual em ambos os grupos (Tabela 3). Nas Figuras 1 e 2, pode-se visualizar que, enquanto a ΔD endo e meso não se alteraram no GC, no GEAo houve uma queda desses índices durante a evolução do processo, tornando-se significativos a partir da 12ª semana no ΔD endo e na 18ª no ΔD meso.

A VEPP, quando avaliada intragrupo, mostrou-se significativamente maior na 18ª semana em relação às 3ª e 6ª semanas no GC, e não alterada no GEAo. Houve redução do VEPP no GEAo em relação ao GC na 18ª semana. O DC

aumentou nas 12ª e 18ª semanas em relação à 3ª no GC, com tendência a ser superior na 6ª semana em relação à 3ª (p=0,083). No GEAo, as 6ª, 12ª e 18ª semanas foram superiores à 3ª. Houve diferença no DC entre grupos somente na 18ª semana, sendo menor no GEAo. O InC diminuiu na 12ª e 18ª semanas no GC em relação às semanas anteriores. No GEAo, a 18ª semana foi menor que as 3ª e 6ª semanas. Houve uma tendência da 12ª semana ser menor que a 6ª semana (p=0,069). Não houve diferença entre os grupos (Tabela 3).

No GC e GEAo (Tabela 4), as ondas E e A não apresentaram alterações nos diferentes períodos de avaliação. Enquanto a onda E foi igual intergrupos, a onda A foi maior no GEAo do que no GC em todos os períodos. A relação E/A apresentou diminuição no GC na 18ª semana em relação à 3ª, com

Tabela 3 – Avaliação ecocardiográfica da função sistólica do ventrículo esquerdo

VARIÁVEL	GRUPO	PERÍODO DE AVALIAÇÃO (semanas)			
		3	6	12	18
FC (bpm)	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*§
InC (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 em média±desvio padrão. GC (n=11) - grupo controle; GEAo (n=12) - grupo estenose aórtica; FC - frequência cardíaca; VE - ventrículo esquerdo; ΔD endo - porcentagem de encurtamento endocárdico; ΔD meso - porcentagem de encurtamento mesocárdico; VEPP - velocidade de encurtamento da parede posterior; DC - débito cardíaco; InC - índice cardíaco. Diferenças significativas - *: vs semana 3; †: vs semana 6; §: vs GC; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; p<0,05.

Tabela 4 - Avaliação ecocardiográfica da função diastólica do ventrículo esquerdo

VARIÁVEL	GRUPO	PERÍODO DE AVALIAÇÃO (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 A ^o (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 em média±desvio padrão; GC (n=11) - grupo controle; GEAo (n=12) - grupo estenose aórtica; E/A - razão entre picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral; TRIV - tempo de relaxamento isovolumétrico do VE; TDE - tempo de desaceleração da onda E. Diferenças significativas - *: vs semana 3; †: vs semana 6; §: vs GC; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; a mediana±semi-amplitude total, Friedman para medidas repetidas e Mann-Whitney; p<0,05.

tendência a ser menor na 18ª semana em relação às 6ª (p=0,067) e 12ª (p=0,095) semanas. No GEAo, não houve diferença entre os momentos, com tendência à diferença entre as 3ª e 18ª semanas (p=0,10). A relação E/A mostrou-se superior no GC nos diferentes momentos avaliados (Tabela 4 e Figura 3). O TRIV foi semelhante no GC em todos os

momentos. No GEAo, foi maior na 18ª semana em relação à 3ª e 6ª. Não houve diferença entre os grupos. O TDE foi semelhante no GC. No GEAo, houve tendência à diferença entre as 6ª e 18ª semanas (p=0,058) e 12ª e 18ª semanas (p=0,063). O TDE foi menor no GEAo nos momentos 3, 12 e 18 em relação ao GC.

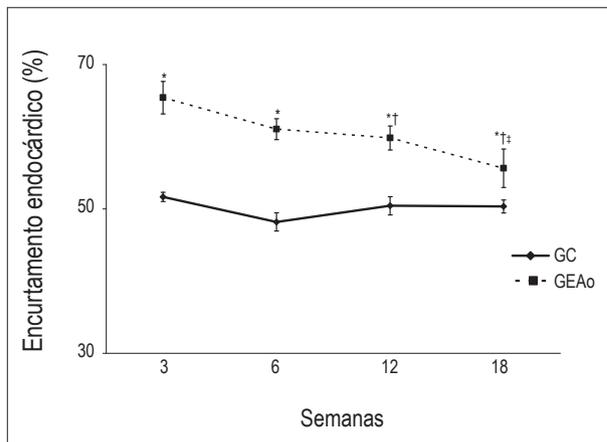


Fig. 1 - Comportamento da porcentagem de encurtamento endocárdico (ΔD endo) durante o período de avaliação. GC: grupo controle; GEAO: grupo estenose aórtica. *: vs GC; †: vs semana 3; ‡: vs semana 6; ANOVA e teste de Bonferroni; $p < 0,05$. Valores em média e erro padrão.

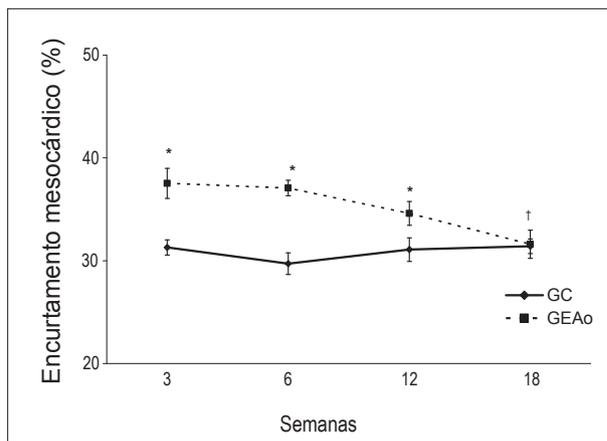


Fig. 2 - Comportamento da porcentagem de encurtamento mesocárdico (ΔD meso) durante o período de avaliação. GC: grupo controle; GEAO: grupo estenose aórtica. *: vs GC; †: vs semana 3 e 6; ANOVA e teste de Bonferroni; $p < 0,05$. Valores em média e erro padrão.

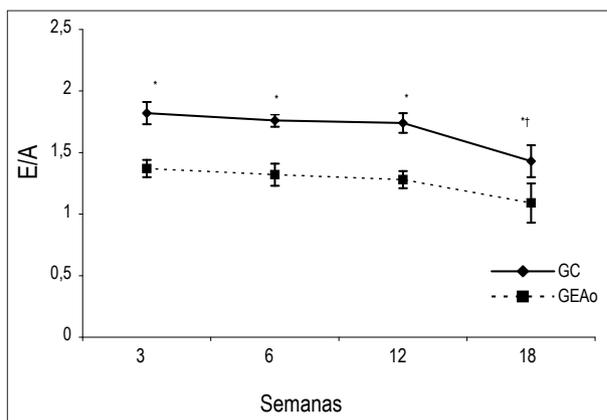


Fig. 3 - Comportamento da relação E/A durante o período de avaliação. GC: grupo controle ($n=10$); GEAO: grupo estenose aórtica ($n=11$). *: vs GC; †: vs semana 3; ANOVA e teste de Bonferroni; $p < 0,05$. Valores em média e erro padrão.

Discussão

Neste estudo foram avaliadas a morfologia e a função cardíaca durante o processo de remodelação em ratos submetidos à EAo. O remodelamento que ocorre frente a essa agressão pode acarretar disfunção ventricular. O principal critério para o diagnóstico dessa alteração funcional, em estudos experimentais, tem sido o nível da pressão final diastólica do VE, avaliado por método hemodinâmico¹⁸. Entretanto, a sua determinação requer um processo invasivo, fato que prejudica estudos longitudinais. Além disso, a cateterização do VE pode causar danos à valva aórtica ou afetar a performance cardíaca¹⁹.

O ECO representa uma alternativa para o estudo da função ventricular e pode oferecer importantes informações sobre desempenho cardíaco em roedores¹⁹. Ele permite avaliar a morfologia e a função cardíaca^{8,19-21}, a evolução da disfunção ventricular causada por diferentes tipos de agressão²² e os efeitos de diferentes intervenções^{13,23}. É um método versátil, seguro, indolor, não invasivo e importante para análises seriais *in vivo*²⁴.

Os resultados ecocardiográficos neste estudo mostram importantes alterações estruturais do VE durante o processo da evolução da remodelação²⁵. O IMVE decresceu no GC a partir da 12ª semana em razão do aumento do peso corporal dos ratos; no GEAO o IMVE manteve-se estável. Como esse parâmetro não é diretamente proporcional ao peso corporal, em situação de perda e ganho de peso corporal os valores normalizados estarão aumentados ou diminuídos, respectivamente. Vários parâmetros indicadores de hipertrofia, como EDPP, EDSIV e EReLVE, apresentaram-se alterados a partir da 3ª semana e o IMVE após a 6ª semana. A análise da EReLVE indicou que a EAo acarretou, precocemente, hipertrofia concêntrica do VE, mantida até o final do experimento. A remodelação ventricular esquerda pelo ECO foi confirmada pela avaliação estrutural cardíaca após o sacrifício dos ratos (Tabela 1).

Além da hipertrofia ventricular esquerda, os resultados mostram que os ratos do GEAO, no momento do sacrifício, apresentavam uma hipertrofia do ventrículo direito avaliada pela relação VD/PC. Apesar do diagnóstico de insuficiência cardíaca, nesse experimento, ter sido feito pela associação de dois sinais clínico-morfológicos, descritos anteriormente, o encontro isolado do aumento nesta relação não significa que os ratos do GEAO estariam com insuficiência cardíaca. Entretanto, os aumentos do peso atrial e da sua relação com o peso corporal mostram que os ratos, no momento do sacrifício, apresentavam disfunção ventricular esquerda.

Os dados estruturais do VE, determinados por ECO ou pós-sacrifício, estão de acordo com inúmeros trabalhos que detectaram hipertrofia ventricular em diferentes fases da RC pós-indução de EAo^{4,6,8,11,12}. Valores observados no DSVE são discordantes da literatura, que não encontrou alteração dessa variável no GEAO após a 6ª semana de indução de EAo^{4,19}.

O desenvolvimento da hipertrofia ventricular esquerda foi uma resposta adaptativa à elevação da pressão intraventricular à EAo, já que o aumento da espessura da parede e diminuição da cavidade podem normalizar o estresse parietal

e, conseqüentemente, a função ventricular. A hipertrofia concêntrica é decorrente do aumento do diâmetro dos miócitos com pouca ou nenhuma modificação no comprimento celular²⁶. Concomitantemente, observam-se modificações nas proporções dos componentes intersticiais do miocárdio, incluindo acúmulo de colágeno na musculatura ventricular^{27,28}. O estímulo para a RC ocorre por fatores mecânicos e bioquímicos que agem nos receptores, canais iônicos e nas integrinas presentes na membrana sarcolemal que, ativando sinalizadores bioquímicos citosólicos, desencadeiam aumento da síntese de proteínas e alterações na expressão gênica^{2,12}.

A análise da função sistólica do VE mostrou melhoria dos ΔD endo e ΔD meso no GEAO em relação ao GC, que se deterioraram durante o processo de remodelação. A queda significativa do ΔD endo no GEAO ocorreu a partir da 12ª semana; o decréscimo do ΔD meso foi significativo na 18ª (Figuras 1 e 2). Apesar desses índices decrescerem ao longo do tempo, eles mantiveram-se superiores no GEAO, com exceção da 18ª semana, na qual a ΔD meso igualou-se nos dois grupos. Embora o DC tenha aumentado nos dois grupos entre as 3ª e 18ª semanas, a elevação foi menor no GEAO do que no GC somente na 18ª semana. Outro parâmetro que analisa a função de ejeção do coração, mas que leva em consideração o peso corporal, o InC, mostrou-se igual em ambos os grupos. A análise dos diferentes índices mostra que o mais sensível para a detecção da disfunção sistólica foi o ΔD endo, que detectou uma queda significativa na 12ª semana. Os outros dois índices detectaram mais tardiamente, na 18ª semana.

Não foram encontrados trabalhos que avaliassem a função sistólica do VE sequencialmente nos mesmos períodos analisados nesse experimento (3ª, 6ª, 12ª e 18ª semanas). Autores avaliando a função cardíaca de ratos com EAO pós 6ª, 12ª e 18ª semanas encontraram ΔD endo supranormal na 6ª semana e ΔD meso diminuído em todos os períodos em relação ao GC. Enquanto a ΔD endo decresceu, a ΔD meso permaneceu estável entre a 6ª e a 18ª semanas no GEAO⁸. Outro estudo observando a 6ª, 12ª e 21ª semanas encontrou queda na porcentagem de encurtamento na 21ª semana⁹.

A melhoria da função sistólica no GEAO em relação ao GC deve estar relacionada ao desenvolvimento da hipertrofia concêntrica, normalização da tensão sistólica e manutenção dos limites fisiológicos do consumo de oxigênio das fibras miocárdicas^{2,16,19,29}. A perda progressiva da função sistólica pode estar relacionada: 1) ao remodelamento geométrico adverso da cavidade^{30,31}; 2) a alterações da composição do miocárdio, como aumento da matriz extracelular e diminuição do número de miócitos, por necrose ou apoptose^{16,31}; 3) ao comprometimento da contratilidade³² ou 4) à combinação destes fatores^{2,19,28}.

A avaliação do desempenho diastólico mostrou a ocorrência de disfunção precoce no GEAO em relação ao GC. A partir da 3ª semana pós-indução de EAO, no grupo com sobrecarga pressórica ocorreu aumento da onda E, redução da relação E/A e do tempo de desaceleração da onda E (Tabela 4 e Figura 3). Esse dado mostra que a queda da função diastólica precede a sistólica, que ocorreu na 12ª semana.

Não foram encontrados experimentos que observassem a função diastólica nos períodos avaliados nesta pesquisa. Litwin e cols.⁸ encontraram no GEAO aumento da onda E nas 6ª, 12ª e 18ª semanas e diminuição da onda A na 18ª semana, quando comparado com o GC. A relação E/A foi maior no GEAO do que no GC nas 12ª e 18ª semanas. Os autores concluem que a EAO promoveu uma disfunção diastólica do tipo restritiva a partir da 6ª semana. Ribeiro e cols.⁹ verificaram aumento da relação E/A a partir da 12ª semana em animais com EAO. A análise comparativa entre os trabalhos da literatura e este experimento mostra que, embora em ambos a disfunção diastólica fosse um fato consistente e precoce, o comportamento da relação E/A foi diferente. Enquanto nessa pesquisa a relação E/A diminuiu, os outros autores encontraram aumento desta variável. Essa discrepância de resultados talvez se deva a dificuldades técnicas na obtenção de boas imagens para análise do efeito Doppler e à alta frequência cardíaca desses animais, que funde as ondas E e A dificultando a mensuração da função diastólica^{33,34}.

Apesar da diferença dos valores da relação E/A com a literatura, o diâmetro do AE, isoladamente, mostrou-se aumentado a partir da 6ª semana e, quando normalizado pelo peso corporal, apresentou-se superior ao GC desde a 3ª semana; a relação AE/AO indicou tendência a ser maior no GEAO a partir da 3ª semana ($0,07 < p > 0,13$). Portanto, a remodelação do AE na 3ª ou 6ª semana reflete disfunção diastólica de VE, desde que o desempenho sistólico mostrou-se melhorado no GEAO em relação ao GC nestes dois momentos. Esses dados estão de acordo com outros autores^{4,11} que constataram aumento dessa variável.

A piora da função diastólica observada neste estudo pode estar relacionada a alterações das propriedades elásticas e a distúrbios no manejo do cálcio intracelular. Estudos experimentais têm associado o aumento da rigidez miocárdica na EAO à elevação da deposição das fibras colágenas^{29,35}. As alterações das proteínas relativas à recaptura de cálcio intracelular, principalmente a bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático, também têm sido relacionadas com a queda do desempenho diastólico na EAO²⁹.

O estudo da função diastólica do VE é de grande importância, tendo em vista que as alterações no enchimento desta cavidade podem anteceder a disfunção sistólica³⁶. Atualmente, a forma mais viável e factível de avaliação da função diastólica é a análise das velocidades do fluxo transmitral, durante a fase inicial do enchimento diastólico do ventrículo esquerdo, representado pela onda E, e do enchimento ventricular durante a contração atrial, expressa pela onda A. Da mesma forma, pode-se obter valores referentes à relação E/A, ao tempo de desaceleração da onda E e ao tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV)²⁵. A observação de valores menores de onda E e da relação E/A, quando comparados com o grupo controle, sugere a presença de disfunção diastólica³⁷. Outra forma de determinação da severidade da disfunção diastólica é a avaliação do átrio esquerdo pela ecocardiografia³⁸. Durante a diástole ventricular, o AE é exposto diretamente às pressões intraventriculares por meio da valva mitral aberta. As eventuais elevações de pressões de enchimento ventricular acarretam

aumento do volume e da pressão atrial³⁸ e consequente remodelamento atrial.

Conclusão

Conclui-se, após o exame dos dados deste trabalho, que: 1) o ventrículo esquerdo dos ratos com EAo, durante o processo de remodelação, apresenta hipertrofia concêntrica, disfunção diastólica precoce e melhoria da função sistólica, com posterior deterioração do desempenho; 2) os índices ecocardiográficos mais sensíveis para a detecção da disfunção diastólica e sistólica são, respectivamente, a relação E/A e a porcentagem de encurtamento endocárdico.

Referências

- 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.
- 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.
- Olivetti G, Cigola E, Maestri R, Lagrasta C, Corradi D, Quaini F. Recent advances in cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res*. 2000; 45: 68-75.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Zar JH. *Biostatistical analysis*. 4th ed. New York: Prentice-Hall; 1995.
- 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.
- Cantor EJ, Babick AP, Vasanji Z, Dhalla NS, Neticadan 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Olga de Castro Mendes pelo Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu.

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 Circ 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 KC, Meredith AL, Sem S, Lakatta EG, Crow MT, et al. Heart failure after long-term supravalvar 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 SG, 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.