

Artigo Original

# Efeitos da Inibição Prolongada da Enzima de Conversão da Angiotensina Sobre as Características Morfológicas e Funcionais da Hipertrofia Ventricular Esquerda em Ratos com Sobrecarga Pressórica Persistente

*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*

Edson Antonio Bregagnollo, Katashi Okoshi, Isamara Fernanda Bregagnollo, Carlos Roberto Padovani, Marina P. Okoshi, Antonio Carlos Cicogna  
Botucatu, SP

## Objetivo

Avaliar os efeitos do lisinopril (L) sobre as taxas de mortes (M), insuficiência cardíaca (ICC), características da remodelação miocárdica, geométrica e funcional do ventrículo esquerdo (VE), em ratos com estenose aórtica supra-avalvar (EAS).

## Métodos

Ratos foram submetidos a EAS ou cirurgia simulada (GC:n=10). Randomizados após 6 semanas para receber L (GL:n=30) ou nenhum tratamento (GE:n=73) sendo avaliados 6s e 21s por estudos ecocardiográfico, hemodinâmico e morfológico concomitantes.

## Resultados

As taxas de M (GE: 53,9% vs GL: 16,7% e ICC GE: 44,8% vs GL: 20%  $p<0,05$ ). No final do experimento, os valores da pressão sistólica do VE dos grupos GE e GL foram equivalentes e significativamente mais elevados do que no grupo GC; ( $p<0,05$ ) não diferindo dos observados 6 semanas após os procedimentos cirúrgicos. Os valores da pressão diastólica do VE no grupo GE foram maiores do que os do grupo GL ( $p<0,05$ ) sendo ambos maiores do que os do grupo GC ( $4 \pm 2$  mmHg,  $p<0,05$ ). O mesmo comportamento foi observado com as variáveis: razão E/A; índice de massa, área seccional dos miócitos e conteúdo de hidroxiprolina do VE. A porcentagem de encurtamento do VE foi semelhante nos grupos GC e GL ( $p>0,05$ ) sendo ambos maiores que os verificados no grupo GE. Comportamento semelhante foram obtidos com os valores da primeira derivada positiva e negativa da pressão do VE.

## Conclusão

Em ratos com EAS o L reduziu as taxas de M e ICC e exerceu efeitos benéficos sobre a remodelação e a função do VE.

## Palavras-chave

hipertrofia cardíaca, hipertensão arterial, inibidores da enzima conversora de angiotensina, lisinopril, função ventricular

## Objective

To assess the effects of lisinopril (L) on mortality (M) rate and congestive heart failure (CHF), and the characteristics of geometrical myocardial remodeling and left ventricular function in rats with supra-avalvular aortic stenosis (SAS).

## Methods

Some Wistar rats underwent SAS or the simulated surgery (CG, n=10). After 6 weeks, the animals were randomized to receive lisinopril (LG, n=30) or no treatment (SG, n=73) for 15 weeks. Cardiac remodeling was assessed in the sixth and 21st weeks after the surgical procedures through concomitant echocardiographic, hemodynamic, and morphological studies.

## Results

The M were 53.9% and 16.7% in SG and LG, respectively; the incidence of CHF was 44.8% and 20%, in SG and LG, respectively, ( $P<0.05$ ). At the end of the experiment, the values of LV systolic pressure in SG and LG were equivalent and significantly greater than those in CG; ( $P<0.05$ ) and did not differ from those observed 6 weeks after the surgical procedures. The values of LV diastolic pressure in SG were greater than those in LG; ( $P<0.05$ ), and both were greater than those in CG; ( $P<0.05$ ). The same behavior was observed with the following variables: E/A ratio; mass index; sectional area of the myocytes; and LV hydroxyproline content. Left ventricular shortening percentage was similar in CG and LG; ( $P>0.05$ ), and both were greater than those in SG; ( $P<0.05$ ). Similar results were obtained with the values of the positive and negative first derivate of LV pressure.

## Conclusion

In rats with SAS, the treatment with L reduced M rate and ICC and had beneficial effects on geometrical myocardial remodeling and left ventricular function.

## Key words

cardiac hypertrophy, arterial hypertension, angiotensin-converting enzyme inhibitors, lisinopril, ventricular function

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) é uma resposta adaptativa do coração às sobrecargas sustentadas de trabalho. Dados da literatura<sup>1</sup> demonstram que as condições de carga e sistemas neurohumorais, entre os quais se destaca o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), modulam as características da hipertrofia ventricular esquerda que se desenvolve na vigência de sobrecargas pressóricas crônicas. Estudos clínicos<sup>2,3</sup> evidenciam que os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA) melhoram a sobrevivência em pacientes com insuficiência cardíaca, retardam a descompensação cardíaca em pacientes com disfunção ventricular esquerda assintomática e atenuam a progressão da dilatação e disfunção do ventrículo esquerdo após infarto do miocárdio. Estudos experimentais<sup>4-6</sup> mostram que os IECA atenuam o remodelamento ventricular, melhoram a sobrevivência e retardam a progressão da disfunção do ventrículo esquerdo em ratos com infarto do miocárdio e em hamster com cardiomiopatia. Também tem sido evidenciado que os IECA regridem a hipertrofia ventricular esquerda em humanos<sup>7</sup> e em animais experimentais com sobrecarga pressórica crônica<sup>8,9</sup>.

Os efeitos favoráveis dos IECA sobre a sobrevivência e regressão da hipertrofia ventricular esquerda na insuficiência cardíaca e hipertensão arterial são freqüentemente atribuídos à interferência com o SRAA sistêmico, resultando em redução da pressão arterial e resistência vascular periférica com consequente redução da sobrecarga cardíaca<sup>10</sup>. Entretanto diversos estudos<sup>10-12</sup> demonstram que a atividade da enzima de conversão da angiotensina (ECA) e o SRAA tecidual miocárdico encontram-se ativados em modelos animais de insuficiência e hipertrofia cardíaca. Embora a eficácia dos IECA em prolongar a sobrevivência, retardar o desenvolvimento de disfunção ventricular e reverter a hipertrofia cardíaca seja amplamente reconhecida, tem sido difícil dissociar os efeitos hemodinâmicos destes agentes sobre a pressão arterial sistêmica dos efeitos do bloqueio da ECA tecidual miocárdica. Assim, o uso dos IECA na hipertensão arterial, infarto agudo do miocárdio e cardiomiopatia é claramente fundamentada visto que estas drogas bloqueiam a atividade do SRAA, reduzem a carga cardíaca e reverterem a hipertrofia ventricular esquerda. A validade desta estratégia é controversa quando o aumento da carga cardíaca é relativamente fixo, como no caso da estenose aórtica valvar. Nesta circunstância, a redução da hipertrofia ventricular esquerda pode ser vista como perda de mecanismo adaptativo que poderia resultar em desajuste da pós-carga, dilatação e comprometimento da função do ventrículo esquerdo. Alternativamente, desde que a hipertrofia ventricular esquerda é um fator preditivo de morbidade e mortalidade cardiovascular independente de outras condições<sup>13</sup> a limitação da resposta hipertrófica do ventrículo esquerdo pode associar-se a efeitos benéficos não relacionados à redução da carga hemodinâmica. Ainda é controverso na literatura<sup>8,9,12</sup> se a longo prazo, a interferência dos IECA, sobre a hipertrofia ventricular esquerda na presença de sobrecarga pressórica persistente (SPP), tal como na estenose aórtica, resulta em efeitos benéficos ou adversos sobre a sobrevivência, incidência de insuficiência cardíaca e função do ventrículo esquerdo. Se a ativação do SRAA tecidual cardíaco contribui para o desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda e subsequente falência miocárdica<sup>14-16</sup>, a administração crônica de IECA deverá diminuir a extensão da resposta hipertrófica e modificar, favoravelmente, a função ventricular em ratos com hipertrofia ventricular esquerda estabelecida mesmo na vigência

de SPP e severa. Os objetivos deste estudo foram avaliar, a longo prazo, os efeitos do lisinopril sobre: a mortalidade, a incidência de insuficiência cardíaca, o remodelamento miocárdico e as funções sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo em ratos com hipertrofia ventricular esquerda compensada na presença de SPP desencadeada por estenose aórtica supraavalvar.

## Métodos

Neste experimento, a hipertrofia ventricular esquerda foi desencadeada por sobrecarga pressórica persistente promovida pela bandagem da aorta ascendente em ratos machos, da raça Wistar, pesando entre 70 e 90 g, anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg – IP) e a seguir, ventilados mecanicamente com oxigênio 100% a 30 cps. Após esternotomia mediana, a aorta ascendente foi dissecada e isolada e um clipe metálico com 0,60 mm de diâmetro interno colocado na aorta imediatamente após a emergência do saco pericárdico. A cavidade torácica foi fechada sendo o esterno, as camadas musculares e a pele reconstruídos por planos. Um grupo de animais foi submetido à cirurgia simulada, na qual eram realizados todos os procedimentos de bandagem aórtica, excetuando-se a colocação do clipe metálico.

Terminados os procedimentos cirúrgicos os ratos foram colocados em caixas plásticas para recuperação com livre acesso à ração e à água, ciclos claro/escuro de 12h e temperatura ambiente controlada (21 a 24°C).

Seis semanas após os procedimentos cirúrgicos foram obtidos ecocardiogramas de todos os ratos submetidos a cirurgia simulada (n=20) ou de bandagem aórtica (n=103). A seguir 10 ratos submetidos à cirurgia simulada e 10 ratos com bandagem aórtica foram randomizados para avaliação hemodinâmica *in vivo* e, posteriormente, sacrificados para estudo morfológico; cujos resultados representaram as condições basais antes do início do período de observação. Os ratos remanescentes com estenose aórtica foram randomizados para receber lisinopril ou nenhum tratamento, durante 15 semanas consecutivas. Com este procedimento foram constituídos 3 grupos experimentais: grupo controle (GC; n=10) composto por ratos submetidos à cirurgia simulada; grupo estenose (GE; n=63) formado por ratos com bandagem aórtica e que não foram tratados e grupo lisinopril (GL; n=30): constituído por ratos com estenose aórtica que receberam lisinopril via oral (20 mg/kg/dia) dissolvido na água das gaiolas. O controle da dose ingerida era realizado diariamente, medindo-se o volume de água que cada animal bebia. Esta dose acarreta efeitos antiproliferativos e anti-hipertensivos<sup>17</sup>. No período compreendido entre 6 e 21 semanas os animais foram avaliados diariamente e as mortes registradas. Vinte e uma semanas após os procedimentos cirúrgicos, foram realizadas em todos os animais novas avaliações ecocardiográfica, hemodinâmica e morfológica, incluindo a dosagem do conteúdo de hidroxiprolina do ventrículo esquerdo e no final do seguimento, avaliada a presença ou não de insuficiência cardíaca sendo considerados como critérios para o diagnósticos de sinais clínicos (taquipnéia, edema, ascite, derrame pleural e/ou pericárdico) e sinais morfológicos (presença de trombo no átrio esquerdo, teor de água dos pulmões e do fígado). Foram considerados em insuficiência cardíaca os animais que apresentavam um sinal clínico; um sinal clínico + um sinal morfológico e dois ou mais sinais morfológicos. A figura 1 é uma representação esquemática do protocolo experimental aplicado.

Para as avaliações ecocardiográfica e hemodinâmica os animais eram anestesiados com ketamina (50 mg/kg) e xylasina (1 mg/kg) administrados por via intramuscular. Utilizando-se ecocardiógrafo Sonos 2000, (Hewlett-Packard) equipado com transdutor de 7,5 MHz, foi obtida imagem bidimensional do menor eixo do ventrículo esquerdo imediatamente abaixo do plano da valva mitral, e realizados registros, em modo-M, das estruturas cardíacas com velocidade de transporte do papel de 100 mm/s. No plano apical quatro câmaras foi obtida curva de velocidade de fluxo diastólico transmitral, posicionando-se a amostra de volume do Doppler pulsátil imediatamente abaixo da face ventricular das cúspides da valva mitral. Em todos os animais incluídos nos grupos foram obtidos registros que permitiram avaliações adequadas dos parâmetros morfológicos e funcionais do ventrículo esquerdo. Posteriormente, os traçados foram calibrados, manualmente com auxílio de paquímetro (precisão de leitura 0,1 mm) utilizando-se pelo menos 3 ciclos cardíacos consecutivos. Esta metodologia já se encontra padronizada em nosso laboratório e apresenta reprodutibilidade e variabilidade comparáveis às referidas na literatura<sup>18,19</sup>. Após obtenção dos ecocardiogramas, era realizada incisão na linha mediana da parte superior do abdome e o ápex cardíaco palpado. Uma agulha hipodérmica (25x9) conectada a transdutor Stathan P231D, preenchido com soro fisiológico, era introduzida na cavidade ventricular esquerda através do ápex. Aguardava-se período de aproximadamente 1min para estabilização hemodinâmica, e a seguir obtinha-se registro da pressão ventricular e sua primeira derivada temporal. Para os registros foi utilizado polígrafo Gould Windograf modelo 40-9800-20 sendo 100 mm/s a velocidade de transporte de papel. Traçados representativos dos registros obtidos, encontram-se na figura 2.

Após registro pressórico os animais foram sacrificados, o tórax aberto e o coração rapidamente removido. Os átrios extirpados e a musculatura ventricular dividida em parede livre do ventrículo direito e massa muscular do ventrículo esquerdo incluindo o septo que foram pesados separadamente. A ponta do ventrículo esquerdo foi utilizada para dosagem do conteúdo de hidroxiprolina de acordo com técnica descrita por Switzer<sup>20</sup>. Um fragmento da

musculatura da parede livre do ventrículo esquerdo foi fixado em formól a 10% e incluído em parafina de onde se obtiveram cortes histológicos com 4  $\mu$ m de espessura, corados com hematoxilina-eosina e analisados em microscópio óptico (amplificação 40x) acoplado a câmara de vídeo. Com auxílio de microcomputador equipado com programa de análise de imagens (*IMAGE-PRO PLUS 3.0, Media Cybernetics, Silver Spring Maryland - USA*) a área seccional transversal dos miócitos foi medida e utilizada como indicadora do tamanho celular. Em cada animal foram medidos pelo menos 50 miócitos cortados transversalmente em que o núcleo era claramente central. Um fragmento dos pulmões e do fígado foram pesados e a seguir colocados para desidratação em estufa a 70°C durante 96h e, a seguir, pesados novamente, o que possibilitou a determinação do teor de água desses órgãos.

Nas avaliações realizadas 6 e 21 semanas após os procedimentos cirúrgicos foram estudadas as seguintes variáveis: peso corporal (PC, g); frequência cardíaca (Fc, bpm); espessura diastólica da parede posterior (EDPP, mm) e diâmetro diastólico (DDVE, mm) do ventrículo esquerdo; porcentagem de encurtamento ( $\Delta D\%$ ); relação entre as velocidades de pico do fluxo transmitral precoce (E) e tardio (A) (relação E/A); pressão sistólica (PSVE, mmHg) e diastólica final (PDFVE, mmHg) do ventrículo esquerdo; 1ª derivada positiva (+dP/dt, mmHg/s) e negativa (-dP/dt, mmHg/s) da pressão do ventrículo esquerdo; índice de massa do ventrículo esquerdo (IMVE, mg/g) correspondendo ao peso da massa muscular do VE/PC; conteúdo de hidroxiprolina do ventrículo esquerdo (HPVE, mg%); área seccional transversa dos miócitos do ventrículo esquerdo (AS,  $\mu\text{m}^2$ ); teor de água dos pulmões ( $\text{H}_2\text{O P}$ , %) e do fígado ( $\text{H}_2\text{O F}$ , %).

Os resultados obtidos nos GC e GE nas avaliações realizadas 6 semanas após cirurgia simulada ou bandagem aórtica foram confrontados para se avaliar o grau de hipertrofia, a severidade da sobrecarga pressórica e a função ventricular esquerda antes do início do tratamento com lisinopril. Os resultados observados nos grupos GC, GE e GL, 21 semanas após os procedimentos cirúrgicos foram comparados para se avaliar os efeitos do tratamento com lisinopril sobre a severidade da sobrecarga pressórica, morfologia e função do ventrículo esquerdo. Em cada grupo, os resultados verificados 6 e 21 semanas após a cirurgia foram comparados para caracterizar a evolução temporal das variáveis analisadas. Dado que os animais com insuficiência cardíaca sabidamente apresentam comprometimento da função ventricular esquerda, neste estudo o confronto dos dados ecocardiográficos, hemodinâmicos e morfológico obtidos 6 e 21 semanas após a cirurgia referem-se apenas aos animais que não apresentavam evidências de descompensação cardíaca no final do seguimento.

Todos os valores são expressos em média ( $\bar{x}$ )  $\pm$  desvio padrão (sd). As análises relacionadas com a frequência de mortes e insuficiência cardíaca no final do experimento foram realizadas pelo teste do qui-quadrado ( $\Delta^2$ ). As análises que confrontaram as variáveis ecocardiográficas, hemodinâmicas e morfológica, avaliadas 6 e 21 semanas após os procedimentos cirúrgicos, foram realizadas pela ANOVA univariada, modelo inteiramente casualizado, complementada com o teste de comparações múltiplas de Bonferroni. O estudo da área seccional dos miócitos e conteúdo de hidroxiprolina do ventrículo esquerdo foi realizado pela ANOVA univariada, inteiramente casualizada, complementada com o teste de Tuckey para as comparações entre todos os pares de médias. Todas as discussões foram realizadas no nível de 5% de significância.

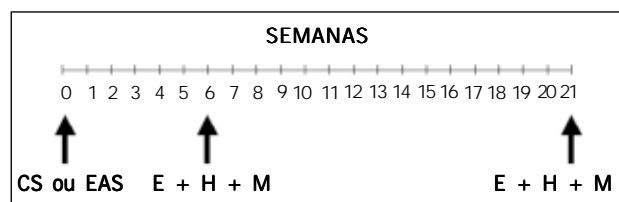


Fig. 1 - Representação esquemática do protocolo experimental. CS - cirurgia simulada; EAS - estenose aórtica; E, H, M - avaliações ecocardiográfica, hemodinâmica e morfológica, respectivamente.

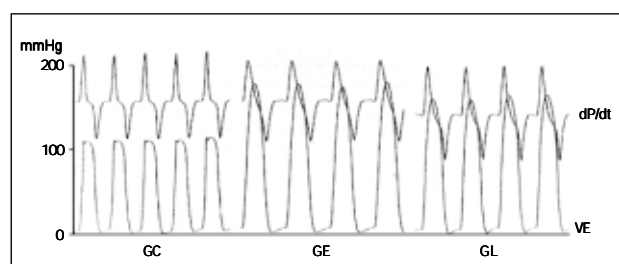


Fig. 2 - Traçados representativos registros hemodinâmicos obtidos, comparando-se GC, GE e GL (grupos controle, estenose e lisinopril).

## Resultados

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os pesos corporais dos animais no momento em que foram incluídos no estudo (GC:  $74 \pm 6$  vs GE:  $76 \pm 5$  vs  $73 \pm 7$  g,  $p > 0,05$ ). Nas avaliações realizadas 6 semanas após a cirurgia não foram encontrados sinais clínicos e morfológicos de descompensação cardíaca nos grupos GC e GE. Em ratos com hipertrofia ventricular esquerda estabelecida, a administração do IECA, lisinopril, durante 15 semanas, reduziu a frequência de mortes e insuficiência cardíaca. Durante o período de seguimento não houve mortes ou insuficiência cardíaca no GC. No grupo GE ( $n=63$ ) 34 ratos morreram (53,9%) e dos 27 sobreviventes 13 (44,8%) apresentavam sinais de descompensação cardíaca no final do experimento, enquanto que no grupo GL ( $n=30$ ) 5 ratos morreram (44,8%) e dos 25 sobreviventes apenas 5 (20%) se encontravam em insuficiência cardíaca,  $p < 0,05$  (fig. 3). Estes resultados correspondem a reduções de 69% e 55% nas taxas de morte e insuficiência cardíaca respectivamente. Na avaliação necroscópica dos animais que morreram não foram encontrados sinais clínicos e morfológicos, previamente estabelecidos, para o diagnóstico de insuficiência cardíaca.

Na tabela I são apresentados os resultados das avaliações ecocardiográficas, evidenciando que 6 semanas após os procedimentos cirúrgicos os ratos com EAO apresentavam hipertrofia ven-

tricular esquerda concêntrica estabelecida. Os valores da EDPP e EDPP/DDVE dos grupos GE e GL equivalentes e significativamente maiores que os do grupo GC. Os valores do DDVE e da relação E/A foram semelhantes nos 3 grupos. Em conjunto, estes resultados evidenciaram que antes do início do tratamento os animais dos grupos GE e GL apresentavam graus e equivalentes das hipertrofia ventricular esquerda concêntrica e função diastólica preservada. As análises da  $\Delta D\%$  caracterizaram que os ratos dos grupos GE e GL apresentavam ventrículo esquerdo hiperdinâmico. No final do período experimental os valores da EDPP e EDPP/DDVE dos grupos, GE e GL foram semelhantes e significativamente maiores que os do GC, sendo estes valores equivalentes àqueles observados 6 semanas após os procedimentos cirúrgicos. As análises relacionadas com os parâmetros de função ventricular ( $\Delta D\%$  e E/A) evidenciaram que o tratamento com lisinopril preservou a função sistólica e atenuou o comprometimento da função diastólica do ventrículo esquerdo. Os valores da  $\Delta D\%$  foram significativamente menores no grupo GE enquanto que os valores da relação E/A mostraram aumentos significantes com padrão restritivo nos grupos GE e GL sendo porém o comprometimento significativamente menor no grupo tratado com lisinopril.

Na tabela II são apresentados os resultados referentes às avaliações hemodinâmicas realizadas 6 e 21 semanas após os procedimentos cirúrgicos. Nos dois momentos avaliados os valores do FC se equivaleram nos 3 grupos. Ficou também evidenciado os valores da PSVE dos animais dos grupos GE e GL eram semelhantes, significativamente maiores que os do grupo GC e que o tratamento com lisinopril não alterou os valores nos ratos com banda-gem aórtica evidenciando a presença de SPP equivalente nos grupos GE e GL durante as 15 semanas de observação. Seis semanas após os procedimentos cirúrgicos os valores da PDFVE estavam significativamente elevados nos animais submetidos a banda-gem aórtica. No final do seguimento (21 semanas), os valores desta variável não se modificaram no GC e mostraram aumentos significantes nos grupos GE e GL sendo os valores do grupo trata-

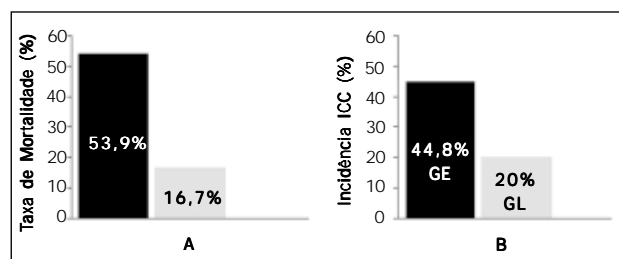


Fig. 3 - A: taxas de mortalidade (M); B: incidência de insuficiência cardíaca (ICC) nos grupos estenose aórtica (GE) e lisinopril (GL).

Variáveis	Grupos	6 semanas	21 semanas
EDPP (mm)	GC	$1,54 \pm 0,12$	$1,52 \pm 0,10$
	GE	$1,81 \pm 0,12^*$	$1,91 \pm 0,20^*$
	GL	$1,83 \pm 0,13^*$	$1,85 \pm 0,18^*$
DDVE (mm)	GC	$8,2 \pm 0,2$	$8,2 \pm 0,2$
	GE	$7,8 \pm 0,3$	$9,8 \pm 0,3^{**}$
	GL	$8,0 \pm 0,3$	$8,7 \pm 0,3^{\#}$
EDPP/DDVE	GC	$0,21 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,01$
	GE	$0,29 \pm 0,03^*$	$0,25 \pm 0,02^*$
	GL	$0,31 \pm 0,03^*$	$0,23 \pm 0,03^*$
$\Delta D$ (%)	GC	$49 \pm 5$	$52 \pm 3$
	GE	$59 \pm 6^*$	$44 \pm 5^{**}$
	GL	$58 \pm 5^*$	$51 \pm 5^{\#}$
E/A	GC	$1,64 \pm 0,27$	$1,72 \pm 0,33$
	GE	$2,07 \pm 1,05$	$6,71 \pm 2,08^{**}$
	GL	$2,11 \pm 1,08$	$4,23 \pm 2,38^{**\#}$

Valores expressos em média  $\pm$  desvio-padrão. GC, GE e GL: grupos controle, estenose aórtica e lisinopril respectivamente; EDPP e DDVE: espessura diastólica da parede posterior e diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo respectivamente;  $\Delta D$  (%) porcentagem de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo; E/A: razão entre os picos de velocidade de fluxo diastólico precoce (E) e tardio (A) na valva mitral. \* $p < 0,05$  vs GC; #  $p < 0,05$  vs GE; +  $p < 0,05$  vs 6 semanas.

Variáveis	Grupos	6 semanas	21 semanas
FC (bpm)	GC	$279 \pm 15$	$283 \pm 14$
	GE	$289 \pm 20$	$288 \pm 18$
	GL	-	$291 \pm 20$
PSVE (mmHg)	GC	$105 \pm 8$	$108 \pm 6$
	GE	$198 \pm 14^*$	$195 \pm 17^*$
	GL	-	$188 \pm 12^*$
PDFVE (mmHg)	GC	$4 \pm 1$	$4 \pm 2$
	GE	$8 \pm 2^*$	$15 \pm 3^{**}$
	GL	-	$8 \pm 3^{\#}$
+dP/dt (mmHg/s)	GC	$5980 \pm 484$	$5810 \pm 320$
	GE	$5729 \pm 519$	$3998 \pm 550^{**}$
	GL	-	$5474 \pm 470^{\#}$
-dP/dt (mmHg/s)	GC	$2970 \pm 222$	$2950 \pm 245$
	GE	$3148 \pm 355$	$2358 \pm 300^{**}$
	GL	-	$3110 \pm 399^{\#}$

Valores expressos em média  $\pm$  desvio-padrão. FC: frequência cardíaca; PSVE e PDFVE: pressões sistólica e diastólica final do ventrículo esquerdo, respectivamente; +dP/dt e -dP/dt: primeira derivada temporal positiva e negativa da pressão ventricular esquerda, respectivamente. GC, GE e GL: grupos controle, estenose aórtica e lisinopril, respectivamente. \* $p < 0,05$  vs GC; #  $p < 0,05$  vs GE; +  $p < 0,05$  vs 6 semanas.

do significativamente menores. As medidas da  $+dP/dt$  e  $-dP/dt$  realizadas 6 semanas após cirurgia simulada ou bandagem aórtica não mostraram diferenças significantes destes índices de contratilidade miocárdica. Em contraste, 21 semanas após a cirurgia, os valores da  $+dP/dt$  e  $-dP/dt$  foram significativamente menores apenas no grupo GE. Em conjunto estes resultados mostraram que o tratamento com lisinopril, durante 15 semanas consecutivas, exerceu efeitos benéficos sobre a contratilidade e o relaxamento miocárdico.

Na tabela III são apresentados os resultados obtidos nas avaliações morfológicas realizadas 6 e 21 semanas após os procedimentos cirúrgicos. Precedendo o início do tratamento, o PC dos animais dos grupos GC e GE se equivaleram. No final do experimento os valores do PC dos ratos tratados com lisinopril (grupo GL) foi significativamente menor que os verificados nos GC e GE que se equivaleram. Seis semanas após a indução de EAO o valor do IMVE do grupo GE foi significativamente maior que do GC correspondendo a aumento de 34,7% na massa muscular do ventrículo esquerdo. No final do experimento ficou evidenciado que os valores do IMVE dos grupos GE e GL eram maiores que os do GC, sendo  $GE > GL$  ( $p < 0,05$ ). Em relação ao GC as magnitudes do aumento do IMVE foram 68% no GE e 36% no GL (fig. 4). As medidas da AS e HPVE evidenciaram que mesmo na vigência de sobrecarga pressórica persistente, o tratamento com lisinopril também limitou o aumento das dimensões dos miócitos e o acúmulo de colágeno miocárdico. As análises relacionadas com o teor de água dos pulmões e do fígado não revelaram diferenças significativas entre os 3 grupos. Associados à ausência de sinais clínicos, podemos assegurar que nenhum dos animais, incluídos nos 3 grupos, cuja função ventricular foi avaliada no final do experimento se encontravam em insuficiência cardíaca.

## Discussão

Nos modelos animais de hipertrofia ventricular esquerda desencadeada por sobrecarga pressórica, como na estenose aórtica e hipertensão arterial, o remodelamento ventricular consiste em aumento da espessura da parede, aumento do diâmetro dos miócitos e modificações dos componentes intersticiais do miocárdio, incluindo, na maioria das vezes, acúmulo de colágeno miocárdico<sup>21-23</sup>. Dados da literatura<sup>21</sup> evidenciam que ratos espontaneamente hipertensos e ratos submetidos bandagem da aorta torácica apresentam função contrátil, e desempenho ventricular inicialmente normais que no decorrer do tempo evoluem com depressão progressiva do estado contrátil, insuficiência cardíaca e morte prematura. Estes modelos animais são úteis para avaliações, a longo prazo, das características morfológicas, bioquímicas e funcionais da hipertrofia ventricular esquerda bem como o efeito de drogas sobre a mortalidade, o desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda e insuficiência cardíaca.

Admite-se<sup>21,24</sup> que, quando a bandagem aórtica é realizada em ratos jovens, como no nosso estudo, a sobrecarga pressórica inicialmente é leve, acentuando-se progressivamente, à medida que os animais crescem, o que de certo modo se assemelha à estenose aórtica no homem. Neste estudo o período de avaliação de 21 semanas após EAO foi selecionado visto que associa-se com elevadas taxas de mortalidade e engloba a transição para descompensação cardíaca com alterações na reprogramação gênica<sup>14,21</sup>.

Os resultados obtidos nas avaliações ecocardiográfica (tab. I),

hemodinâmica (tab. II) e morfológica (tab. III) realizadas 6 e 21 semanas após a realização da cirurgia simulada de bandagem aórtica evidenciam que o grau de sobrecarga pressórica nos animais com estenose aórtica é severo, mantendo-se estável durante o período de 15 semanas de observação. Neste período o tratamento com lisinopril não modificou os valores da pressão sistólica do ventrículo esquerdo, caracterizando assim a persistência e a equivalência da sobrecarga pressórica nos grupos GE e GL.

Nas sobrecargas pressóricas sustentadas, o crescimento e a função do miocárdio são modulados pelas características da carga e por sistemas neurohumorais, dentre os quais se destaca a SRAA. Neste sentido, o modelo de bandagem da aorta ascendente, é adequado para se dissociar os efeitos relacionados com a inibição do SRAA tecidual miocárdico daqueles associados com a redução da carga hemodinâmica. Os resultados observados evidenciaram que a inibição crônica da ECA com lisinopril reduz a mortalidade, retarda a transição para a insuficiência cardíaca, altera favoravelmente o remodelamento miocárdico e atenua o grau de comprometimento das funções sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo mesmo na vigência de sobrecarga pressórica.

**Tabela III - Variáveis morfológicas obtidas 6 e 21 semanas após cirurgia simulada ou estenose aórtica**

Variáveis	Grupos	6 semanas	21 semanas
PC (g)	GC	302 ± 29	496 ± 55
	GE	294 ± 27	481 ± 43
	GL	-	411 ± 20*
IMVE (mg/g)	GC	2,45 ± 0,26	1,91 ± 0,21
	GE	3,30 ± 0,31*	3,21 ± 0,41*
	GL	-	2,60 ± 0,3**
AS (μm <sup>2</sup> )	GC	-	328 ± 17
	GE	-	537 ± 36*
	GL	-	429 ± 28**
HPVE (mg%)	GC	-	3,6 ± 0,6
	GE	-	7,9 ± 1,1*
	GL	-	5,2 ± 0,7**
H <sub>2</sub> O P (%)	GC	79,9 ± 1,0	80,4 ± 1,1
	GE	80,2 ± 0,8	81,3 ± 0,9
	GL	-	81,2 ± 0,7
H <sub>2</sub> O F (%)	GC	68,1 ± 0,8	67,8 ± 0,9
	GE	67,6 ± 0,6	67,2 ± 0,8
	GL	-	68,3 ± 0,9

GC, GE, GL: grupos controle, estenose e lisinopril respectivamente; PC: peso corporal; IMVE: índice de massa do ventrículo esquerdo; AS: área de secção transversa dos miócitos; HPVE: conteúdo de hidroxiprolina do ventrículo esquerdo; H<sub>2</sub>OP e H<sub>2</sub>OF: porcentagem de água dos pulmões e do fígado. \*  $p < 0,05$  vs GC; #  $p < 0,05$  vs GE; +  $p < 0,05$  vs 6 semanas.

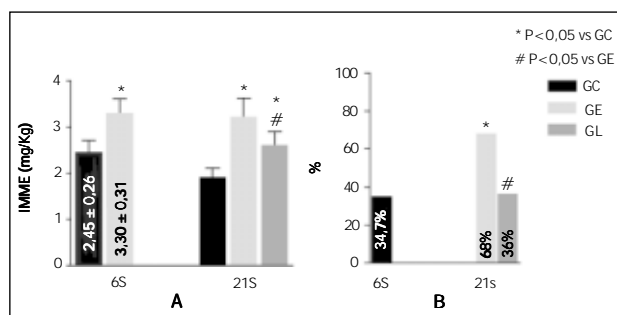


Fig. 4 - A: Índices de massa do ventrículo esquerdo (IMVE) observado nos grupos controle (GC); estenose aórtica (GE) e lisinopril (GL), seis (6S) e 21 semanas (21S) após cirurgia simulada ou estenose aórtica. B: porcentagem de aumento do IMVE dos grupos GE e GL, em relação ao GC, observadas 6S e 21S após procedimentos cirúrgicos.

Diversos fatores podem ter contribuído para redução da mortalidade nos ratos tratados com lisinopril. A maior frequência de mortes nos ratos do grupo GE pode estar associada ao desenvolvimento de disfunção ventricular esquerda mais precoce e severa que a verificada no grupo GL. A constatação do maior comprometimento da função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo e maior incidência de insuficiência cardíaca no grupo GE verificadas no final do seguimento reforçaram este aspecto. Outra possibilidade para redução da mortalidade no grupo tratado é que a inibição da ECA preveniu as mortes prematuras decorrentes de arritmias desencadeadas por isquemia miocárdica. Estudos<sup>25-27</sup> apontam que, neste modelo a reserva coronariana está diminuída, a angiotensina II agrava, os IECA protegem contra arritmias de reperfusão após isquemia miocárdica transitória em ratos<sup>26,28</sup> e que a atividade do SRAA tecidual miocárdico encontra-se exacerbada<sup>12,21,29</sup>.

Antes do início do tratamento, os animais do grupo GE apresentavam IMVE 34,7% maior que o do grupo GC. No final do experimento a EAo resultou, em relação ao GC, em aumentos de 68% e 36% nos valores do IMVE nos grupos GE e GL respectivamente, o que representa uma diferença de 52,9% no grau de HVE. Em relação às dimensões dos miócitos observamos aumentos de 64% e 31% nos valores da AS o que representa diferença de 51% entre os grupos GE e GL.

Considerando-se que nos animais não tratados os valores do IMVE aumentaram e que nos animais tratados com lisinopril os valores do IMVE se equivaleram, nas avaliações realizadas 6 e 21 semanas após a bandagem aórtica, é lícito admitir que o tratamento com lisinopril evitou a acentuação do grau de HVE (tabela III). Pode-se também admitir que a menor AS observada no grupo GL ocorreu predominantemente redução da adição em paralelo de miofibrilas característica da hipertrofia cardíaca desencadeada por sobrecarga pressórica<sup>22</sup>.

As dosagens de HPVE evidenciaram que o tratamento com lisinopril reduziu o acúmulo de colágeno miocárdico. Estes resultados são concordantes com as proposições da literatura que apontam a participação da angiotensina II entre os principais mecanismos envolvidos no acúmulo de colágeno miocárdico<sup>30,31</sup>.

Neste estudo ficou evidenciado que a administração de lisinopril em ratos com EAo previne o aumento da extensão da hipertrofia ventricular e reduz o acúmulo de colágeno miocárdico mesmo na vigência de SPP. Estes resultados suportam a proposição que a sobrecarga pressórica isoladamente não é o único fator determinante da remodelação cardíaca. Nas condições experimentais vigentes é possível inferir que o SRAA tecidual miocárdico também participa sendo responsável, pelo menos em parte, pelo desenvolvimento do remodelamento patológico que culmina com disfunção ventricular esquerda progressiva. O menor grau de hipertrofia, disfunção ventricular esquerda, e acúmulo de colágeno miocárdico evidenciados no final do experimento nos animais tratados com lisinopril suportam estes aspectos.

Atualmente parece claro que o crescimento cardíaco pode ser modulado por modificações na carga e ativação neuro-humoral<sup>1-9,10,11,21,29</sup>. Estudos em animais submetidos a bandagem proximal da aorta ou artéria pulmonar, simultaneamente tratados com agentes que modulam a atividade do SRAA, obtiveram resultados conflitantes<sup>24,32-36</sup>. Dos 6 estudos analisados três não evidenciaram nenhum efeito do bloqueio do SRAA sobre a extensão da hipertrofia ventricular esquerda ou direita<sup>34-36</sup> e, em três, o bloqueio do SRAA reduziu ou preveniu a hipertrofia ventricu-

lar<sup>24,32,33</sup>. A importância da sobrecarga hemodinâmica não deve ser minimizada dado que em recente estudo<sup>37</sup> ficou evidenciado que a remoção da sobrecarga pressórica, promovida pela bandagem da aorta torácica em cobaias resulta em reversão completa da hipertrofia e da função ventricular esquerda. Nossos resultados sugerem que o bloqueio do SRAA reduz a extensão da hipertrofia ventricular esquerda mesmo na vigência de sobrecarga pressórica sustentada, presença de SPP. Outros mecanismos neuro-humorais podem ter participado do remodelamento cardíaco observada neste estudo. A angiotensina II aumenta a liberação de neurotransmissores simpáticos e a menor extensão da hipertrofia ventricular esquerda nos animais tratados com lisinopril poderia estar relacionada em parte com a redução do efeito trófico decorrente da estimulação simpática sobre o crescimento do miócito<sup>1,8-10</sup>.

No final do experimento, ficou evidenciado que na vigência de sobrecarga pressórica severa e equivalente nos animais dos grupos GE e GL, a incidência de insuficiência cardíaca foi 2,8 vezes menor nos ratos tratados, evidenciando assim que a inibição crônica da ECA com lisinopril resultou em redução significativa da incidência de insuficiência cardíaca e por conseguinte atenuou o comprometimento da função cardíaca. Os resultados dos indicadores da função sistólica (+dP/dt,  $\Delta D\%$ ) e diastólica (PDFVE, relação E/A e -dP/dt) dos ratos que não se encontravam em insuficiência cardíaca mostraram que o tratamento com lisinopril exerceu efeitos benéficos promovendo preservação da função sistólica e atenuando o comprometimento da função diastólica do ventrículo esquerdo.

Embora o remodelamento miocárdico possa ser considerado como mecanismo adaptativo no sentido de preservar a função ventricular, o processo pode tornar-se mal adaptativo quando o estímulo desencadeante é patológico e contínuo, como se observa na estenose aórtica e hipertensão arterial. Nestas condições o remodelamento miocárdico contínuo, habitualmente evolui, em tempo variável, com disfunção ventricular progressiva, que culmina com insuficiência cardíaca e morte prematura, se o processo não for efetivamente contraposto o mais precocemente possível.

Diversas características que ocorrem durante o processo de remodelamento cardíaco desencadeado por sobrecarga pressórica são apontados na literatura<sup>16,29,30,38-43</sup>, como participantes do comprometimento funcional do coração, entre os quais se destacam: alterações fenotípicas devido a reexpressão de genes que codificam a síntese de proteínas miocárdicas com características fetais; hipertrofia dos miócitos, acúmulo de fibrose miocárdica, déficit de vasos sanguíneos e redução da reserva coronariana, déficit de mitocôndrias, defeitos no ciclo do cálcio, síntese de miosinas com menor atividade ATPásica e morte de miócitos devido a necrose e/ou apoptose.

Neste estudo ficou evidenciado que os efeitos benéficos do lisinopril sobre o remodelamento e a função ventricular esquerda não dependeram da redução das condições de carga ou da frequência cardíaca, equivalentes nos ratos tratado e não tratados. Assim, se os efeitos benéficos da inibição da ECA não foram devidos à melhora das condições de carga e o tratamento com lisinopril preveniu a deterioração da função cardíaca, mesmo na presença de um menor grau de hipertrofia cardíaca no final do seguimento, mecanismos alternativos pelos quais a inibição da ECA preserva a contratilidade necessitam ser considerados. Estudos experimentais<sup>44-48</sup> evidenciam que o tratamento com IECA melhora a resposta contrátil ao cálcio extracelular em ratos com bandagem aórtica<sup>24,47</sup> ou infarto agudo do miocárdio<sup>46</sup>. Existem também evi-





dências de que os IECA reduzem a apoptose na hipertrofia ventricular esquerda desencadeada por sobrecarga pressórica<sup>48</sup>. Assim, outro possível emprego dos IECA na estenose aórtica poderia ser a redução da perda de miócitos funcionantes devido à apoptose e/ou necrose mediada pela angiotensina II.

O papel emergente da matriz extracelular no processo de remodelamento miocárdico pode ser evidenciado em diferentes modelos animais de hipertrofia ventricular esquerda desencadeada por sobrecarga pressórica<sup>23,30,31,41-43</sup>. De modo simplificado, tem sido proposto que a fibrose intersticial excessiva pode virtualmente estrangular o coração, inicialmente na diástole e tardiamente na sístole. Os encontros de maior comprometimento da função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo e acúmulo de colágeno miocárdico nos ratos do grupo GE e a preservação da função sistólica, atenuação do comprometimento da função diastólica e redução do conteúdo de hidroxiprolina no ventrículo esquerdo no grupo GL, estão de acordo com as proposições de que a matriz colágena do miocárdio também participa da disfunção ventricular.

Diversos estudos e revisões da literatura apontam que o tratamento com IECA pode modificar favoravelmente a capacidade contrátil do miocárdio e reduzir o acúmulo de colágeno miocárdico<sup>6,8,21,24,29,30,34,43-45</sup>. Neste estudo não é possível destacar os mecanismos responsáveis pela preservação da função sistólica e pela atenuação do comprometimento da função diastólica nos ratos tratados com o lisinopril. O menor comprometimento da função diastólica observado nos ratos tratados com lisinopril pode ser devido ao menor comprometimento da distensibilidade miocárdica decorrente da hipertrofia ventricular esquerda menos acentuada e/ou menor acúmulo de colágeno miocárdico<sup>23,30,41-43,48</sup>. Alternativamente, a atenuação do comprometimento da função diastólica do ventrículo esquerdo observada no grupo GL poderia ser devida aos efeitos do bloqueio ou redução da angiotensina II produzida localmente pelo SRAA tecidual miocárdico<sup>11,16,49,50</sup>. Trabalhos da

literatura<sup>49,50</sup> apontam que na presença de hipertrofia ventricular esquerda a ativação da AII intracárdica retarda e lentifica o relaxamento<sup>49</sup> e que a administração endovenosa de IECA em pacientes com EAo grave<sup>50</sup> melhoram a distensibilidade e o relaxamento miocárdico. Assim, com base nos resultados observados é pertinente inferir que o SRAA é responsável, pelo menos em parte, pelo advento da hipertrofia cardíaca patológica, com conseqüente disfunção sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo, descompensação cardíaca e morte prematura por mecanismos distintos daqueles relacionados com a elevação da pressão arterial e com o grau de hipertrofia ventricular esquerda.

Nossos achados fornecem suporte experimental que apóiam a idéia de que, o uso de IECA pode exercer efeitos favoráveis em pacientes com estenose aórtica para os quais ainda não existe tratamento clínico que, comprovadamente, modifique a história natural da doença. Cabe no entanto ressaltar embora no modelo experimental deste estudo, a sobrecarga pressórica para o ventrículo esquerdo seja sustentada tal como acontece na EAo em humanos, a bandagem aórtica é colocada distalmente aos óstios das coronárias e, portanto, a circulação coronariana está exposta às mesmas pressões elevadas vigentes na cavidade ventricular esquerda. Assim, embora estudos experimentais<sup>8,21,24,39,41,43</sup> sugiram que os IECA possam exercer efeitos benéficos em pacientes com estenose aórtica, devemos reconhecer os perigos potenciais para o uso até que estudos clínicos demonstrem claramente os benefícios desta terapêutica neste grupo de pacientes, principalmente naqueles com estenose aórtica grave e/ou disfunção ventricular esquerda.

## Agradecimentos

Aos Srs. Alexandre Luís Loureiro e Mario Augusto Dallaqua, pela digitação e editoração do texto e ao Sr. Vitor Marcos de Souza pela assistência técnica.

## Referências

- Morgan HE, Baker KM. Cardiac hypertrophy: mechanical, neural, and endocrine dependence. *Circulation* 1991; 83:13-25.
- The CONSENSUS Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe heart failure: results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Study Group. *N Engl J Med* 1987; 316:1429-35.
- The SOLVD Investigators. Effects of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. *N Engl J Med* 1992; 327:685-91.
- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, Finn P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation* 1985; 72:406-12.
- Richer C, Mulder P, Fornes P, Domergue V, Heudes D, Giudicelli JF. Long-term treatment with trandolapril opposes cardiac remodeling and prolongs survival after myocardial infarction in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20:147-56.
- Hallen SJ, Weishaar RE, Overhiser RW, et al. Effects of quinapril, a new angiotensin converting enzyme inhibitor, on left ventricular failure and survival in the cardiomyopathic hamster, morphological and biochemical correlates. *Circ Res* 1991; 68:1302-12.
- Dahlöf B, Pennert K, Hansson H. Regression of left ventricular hypertrophy: a meta-analysis. *Clin Exp Hypertens* 1992; A14:173-80.
- Routledge HC, Townend J.N. ACE inhibition in aortic stenosis: dangerous medicine or golden opportunity? *J Hum Hypertension* 2001; 15:659-67.
- Kromer EP, Elsner D, Riegger GAJ. Role of neurohumoral systems for pressure induced left ventricular hypertrophy in experimental supra-aortic stenosis in rats. *Am J Hypertens* 1991; 4:521-4.
- Dzau VJ. Autocrine and paracrine mechanisms in the pathophysiology of heart failure. *Am J Cardiol* 1992; 70:4C-11C.
- Kenneth MB, Booz GW, Dortal DE. Cardiac actions of angiotensin II: Role of an intracardiac renin-angiotensin system. *Annu Rev Physiol* 1992; 54:227-41.
- Baker KM, Chernin MI, Wixson SK, Aceto JF. Renin-angiotensin system involvement in pressure-overload cardiac hypertrophy in rats. *Am J Physiol* 1990; 259: H324-H32.
- Levy D. Clinical significance of the left ventricular hypertrophy: insights from the Framingham Study. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17(suppl. 2):S1-S6.
- Feldman A, Weinberg ED, Ray P, Lorell BH. Selective changes in gene expression during compensated hypertrophy and the transition to cardiac decompensation in rats with chronic aortic banding. *Circ Res* 1993; 73:184-92.
- Schunkert H, Dzau VJ, Tang SS, Hirsch AT, Apstein GS, Lorell BH. Increased rat cardiac angiotensin converting enzyme activity and mRNA expression in pressure overload left ventricular hypertrophy: effects on coronary resistances, contractility and relaxation. *J Clin Invest* 1990; 1913-20.
- Schunkert H, Jackson B, Tang SS, et al. Distribution and functional significance of cardiac ACE in hypertrophied rat hearts. *Circulation* 1993; 87:1328-39.
- Kabour A, Henegar JR, Devineri VR, Janicki JS. Prevention of angiotensin II induced myocyte necrosis and coronary vascular damage by lisinopril and losartan in the rat. *Cardiovascular Res* 1995; 29:543-8.
- Litwin SE, Katz SE, Morgan JP, Douglas PS. Serial echocardiographic assessment of left ventricular function after larger myocardial infarction in the rat. *Circulation* 1994; 89:345-54.
- Okoshi K. Estrutura e função do coração de ratos normotensos e hipertensos submetidos a restrição da ingestão alimentar: estudo in vivo pelo ecocardiograma e in vitro do coração isolado. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, 2000.
- Switzer, BR. Determination of hidroxiprolina in tissue. *J. Nutr. Biochem* 1991; 2:229-231.
- Hassenfuss G. Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res* 1998; 39:60-76.
- Grossman W, Carabello BA, Gunther S, Fifer MA. Ventricular wall stress and development of cardiac hypertrophy and failure. In: Alpert, NR ed. *Perspectives in Cardiovascular Research*. New York, NY: Raven Press; 1983:1-18.

23. Weber KT, Pick R, Jalil JE, Janick JS, Carrol EP. Patterns of myocardial fibrosis. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21 (suppl. V):121-31.
24. Weinberg EO, Schoen FJ, Dorinda BA, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure in rats with pressure overload hypertrophy due to ascending aortic stenosis. *Circulation* 1994; 90:1410-22.
25. Ioyama S, Ito N, Koroha M, Takashima T. Complete reversibility of physiologic coronary flow abnormalities in hypertrophied hearts produced by pressure-overload in the rat. *J Clin Invest* 1989; 84:288-94.
26. Eberli FR, Apstein GS, Ngoy S, Lorell BH. Exacerbation of left ventricular ischemia diastolic dysfunction by pressure overload hypertrophy: modification by specific inhibition of cardiac angiotensin converting enzyme. *Circ Res* 1992; 70:931-43.
27. Linz W, Schoelkens B, Hany F. Beneficial effects of the converting enzyme inhibitor, ramipril in ischemic rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986; 8 (suppl. 10):S91-S9.
28. Fleetwood G, Boutinet S, Meier M, Woody M. Involvement of the renin-angiotensin systems in ischemic damage and reperfusion arrhythmias in the isolated perfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17:351-6.
29. Wollert KC, Drexler H. The renin-angiotensin system and experimental heart failure. *Cardiovasc Res* 1999; 43:838-49.
30. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium: fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation* 1991; 83:1849-65.
31. Mukherjee D, Sen S. Collagen phenotype during development and regression of myocardial hypertrophy in spontaneously hypertension rats. *Circ Res* 1990; 67:1474-80.
32. Koide M, Carabello BA, Conrad CC, et GL. Hypertrophic response to hemodynamic system activation. *Am J Physiol* 1999; 276 (Heart Circ Physiol 45):H350-H8.
33. Rockman HA, Wachhorst SP, Moo L, Ross Jr J. Ang II receptor blockade prevents ventricular hypertrophy and ANF gene expression with pressure overload mice. *Am J Physiol* 1994; 266 (Heart Circ Physiol 35):H2468-75.
34. Weinberg EO, Lee MA, Weigner M, et GL. Angiotensin AT-1 receptor inhibition. *Circulation* 1997; 95:1592-600.
35. Zierhut W, Zimmer HG, Gerdes AM. Influence of ramipril on right ventricular hypertrophy induced by pulmonary artery stenosis in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 16:480-6.
36. Zierhut W, Zimmer HG, Gerdes AM. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition on pressure-induced left ventricular hypertrophy in rats. *Circ Res* 1991; 69:609-17.
37. Kingsbury M, Mahne A, Turner M, Sheridan D. Recovery of coronary function and morphology during regression of left ventricular hypertrophy. *Cardiovasc Res* 2002; 55:83-96.
38. Balke CW, Shorofsky. Alterations in calcium handling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc Res* 1998; 37:290-9.
39. Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Douglas PS. Chronic ACE inhibition attenuates progression of systolic and diastolic dysfunction. *Circulation* 1993; 88(suppl. I):1-527.
40. Tombe PP. Altered contractile function in heart failure. *Cardiovasc Res* 1998; 37:367-80.
41. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Ver* 1999; 79:215-62.
42. Maisch B. Ventricular remodeling. *Cardiology* 1996; 87(suppl 1):2-10.
43. Willenheimer R. Left ventricular remodeling and dysfunction can the process be prevented? *Intern J Cardiol* 2000; 72:143-50.
44. Spinale FG, Mukherjee R, Iannini JP et GL. Modulation of the renin-angiotensin pathway through enzyme inhibition and specific receptor blockade in pacing-induced heart failure II. Effects on myocyte contractile processes. *Circulation* 1997; 96:2397-403.
45. Spinale FC, de Gasparo M, Whitebread S et GL. Modulation of the renin-angiotensin pathway through enzyme inhibition and specific receptor blockade in pacing-induced heart failure. I. Effects on left ventricular performance and neurohumoral systems. *Circulation* 1997; 96:2385-96.
46. Litwin SE, Morgan P. Captopril enhances intracellular calcium handling and  $\alpha$ -adrenergic responsiveness of myocardium from rats with post-infarction failure. *Circ Res* 1992; 71:797-807.
47. Kagaya Y, Hajjar RJ, Gwathmey JK, et GL. Long-term angiotensin-converting enzyme inhibition with fosinopril improves depressed responsiveness to  $Ca^{+2}$  in myocytes from aortic-banded rats. *Circulation* 1996; 94:2915-22.
48. Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system. Conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res* 1999; 85:643-50.
49. Neyes L, Vetter H. Impaired relaxation of the hypertrophied myocardium is potentiated by angiotensin II. *J Hypertens* 1989; 7(suppl.):S104-S105.
50. Friedrich SP, Lorell BH, Douglas PS, et al. Intracardiac ACE inhibition improves diastolic distensibility in patients with left ventricular hypertrophy due to aortic stenosis. *Circulation* 1994; 90:2761-71.