

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

**Influência do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona Periférico e
Central no Desenvolvimento de Insuficiência Cardíaca em Ratos.**

Daniel de Castro Trindade

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

INFLUÊNCIA DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA
PERIFÉRICO E CENTRAL NO DESENVOLVIMENTO DE INSUFICIÊNCIA
CARDÍACA EM RATOS.

DANIEL DE CASTRO TRINDADE

Sob a Orientação do Professor

Luis Carlos Reis

e Co-orientação do Professor

Emerson Lopes Olivares

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestre em Ciências**, no
Curso de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária, Área de
Concentração em Ciências Clínicas

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

DANIEL DE CASTRO TRINDADE

Dissertação/Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO (TESE) APROVADA EM 28/02/2008

Emerson Lopes Olivares. Ph.D. UFRRJ
(Co-orientador)

Wellington da Silva Côrtes. Ph.D. UFRRJ

João Pedro Saar Werneck de Castro. Ph.D. UFRJ

RESUMO

TRINDADE, Daniel de Castro. **Influência do sistema renina-angiotensina periférico e central no desenvolvimento de insuficiência cardíaca em ratos**. 2008. 45p Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

O infarto do miocárdio foi induzido em ratos pela oclusão permanente da artéria coronária esquerda em duas diferentes etapas. Na primeira, os ratos infartados foram tratados (CAPoral, 2g/L água) ou não (INF) com captopril por via oral imediatamente após o infarto e durante todo período do experimento (21 dias). Na segunda etapa, os ratos infartados foram tratados com captopril (CAPicv, 2 µL – 25mg/mL/ 12-12 horas) ou salina (SAL) intracerebroventricular (icv) durante cinco dias consecutivos. As avaliações funcionais foram realizadas por eletrocardiograma (ECG) e ecocardiografia (ECO) antes e ao final do experimento. O estudo comportamental de ingestão de água ou salina hipertônica foi realizado em gaiolas metabólicas individuais durante todo período de injeções icv. A avaliação *post-mortem* foi realizada no final de cada etapa. Os ECGs dos grupos INF, CAPoral, SAL e CAPicv apresentaram valores similares e indicativos de presença de infarto extenso do miocárdio como: diminuição da amplitude do índice QRS, presença de onda Q em D1 e desvio do vetor QRS para direita. As principais diferenças ao final do tratamento entre os grupos INF e CAPoral foram a prevenção do aumento da onda P no grupo CAPoral e a atenuação do desvio do vetor QRS para direita. Em relação aos animais da segunda etapa, não houve diferenças significativas entre os grupos. No ECO realizado na primeira etapa, o grupo CAPoral mostrou atenuação das dilatações do átrio e ventrículo esquerdos, melhora na fração de ejeção e normalização do padrão de enchimento ventricular analisados pela técnica de Doppler. Na segunda etapa, o ECO mostrou que o tratamento com captopril promoveu redução significativa da dilatação do ventrículo esquerdo e melhora do enchimento ventricular. O estudo da ingestão de fluidos mostrou que o grupo CAPicv apresentou menor ingestão de água quando comparado ao grupo SAL. O consumo de salina hipertônica não foi significativamente diferente entre os grupos SAL e CAPicv. O grupo CAPoral apresentou menor tamanho de infarto quando comparado ao grupo INF, o que não foi observado no grupo CAPicv, que apresentou tamanho de infarto similar ao grupo SAL no estudo histológico.

Palavras-chave: Infarto, Sistema renina-angiotensina, Captopril.

ABSTRACT

TRINDADE, Daniel de Castro. **Influence of local and central renin-angiotensin system in development of heart failure in rats.** 2008. 45p Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Instituto de Veterinária, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

The myocardial infarction was induced in rats by the permanent occlusion of left coronary artery in two different parts. In the first, infarcted rats were treated (CAPoral, 2g/L water) or not (INF) with oral captopril immediately after infarct and the whole experiment (21 days). In the second part, the infarcted rats were treated with captopril (CAPicv, 2 μ L – 25 mg/mL/ 12-12 hours) or saline (SAL) intracerebroventricular (icv) during five consecutive days. The functional assessments were performed by electro (ECG) and echocardiogram before and after the experiment. The behavior study of water or hypertonic saline ingestion was performed in individual metabolic cages during the whole period of icv injections. The *post-mortem* assessment was performed in the end of each part. The ECG recorded from INF, CAPoral, SAL and CAPicv showed similar and indicative values of large myocardial infarction: decrease of QRS index amplitude, presence of Q wave in D1 and rightward deviation of the QRS axis. The main differences in the end of the treatment between INF and CAPoral groups were the prevention of P wave increase and attenuation in rightward deviation of the QRS axis in CAPoral. In the second part, there were no significant differences in ECG exam between infarcted groups. The ECO performed in the first part showed attenuation of the left atrial and ventricular dilatation, ejection fraction improvement and normalization of left ventricular filling only in CAPoral group. In the second part, ECO also showed that captopril treatment induced significative attenuation of left ventricular dilatation and improvement of ventricular filling similarly as captopril treatment by oral route. The study of fluids ingestion showed that CAPicv group exhibited less water ingestion if compared to SAL group. The hypertonic saline ingestion was not different between SAL and CAPicv groups. CAPoral group exhibited smaller scar tissue if compared to INF group. On the other hand, CAPicv group showed similar infarcted area to SAL group in histological study.

Key-words: Infarct, Renin-angiotensin system, Captopril.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	
2.1 Características gerais do infarto cicatrizado	3
2.2 Insuficiência miocárdica	3
2.3 Modelo experimental de produção de insuficiência cardíaca através do infarto cicatrizado do miocárdio	4
2.4 Sistema Renina-Angiotensina na fisiopatologia da insuficiência cardíaca	4
2.5 Insuficiência cardíaca e SRAA central	8
2.6 Estratégias terapêuticas para o controle da insuficiência cardíaca: Diferença entre iECAs periférico e central e os ARAs	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	
3.1 Animais estudados e grupos experimentais	13
3.2 Produção de insuficiência cardíaca	14
3.3 Implantação de cânula intracerebroventricular	15
3.4 Avaliações funcionais	
3.4.1 Estudo eletrocardiográfico (ECG)	15
3.4.2 Estudo ecocardiográfico (ECO)	16
3.4.2.1 Preparação dos animais	16
3.4.2.2 O ecocardiógrafo	16
3.4.2.3 As imagens	17
3.4.2.4 As medidas	17
3.4.2.5 Geometria do coração	17
3.4.2.6 Função sistólica	18
3.4.2.7 Função diastólica	19
3.5 Tratamento com as drogas	
3.5.1 Tratamento com a droga iECA captopril	20
3.6 Estudo <i>post-mortem</i>	
3.6.1 Avaliação da hipertrofia cardíaca	20
3.6.2 Avaliação indireta da insuficiência cardíaca	20
3.6.3 Planimetria	21
3.7 Análise estatística	21
4. RESULTADOS	
4.1 1ª Etapa: Estudo Periférico	
Estudo funcional – Eletrocardiografia (ECG)	
4.1.1 Determinação da frequência cardíaca (bpm) no traçado	23
4.1.2 Avaliação da amplitude da onda P (mV) no traçado	23
4.1.3 Avaliação do índice do complexo QRS no traçado	23
4.1.4 Avaliação do vetor médio de despolarização ventricular no traçado	24
4.1.5 Presença e amplitude da onda Q (mV) na derivação D1 do traçado	25
4.1.6 Estudo funcional – Ecocardiografia (ECO)	28

Estudo Anátomo-Patológico	
4.1.7 Avaliação do índice cardíaco	31
4.1.8 Avaliação do índice do pulmão	31
4.1.9 Avaliação do índice do fígado	31
4.1.10 Determinação do tamanho do infarto do ventrículo esquerdo (VE)	32
4.2 2ª Etapa: Estudo Central	
Estudo Funcional – Eletrocardiografia	
4.2.1 Determinação da frequência cardíaca (bpm) no traçado	33
4.2.2 Avaliação da amplitude da onda P (mV) no traçado	33
4.2.3 Avaliação do índice do complexo QRS no traçado	34
4.2.4 Avaliação do vetor médio de despolarização ventricular no traçado	34
4.2.5 Presença e amplitude da onda Q na derivação D1 do traçado	34
4.2.6 Estudo Funcional – Ecocardiografia	35
Estudo Comportamental	
4.2.7 Ingestão de fluidos	38
Estudo Anátomo-Patológico	
4.2.8 Avaliação do índice cardíaco	39
4.2.9 Avaliação do índice do pulmão	39
4.2.10 Avaliação do índice do fígado	39
4.2.11 Determinação do tamanho do infarto do ventrículo esquerdo (VE)	40
5. DISCUSSÃO	
5.1 1ª Etapa: Estudo Periférico	42
5.2 2ª Etapa: Estudo Central	45
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	47

ANEXOS

A – Artigo dos Anais da Academia Brasileira de Ciências (2007) 79(2): 251-259

1. INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca congestiva é caracterizada por acúmulo de fluido nos tecidos, resposta simpática aumentada e regulação barorreflexa alterada. Apresenta-se como problema importante e crescente no mundo atual e à espera de melhores estratégias terapêuticas que resultem em maiores benefícios para os pacientes. Ela se caracteriza como um estado fisiopatológico com mudanças na função e arquitetura do coração, havendo uma redução das funções cardiovasculares e o surgimento de uma série de alterações sistêmicas (FRANCIS et al., 2002). Portanto, o entendimento desse processo se torna necessário pois os efeitos produzidos após a instalação do quadro pode levar dependendo de sua evolução, a um pior prognóstico para o paciente (ZORNOFF et al, 2000). Assim, várias estratégias terapêuticas vêm sendo realizadas com o intuito de modular os mecanismos fisiológicos compensatórios. Um dos mais importantes desses, o SRRA (Sistema Renina Angiotensina Aldosterona), um complexo sistema neuro-humoral que tem como uma das funções manter normal a pressão sanguínea e a perfusão dos tecidos, quando há uma queda do débito cardíaco. Entre as estratégias empregadas atualmente, observam-se o uso dos inibidores do SRRA, como os inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA) e antagonistas de receptores de angiotensina II (ARA), bem como o uso de bloqueadores dos receptores beta adrenérgicos e os nitrovasodilatadores, todas amplamente usadas no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva.

Utilizando um modelo clássico de produção de insuficiência cardíaca em ratos através da ligadura de um ramo da artéria coronária esquerda, foi testada a hipótese de que o sistema renina angiotensina central ou periférico influencie no desenvolvimento fisiopatológico de insuficiência cardíaca congestiva (ICC).

Objetivos:

a) Geral

- Estudar o papel do sistema renina angiotensina na progressão da ICC em ratos.

b) Específicos

- Avaliar a resposta do bloqueio periférico do SRA nos parâmetros morfofuncionais cardíacos.
- Verificar a resposta do bloqueio central do SRA nos parâmetros morfofuncionais cardíacos.
- Estudar a regulação hidroeletrolítica através da análise do comportamento ingestivo de fluidos (água e sódio) e relacionar tais parâmetros com a progressão da IC no modelo de tratamento central com um inibidor da ECA.

Justificativa:

O papel do sistema renina angiotensina no desenvolvimento de insuficiência cardíaca tem sido amplamente descrito. Porém, a importância desse sistema sob o ponto de vista das alterações funcionais detectadas pela eletrocardiografia e ecocardiografia necessita de maiores esclarecimentos. Além disso, estudos que dão enfoque ao papel que o sistema nervoso central exerce sobre esses mecanismos são raros na literatura. Portanto, esse estudo se torna extremamente relevante não somente para contribuir com a caracterização dos mecanismos neuro-humorais relacionados ao desenvolvimento da ICC como também fornecer bases experimentais para a descoberta de novas estratégias terapêuticas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características Gerais do Infarto Cicatrizado

O infarto do miocárdio é caracterizado pela presença de tecido fibroso formado após a fase da doença isquêmica. Estruturalmente, o miocárdio lesado se modifica e apresenta uma cicatriz fibrosa neovascularizada transmural ou subendocárdica, constituída por uma densa camada de fibras colágenas e fibroblastos (MALLORY et al., 1939; FISHBEIN et al., 1978). O tecido miocárdico sobrevivente pode também sofrer modificações anátomo-patológicas que variam em intensidade devido a fatores estruturais e hemodinâmicos que se instalam desde a fase aguda. Estas modificações abrangem: hipertrofia, aumento da câmara ventricular e, em alguns casos, formação de aneurisma, caracterizando o chamado “remodelamento cardíaco” (ELLIS et al., 1962; FACTOR, 1990; PFEFFER & BRAUNWALD, 1990). Pacientes com infarto crônico do miocárdio caracterizam-se clinicamente por apresentarem arritmias ventriculares e insuficiência cardíaca, principalmente em infartos de grande extensão, e tornam-se vulneráveis à morte súbita (JULIAN, 1989; MORRIS et al., 1990).

2.2 Insuficiência Miocárdica

A insuficiência do miocárdio está relacionada com diminuição da contratilidade. Pode estar associada com doença miocárdica primária (cardiomiopatia dilatada idiopática) ou doença miocárdica secundária (doença cardíaca valvar ou congênita, tirotoxicose, deficiência de taurina, doença inflamatória/infecciosa e infiltrativa). A insuficiência do miocárdio causa disfunção sistólica e a ativação de mecanismos compensatórios, aumentando o retorno venoso para o coração. Os ventrículos devem obter um grande volume diastólico final a fim de manter o volume de ejeção total (VET) relativamente normal. Assim, com a deterioração da função do miocárdio (notado pela diminuição das frações de encurtamento e de ejeção observadas no exame ecocardiográfico), os ventrículos aumentam progressivamente (dilatação), de modo que o VET precisa ser mantido, ainda que a porcentagem de sangue a ser ejetada (fração de ejeção) esteja diminuindo. Uma grave dilatação do ventrículo esquerdo causa deformação e dilatação do anel da válvula mitral, resultando em regurgitação mitral e promovendo sobrecarga de volume nesse ventrículo. Uma vez que o limite compensatório da hipertrofia por sobrecarga de volume é alcançado, ocorrerá o aumento do volume sanguíneo (associado com retenção de sódio e água) e do retorno venoso, causando aumento da pré-carga cardíaca, caracterizando o quadro de ICC (insuficiência cardíaca congestiva). Nesse caso, haverá acúmulo de fluidos nos tecidos, com aumento da pressão hidrostática, elevações das pressões intra-atrial e intra-ventricular (FRANCIS et al., 2001; TILLEY & GOODWIN, 2002).

2.3 Modelo Experimental de Produção de Insuficiência Cardíaca Através do Infarto Cicatrizado do Miocárdio

O modelo experimental de oclusão da artéria coronária em ratos foi descrito primeiramente no ano de 1946 por Robert F. Heimbarger, que estudava a revascularização do miocárdio através de injeção de substâncias no saco pericárdio. Oito anos mais tarde (1954), Johns & Olson se preocuparam em descrever a mesma técnica com mais propriedade, dando inclusive, detalhes sobre a distribuição das artérias coronárias em diferentes espécies de animais de laboratório e procurando estabelecer um modelo de infarto agudo do miocárdio (IAM). Em 1959, Kaufman, Gava e Hill publicaram dados morfológicos e histoquímicos,

observados em ratos com IAM, obtidos pela técnica de oclusão da artéria coronária descendente anterior; mas foi em 1978, com Fishbein et al. (1978), que este modelo experimental ganhou grande contribuição, sendo até hoje um dos trabalhos mais citados como referência para detalhamento da técnica.

2.4 Sistema Renina-Angiotensina na Fisiopatologia da Insuficiência Cardíaca

O entendimento atual da fisiopatologia da insuficiência cardíaca vai além da falência de bomba propriamente dita e, em consequência desta, retenção de sal e água. Identificam-se outros aspectos fisiopatológicos que estão relacionados ao sistema neuroendócrino: as citocinas, a modificação do sistema imune, o remodelamento ventricular e a morte celular programada. Todas essas alterações estão envolvidas na gênese ou na manutenção da descompensação cardíaca. Entre elas, a participação do sistema nervoso autônomo simpático (SNAS) e do sistema renina-angiotensina (SRA) é o que tem merecido maiores atenção e preocupação e apresentando melhores resultados à intervenções terapêuticas (FEITOSA & CARVALHO, 2000).

Na patogênese da insuficiência cardíaca (IC) ainda é importante lembrar que a queda da pressão glomerular decorrente da diminuição do débito cardíaco, além de mecanismos reflexos mediados por sistema nervoso autônomo, via sistema barorreceptores, estabelece-se e contribui de forma decisiva para a ativação do SRA e consequentemente do processo de IC. Esse sistema, inicialmente adaptativo, serve para restaurar o débito cardíaco; porém, se torna mal adaptativo no decorrer da evolução dessa síndrome (TILLEY & GOODWIN, 2002; FEITOSA & CARVALHO, 2000).

Em resposta à diminuição do volume sanguíneo efetivo que chega ao rim, a renina é liberada pela mácula densa do aparelho justaglomerular renal. Na circulação, ela catalisa a conversão do angiotensinogênio (uma alfa globulina hepática) em angiotensina I que, por sua vez, sofrerá a hidrólise pela enzima conversora de angiotensina (ECA), situada na superfície do endotélio vascular, sendo convertida em um octapeptídeo efetor (angiotensina II). Para exercer sua atividade biológica, a angiotensina II liga-se preferencialmente ao receptor de alta afinidade AT1 encontrado em uma grande variedade de tecidos. Assim, a angiotensina II exerce suas ações, que vão além de seu grande poder vasoconstrictor. Um dos efeitos mais conhecidos é o estímulo direto da reabsorção de sódio no túbulo contornado proximal dos rins e aumento da síntese/liberação de aldosterona pelas glândulas adrenais. Esse por sua vez, contribui para a reabsorção tubular distal de sódio. A angiotensina II também aumenta a liberação de catecolaminas das terminações nervosas simpáticas, portanto, contribuindo para o aumento da contratilidade miocárdica. A produção exagerada crônica de angiotensina II pode resultar em remodelamento dos vasos sanguíneos e do coração, papel preponderante na evolução do processo de insuficiência cardíaca (BERNE & LEVY, 2004; FEITOSA & CARVALHO, 2000).

Embora o clássico sistema renina angiotensina (SRA) plasmático esteja envolvido nesse processo, há evidências de que a produção local com efeitos autócrinos e parácrinos da angiotensina II nos tecidos, especialmente o muscular cardíaco, por uma variedade de vias, possa ser mais importante no remodelamento cardiovascular. Esse complexo sistema tem sido identificado em vários tecidos, como coração e cérebro, podendo a ECA catalisar a produção de angiotensina II dentro desses. Essa formação intratecidual de angiotensina II pode ser fundamental na progressão da doença cardíaca. Adicionalmente, essas vias alternativas de formação de angiotensina II podem estar hiperativadas em situações patológicas, levando à falência cardíaca sistólica (FEITOSA & CARVALHO, 2000).

Francis et al. (2001), publicaram um dos trabalhos mais interessantes dentre aqueles que estudaram de forma seriada os aspectos neurohumorais na insuficiência cardíaca.

Utilizando o clássico modelo de ligadura da artéria coronária em ratos, eles demonstraram que a fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi reduzida imediatamente 24 horas após a cirurgia a níveis compatíveis com o processo de insuficiência cardíaca e se manteve inalterada após a segunda, quarta e sexta semanas. Por outro lado, o volume diastólico final ventricular esquerdo (VDFVE) aumentou significativamente no primeiro dia e continuou aumentando após a segunda, quarta e sexta semana pós-infarto. Dentro dos limites impostos pelo aumento do estresse de parede ventricular, este aumento de volume do VE trouxe efeitos hemodinâmicos benéficos no aumento do volume sistólico, a despeito da persistente queda da fração de ejeção. É claro que a ativação do SRA tem papel importante nesse processo devido à sua conhecida participação no aumento da pressão de enchimento da câmara ventricular esquerda, neste caso, já dilatada.

Contudo, após a segunda semana pós-infarto, houve uma correlação negativa entre a ativação do SRA (medida em termos de “atividade da renina plasmática”) e a fração de ejeção e mais tarde (4^a, 5^a e 6^a semana) atingiu níveis baixos de ativação. Os autores ainda salientaram que, neste modelo, o volume sistólico estabilizou-se em nível máximo de compensação enquanto o VDFVE continuou aumentando progressivamente na quarta semana pós-infarto. Assim, a dilatação progressiva, na ausência do aumento adicional do volume sistólico, determinou a exaustão do ganho compensatório produzido pelo remodelamento ventricular. Por fim, a continuidade da ativação neurohumoral causou retenção de fluidos e vasoconstrição periférica, impondo ao sistema homeostático características malignas.

A dissociação entre a dinâmica ventricular esquerda e os índices neurohumorais na fase tardia da ICC são bastante interessantes. Por exemplo, a atividade do SRA exerce um efeito compensatório importante na fase inicial, porém tardiamente, quando há dissociação entre o VDFVE e volume sistólico, o SRA não responde. De modo similar, os níveis de Vasopressina atingem valores elevados na 3^a semana e se mantém estáveis durante todo o tempo de observação, não aumentando adicionalmente, mesmo com o aumento progressivo da dilatação do VE. Assim, o SRA e a vasopressina que contribuem para a retenção de fluidos e para a vasoconstrição não respondem pela transição da fase compensatória inicial para a falência cardíaca descompensada. Pelo contrário, no caso do SRA, existe uma estabilização em baixos níveis a partir da 3^a semana pós-ligadura da artéria coronária esquerda descendente anterior.

Os autores trabalharam também com os animais em gaiolas metabólicas e não observaram quaisquer alterações no processo de regulação hidroeletrólítica que explicassem a progressão do aumento do volume do VE: a ingestão de salina hipertônica, que reflete a ativação de estruturas prosencefálicas tanto pela angiotensina II como pela aldosterona (JOHNSON & THUNHORST, 1997) e de água, aumentaram na primeira semana pós-ligadura e se mantiveram assim por todo o tempo (6 semanas). A excreção de sódio e o volume de urina (que reflete, dentre outros fatores, a influência periférica da vasopressina) se mantiveram baixos também por todo o período, diminuindo também logo na primeira semana pós-ligadura. Portanto, estas observações sugerem uma relativa insensibilidade aos efeitos dos mediadores humorais ligados ao balanço hidroeletrólítico na insuficiência cardíaca. Por fim, os autores concluem que a seqüência de eventos que levam à insuficiência cardíaca congestiva descompensada não pode ser atribuída somente a eventos neurohumorais que ocorrem em resposta ao insulto isquêmico inicial, mas também à atuação tardia e sustentada do sistema nervoso nesse processo. O aumento da atividade metabólica hipotalâmica, em particular do núcleo paraventricular, um importante centro que recebe tanto influências descendentes prosencefálicas como ascendentes do tronco cerebral, na ICC em ratos já é bem descrito (PATEL, 1997). Portanto, estudos complementares se tornam necessários para verificar se outros sistemas importantes exercem ações em situações de insuficiência cardíaca congestiva em longo prazo.

2.5 Insuficiência Cardíaca e SRAA Central.

O sistema angiotensina central, o qual depende da ação da ECA, regula várias funções cardiovasculares por vias neurohumorais, mas a atividade desse importante sistema permanece ainda pouco conhecida (SATO et al., 1998).

As respostas neuro-humorais da insuficiência cardíaca (IC) são classificadas em periférica e central de acordo com a sua origem. Entre as respostas neurohumorais na IC que necessitam do envolvimento de neurônios do sistema nervoso central (SNC) estão: i) o efeito dipsogênico e o apetite por sódio, ii) liberação de adrenocorticotrofina (ACTH) e conseqüente aumento do cortisol circulante, iii) liberação de vasopressina acompanhando retenção de água, vasoconstrição e hiponatremia, iv) atividade simpática exacerbada com níveis circulantes elevados de noradrenalina. A resposta simpática aumentada na IC é fortemente associada com remodelamento ventricular e depressão miocárdica, arritmias e vasoconstrição.

A síndrome de IC é caracterizada por uma complexa interface entre estas respostas de ativação neurohumoral central e periférica. Por exemplo, as respostas que podem ser atribuídas à ativação de centros cerebrais cardiovasculares e autonômicos são estimulados por peptídeos liberados por tecidos periféricos e por estímulos sensoriais alterados provenientes do sistema cardiovascular – todos conseqüência de função ventricular esquerda insuficiente. Nesta consideração, a resposta simpática central e o SRAA periférico aparentam estar fechado dentro de uma relação de feedforward – a angiotensina II formada no sangue age em receptores AT1 em áreas cerebrais prosencefálicas aumentando a atividade nervosa simpática, no qual por sua vez age nos rins para estimular a liberação de Renina, o que levará a um aumento na produção de angiotensina II. Considerando a mediação simpática desses efeitos, as ações deletérias dessa estimulação na função do VE estão bem descritos. Portanto, apesar das ações aumentadas do SRAA na IC serem direcionados aos efeitos deletérios sobre a função do VE, já é claro que a sinalização cérebro-coração via mecanismos neuro-humorais é também importante fator determinante do remodelamento após processo de isquemia.

Uma outra hipótese já considerada é a amplificação do SRAA na resposta simpática, induzida pelas citocinas formadas na circulação após a indução de IC por isquemia, fortalecendo mais uma vez a interação entre coração-cérebro (FELDER et al., 2002)

As funções relevantes do hipotálamo e NPV (Núcleo Paraventricular) e seus envolvimento com a patogênese da IC tem sido demonstrada por autores como Patel (1997, 2000) e Zang (1999). Pertinentes a síndrome de IC estão os neurônios do NPV que produzem e liberam vasopressina e CRH (hormônio liberador de corticotrofina) e aqueles que projetam aferências nervosas para os principais centros de resposta simpática, a medula rostral ventrolateral e a coluna intermédio lateral da medula espinhal.

Neurônios do NPV recebem e integram sinais ascendentes oriundos de regiões cerebrais relacionadas com pressão e volume dentro do sistema cardiovascular e sinais provenientes de regiões incluindo órgãos circunventriculares da lâmina terminal, no qual é desprovida de barreira hemato-encefálica e, entretanto são ativados pela presença de peptídeos neuroativos formados na circulação sanguínea. Nesse exemplo, a angiotensina periférica afeta secundariamente o neurônio, via uma influência de neurônios de órgãos circunventriculares da lâmina terminal. Entretanto, a angiotensina também pode ser produzida dentro da barreira hemato-encefálica para ativar receptores AT1 em neurônios do NPV (DAWSON, et al. 1998).

O Núcleo Paraventricular hipotalâmico é considerado um sítio cerebral crítico na mediação de respostas neuro-humorais ao stress. É tido também como um principal efetor para mecanismos prosencefálicos de regulação de fluido de volume extracelular e resposta simpática. Zhang et al. (2002) mostraram que ratos com IC induzida por isquemia,

apresentaram atividade metabólica dentro do NPV muito aumentada. Estes pesquisadores também concluíram em seus trabalhos que o bloqueio cerebral de receptores AT1 ou de mineralocorticóides pode reduzir a resposta simpática e melhorar a regulação barorreflexa da atividade nervosa simpática renal em ratos com IC. Além disso, para provar que a ativação de componentes prosencefálicos do SRAA aumenta a taxa de descarga de neurônios do NPV na IC, contribuindo para retenção de volume e aumento de resposta simpática, eles também testaram essa hipótese após o bloqueio seletivo de diversos componentes específicos do SRAA (ex: inibição da ECA; receptores de Aldosterona e Angiotensina). Ambos losartan (antagonista de receptor de angiotensina) e captopril (iECA) substancialmente e transitoriamente reduziram a taxa de descarga de neurônios do NPV e a pressão arterial dos animais tratados. Espironolactona (antagonista de receptor de aldosterona) também foi capaz de reduzir a taxa de descarga neuronal do NPV, mas com uma maior latência e sem afetar a pressão arterial.

2.6 Estratégias Terapêuticas Para o Controle da Insuficiência Cardíaca: Diferença Entre iECAs Periférico e Central e os ARAs.

Os inibidores da ECA causam vasodilatação mista por impedir a conversão de angiotensina I em angiotensina II, sendo esta última um potente vasoconstrictor. A redução nos níveis plasmáticos de angiotensina II resulta na diminuição da vasoconstricção, assim como na diminuição da atividade do Sistema Nervoso Simpático (SNS). Além disso, a inibição da ECA reduz a síntese e secreção do hormônio aldosterona, levando à menor retenção de sódio e água. Essas drogas, portanto, diminuem significativamente os sinais clínicos da insuficiência cardíaca. Fármacos como o Enalapril, têm sido estudado extensivamente em medicina e estão aprovados para o uso em humanos e animais. Dentre os efeitos benéficos dessas drogas podemos citar: diminuição da pressão capilar pulmonar, melhora do estado geral e aumento no tempo de sobrevivência dos animais tratados (KALKMAN et al., 1999). Estudos em gatos sugerem que os inibidores da ECA são efetivos no controle da ICC associada à hipertrofia e outras formas de cardiomiopatia, notando em alguns desses animais, uma significativa regressão da hipertrofia concêntrica do VE (ventrículo esquerdo). Independente da causa da insuficiência cardíaca, o tratamento com os iECA é iniciado precocemente, não havendo indicação exata de quando se deve instituir a terapia. Há evidências que a terapia com inibidores da ECA em Dobermans pinchers retarda o surgimento da ICC sintomática (TILLEY & GOODWIN, 2002).

De acordo com Litwin et al., (1996) a avaliação da função cardíaca pelo ecodopplercardiograma revelou que ratos submetidos à insuficiência cardíaca e posteriormente tratados com Captopril mostraram normalização quase que completa nos parâmetros de função diastólica (analisados em termos de velocidade da onda E, tempo de desaceleração da onda E e tempo de relaxamento isovolumétrico). O autor ainda conclui que o tratamento de longa duração com a droga Captopril limitou modestamente o remodelamento cardíaco e a disfunção sistólica.

Kalkman et al (1999), concluíram que o tratamento iniciado precocemente (1-3 semanas pós instalação de insuficiência cardíaca) impediu a hipertrofia do órgão, mas não o crescimento vascular adaptativo e melhorou a perfusão da região viável do miocárdio esquerdo livre.

Também utilizando a terapia iniciada precocemente com Captopril, Hu et al (1998) demonstraram uma redução na pré-carga cardíaca, mas não na dilatação. Além disso, o iECA, mas não o Losartan (ARA), foi efetivo em impedir o aumento do peso do Ventrículo Esquerdo (VE), parâmetro indireto de avaliação de hipertrofia cardíaca.

Shao et al (1999) estudando o efeito do Captopril administrado em tempos diferentes em animais submetidos a infarto do miocárdio: precocemente (três dias pós instalação de IC) e tardiamente (vinte um dias após instalação de IC) verificou que ambos os protocolos utilizados foram efetivos para reduzir a ascite e a congestão pulmonar bem como, normalizar as alterações nas pressões diastólica finais e sistólica do VE.

Estudos realizados por McDonald et al (1997) mostraram que o tratamento com Captopril após um mês de instalação de IC atenuou o aumento adicional do comprimento dos cardiomiócitos no ventrículo esquerdo (VE), ventrículo direito (VD) e septo enquanto o aumento no conteúdo de hidroxipolina no VD e a tendência do aumento no VE observada nos animais não tratados não foram afetados com a terapia. Assim, este trabalho demonstra que mesmo a terapia tardia pode trazer bons resultados sob o aspecto da progressão da hipertrofia do coração em animais com insuficiência cardíaca crônica.

Litwin et al., (1991) mostraram uma piora na função cardíaca utilizando Captopril de 0-3 semanas após a instalação de IC. Observou também um aumento da função cardíaca com o tratamento de 3 a 5 semanas pós IC.

Em um dos trabalhos mais citados na área de insuficiência cardíaca induzida por infarto experimental em ratos, Pfeffer et al., (1995) mostraram melhora da sobrevida durante o período de um ano em ratos tratados com Captopril.

Os antagonistas dos receptores de Angiotensina II (ARAs) realizam um bloqueio mais completo das ações cardiovasculares desse hormônio. Uma diferença em relação aos iECA como já mencionada anteriormente, é que os iECAs não bloqueiam a formação de angiotensina II pelas vias alternativas. Portanto, a quantidade desse peptídeo permanece livre para exercer suas ações em ambos os receptores AT1 e AT2. Diferentemente, os ARAs parecem promover um completo bloqueio da angiotensina II, apenas nos receptores AT1, que são responsáveis por mediar as ações mais conhecidas desse hormônio. Assim, pelo fato de os ARAs não bloquearem os receptores AT2, estes favorecerão a atuação da angiotensina II nesses receptores, o que é sustentado pelo fato de que a angiotensina II se acumula com o uso crônico dos ARAs (CROZIER et al. 1995).

Em estudos, Crozier et al. (1995) demonstraram que os antagonistas de receptores de angiotensina promoveram efeitos vasodilatadores, hemodinâmicos e neuro-humorais benéficos. Em um estudo maior, Pitt et al, (1997) demonstraram que pacientes tratados com Losartan tiveram uma maior redução da taxa de mortalidade.

Estudos realizados por Zornoff et al., (2000) revelaram uma menor hipertrofia cardíaca em relação aos animais não tratados com Losartan. Quanto à intensidade da dilatação ventricular e o tamanho do infarto, não houve diferenças entre os grupos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais Estudados e Grupos Experimentais

No sentido de contemplar os objetivos propostos, este trabalho foi dividido em duas diferentes etapas.

1ª Etapa: Tratamento Periférico utilizando-se uma droga inibidora da Enzima Conversora de Angiotensina (Captopril) diluída em água de beber.

2ª Etapa: Tratamento Central utilizando-se a mesma droga da etapa anterior, porém pela via intracerebroventricular (icv).

Para a realização da primeira etapa deste trabalho foram utilizados 24 ratos Wistar provenientes do DCF (Departamento de Ciências Fisiológicas) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pesando entre 160 e 220 gramas quando incluídos no protocolo experimental. Os grupos experimentais foram compostos de: animais falso operados (Grupo Sham, n = 8) e animais submetidos à insuficiência cardíaca e randomicamente separados para constituir os seguintes grupos: animais sem nenhum tipo de tratamento (Grupo INF, n = 8) e animais tratados com inibidor de ECA (Grupo CAPoral, n = 8).

Os animais desta etapa imediatamente após a cirurgia foram mantidos em gaiolas coletivas de plástico, recebendo ração própria *ad libitum* e água pura de beber para os grupos SHAM e INF e a droga Captopril diluída em água para os animais do grupo CAPoral.

Para a realização da segunda etapa foram utilizados 40 ratos Wistar também provenientes do mesmo departamento e pesando entre 200 e 250 gramas quando incluídos no protocolo experimental. Os grupos experimentais foram compostos de: animais falso operados (Grupo Sham, n = 10) e animais submetidos à insuficiência cardíaca e randomicamente separados para constituir os seguintes grupos recebendo injeções diárias icv: de Salina (Grupo SALINA, n = 15) e de Captopril (Grupo CAPicv, n = 15).

Os animais desta etapa foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, alimentando-se *ad libitum* com ração própria, água pura de beber e solução hipertônica (NaCl 1,8%) para os animais do grupo Sham e do grupo tratado centralmente (SALINA e CAPicv).

3.2 Produção da Insuficiência Cardíaca

A insuficiência cardíaca nos animais foi produzida através da realização de infarto do miocárdio (IM) de acordo com o método descrito por vários autores (HEIMBURGER, 1947; JOHNS & OLSON, 1954; SELYE et al., 1960; FISHBEIN, 1978; PFEFFER et al., 1979) e padronizado no laboratório de Farmacologia do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ como descrito a seguir.

Após a pesagem, os ratos foram anestesiados pela inalação de Éter sulfúrico em câmara anestésica e mantidos sob plano anestésico durante todo o procedimento cirúrgico. Foram submetidos à tricotomia e anti-sepsia do hemitórax esquerdo com solução de álcool iodado a 70%. Foi realizada então uma incisão cirúrgica da pele com cerca de três centímetros, paralela a borda esquerda do esterno, ao nível do impacto do ictus cordis. A seguir, os músculos peitoral e transverso foram divulsionados para possibilitar a visualização das costelas e do ictus cordis. Posteriormente uma sutura em bolsa, atravessando camada cutânea e muscular foi efetuada para possibilitar o rápido fechamento do tórax após a cirurgia.

Após a toracotomia realizada entre o terceiro e quarto espaço intercostal, a artéria coronária esquerda principal foi identificada e ocluída por um ponto realizado entre a borda do átrio esquerdo e a artéria pulmonar com fio cirúrgico de Nylon 6-0. O coração foi rapidamente recolocado na cavidade torácica e o tórax fechado. Para expansão da cavidade torácica, foi realizada ventilação pulmonar com ambú manufaturado, continuada até a estabilização da frequência respiratória espontânea dos animais.

No caso do grupo falso-operado (grupo Sham), o procedimento foi semelhante, excetuando a etapa de ligadura da artéria coronária.

3.3 Implantação de Cânula Intracerebroventricular (icv)

Uma semana após a cirurgia de produção de infarto, os animais foram submetidos novamente à anestesia por injeção intraperitoneal de 1 mL/Kg de peso corporal de uma mistura de 50 mg/mL de Ketamina (Dopalen; Agribands Purina do Brasil Ltda) e 5 mg/mL de Xilazina (Rompum; Bayer As-Saúde Animal) para implantação de cânula intracerebroventricular. A cabeça do animal foi sustentada em um aparato estereotáxico (David Kopf Instruments®, Estados Unidos), e as coordenadas para atingir a região AV3V utilizadas, tomando como referência o bregma, foram as seguintes: anteroposterior 0,5 mm; profundidade 8,7 mm (FRANCIS et al., 2002).

3.4 Avaliações Funcionais

3.4.1 Estudo eletrocardiográfico (ECG)

Para a realização do estudo eletrocardiográfico, os animais foram anestesiados por injeção intraperitoneal de 0,1 mL/100 g de peso de uma mistura de 50 mg/mL de Ketamina (Dopalen; Agribands Purina do Brasil Ltda) e 5 mg/mL de Xilazina (Rompum; Bayer As-Saúde Animal) e imobilizados em decúbito dorsal sobre uma mesa de madeira uma e três semanas após a cirurgia em ambas as etapas. Os quatro eletrodos para as derivações do plano frontal foram conectados a fios de cobre desencapados em suas extremidades. Uma das extremidades foi conectada ao eletrodo e a outra a agulhas hipodérmicas, que por sua vez, foram inseridas subcutaneamente nas patas direita e esquerda e na coxa esquerda como de costume, além da conexão da coxa direita que foi ligada ao aparelho e deste à terra. O aparelho foi calibrado nas velocidades de 25 e 50 mm/s e a sensibilidade de 20 mm = 1mV. O posicionamento dos animais foi rigorosamente padronizado para diminuir a variação dos registros entre eles, sobretudo para os cálculos dos vetores médios de despolarização ventricular.

Os parâmetros avaliados foram: frequência e ritmos cardíacos, amplitude da onda P, a amplitude do complexo QRS, o vetor (ângulo) médio da despolarização no plano frontal, a presença de onda Q e sua amplitude em D1. Os parâmetros temporais foram medidos na derivação D2, ao passo que o ritmo foi avaliado em todo o traçado. Para análise da amplitude da onda P, foi utilizado o parâmetro: presença de ondas P superiores a 0,1 mV nas derivações bipolares. A amplitude do QRS foi calculada pela soma algébrica das ondas positivas e negativas, de uma mesma derivação, nas derivações bipolares e foi denominada índice de amplitude do complexo QRS. O vetor de despolarização ventricular no plano frontal ($\hat{A}QRS$) foi obtido pela relação trigonométrica dente D1 e aVF, ou seja, pelo cálculo do arco tangente ($aVF/D1$) para os ângulos 0 e 90° e $\text{arc tg}(D1/aVF)$ para ângulos entre 90 e 180°, por exemplo.

3.4.2 Estudo ecocardiográfico

3.4.2.1 Preparação dos animais

Ao final do tratamento oral (21 dias pós-cirurgia de produção de infarto) e icv (6 dias pós-implantação de cânula intracerebroventricular) da primeira e segunda etapa respectivamente do estudo, o exame ecodopplercardiográfico foi realizado como já descrito pelo nosso grupo (OLIVARES et al., 2004), de forma seriada como pormenorizado no protocolo experimental.

Após a anestesia, como já descrito anteriormente para o estudo eletrocardiográfico, foi realizada a tricotomia desde a região torácica até, aproximadamente, o terço superior da região abdominal e, em seguida, os animais foram colocados em decúbito lateral esquerdo ou dorsal para a realização do exame.

3.4.2.2 O ecocardiógrafo

Os exames foram realizados em um equipamento comercialmente disponível (Megas – Esaote) que permite a obtenção de imagens nos modos unidimensional e bidimensional e análise das velocidades de fluxo pelas técnicas de Doppler pulsado e contínuo, além do mapeamento de fluxo em cores. Os transdutores utilizados são do tipo eletromecânicos na faixa de 5,0 a 10 MHz.

3.4.2.3 As imagens

Os cortes ecocardiográficos foram obtidos seguindo a nomenclatura da Sociedade Americana de Ecocardiografia (SCHILLER et al., 1989). O animal foi colocado então em decúbito dorsal ou lateral esquerdo e as imagens longitudinais, transversais e apicais foram sequencialmente obtidas. Os dados foram coletados no momento do exame e posteriormente confirmados após a digitalização das imagens representativas de cada animal.

3.4.2.4 As medidas

A análise ecodopplercardiográfica foi realizada por um único observador experiente da técnica, que desconhecia a procedência dos animais quanto aos grupos experimentais aos quais eles pertenciam. As medidas realizadas no Modo-M, orientadas pelo bidimensional, incluíram os seguintes parâmetros: geometria cardíaca e as funções sistólica e diastólica do VE. Tais valores foram obtidos de acordo com o padrão da Sociedade Americana de Ecocardiologia (ASE) e descrito por Shan et al. (1978). O diâmetro do átrio esquerdo e da aorta, os valores de espessura da parede anterior e parede posterior do VE em diástole e os diâmetros diastólico e sistólico finais do VE foram determinados em milímetros no Modo-M.

3.4.2.5 Geometria do coração

Para a análise da anatomia cardíaca foram selecionados os seguintes parâmetros que se seguem:

- a. Dimensão do átrio esquerdo (AE) em mm.
- b. Dimensão da aorta (Ao) em mm.
- c. Relação AE/Ao
- d. Espessura da parede anterior do VE em diástole (PA) em mm.
- e. Espessura da parede posterior do VE em diástole (PP) em mm.
- f. Espessura relativa da parede posterior (ERP): obtendo-se multiplicando por dois a PP e dividindo pelo DDF (diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo). Assim:

$$\text{ERP} = (2 \times \text{PP}) / \text{DDF}$$

- g. Espessura relativa da parede posterior calculada por outro método (ERP'): obtendo-se somando PA + PP e dividindo por DDF (Diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo). O resultado final era multiplicado por 100. Assim:

$$\text{ERP}' = [(\text{PA} + \text{PP}) / \text{DDF}] \times 100$$

3.4.2.6 Função sistólica

Para a análise da função sistólica foram determinados: a fração de encurtamento do VE (SF%) e a fração de ejeção do VE obtida pelo método de Simpson (EF%):

- a) Fração de encurtamento – A SF% foi calculada através da diferença entre o diâmetro diastólico final (DDF) e o diâmetro sistólico final (DSF), dividida pelo DDF e multiplicada por 100. Assim:

$$\text{SF}\% = [(\text{DDF} - \text{DSF}) / \text{DDF}] \times 100$$

b) Fração de ejeção pelo método de Simpson – Um outro parâmetro de função sistólica utilizado foi a fração de ejeção do VE (EF%), obtida pelos dois cortes bidimensionais do VE (transversal e apical quatro câmaras). Este método de cálculo da fração de ejeção é o recomendado pela ASE, por ser o mais representativo dos métodos que avaliam a fração de ejeção em ventrículos com contratilidade heterogênea decorrente de infarto, cavidade deformada (aneurisma), ou quando as avaliações a partir das medidas da porção basal não representam a função global do VE (SCHILLER et al., 1989). Além disso, é freqüente na literatura a utilização desse método de avaliação da função sistólica no modelo de ICC em ratos (PRUNIER et al., 2002; BEL et al., 2003; YOOSHIYAMA et al., 2004). Assim, as medidas necessárias para a estimativa dos volumes sistólico e diastólico do VE foram obtidas em cortes bidimensionais (transversal e apical 4 câmaras) procurando se obter quase ortogonal (60 a 90 graus). Com o método de Simpson modificado (SCHILLER et al., 1989) o volume do ventrículo é calculado pelo somatório do volume de várias fatias transversais iguais, obtidas em cada um dos cortes bidimensionais. A partir destas imagens, um programa de computador, utilizando fórmulas matemáticas, estima os valores da fração de ejeção. Este método tem bons resultados, independentemente do tamanho ou da deformidade da câmara. Após o contorno do VE, realizado manualmente através do cursor do aparelho ecocardiográfico, os valores da EF% foram obtidos no momento do exame.

3.4.2.7 Função diastólica

No caso da função diastólica, foram utilizados os índices derivados da velocidade de fluxo diastólico mitral obtidos pela técnica de Doppler pulsátil. Tais índices compreenderam:

- a) Onda E: maior valor da velocidade de fluxo inicial do enchimento ventricular.
- b) Onda A: maior valor da velocidade de fluxo telediastólico mitral.
- c) Relação E/A: relação entre a velocidade máxima da onda E e a velocidade máxima da onda A. Os animais que apresentarem E/A acima de 3,0 foram classificados como: padrão de enchimento ventricular “restritivo” (LITWIN et al., 1994, 1995; TANAKA et al., 1996; HOIT et al., 1997).

3.5 Tratamento Com As Drogas

3.5.1 Tratamento com a droga iECA captopril

Após a recuperação da anestesia pós indução de insuficiência cardíaca, os animais do Grupo CAPoral pertencentes ao estudo periférico receberam tratamento com Captopril em pó (produto manipulado – Drograria Moderna) diluído em água de beber (dois gramas do produto para cada litro de água), conforme descrito por Pfeffer et al. (1987), Goy (1990), Kalkman (1996) e Shoemaker (1996) e fornecido continuamente como única fonte de água até o término desta etapa do experimento (quatro semanas).

Nos animais pertencentes ao tratamento central (CAPicv - 2ª etapa), após a recuperação da cirurgia de implantação de cânula intracerebroventricular, estes passaram a receber injeções diárias (12/12 horas) de 2 minutos com uma agulha de aço inox de 0,2 mm de diâmetro em um volume de 2µL/rato de captopril (25 mg/mL) durante 6 dias após um período de adaptação de dois dias em gaiolas metabólicas.

3.6 Estudo *Post-Mortem*

3.6.1 Avaliação da hipertrofia cardíaca (índice cardíaco)

A avaliação do índice cardíaco foi realizada em ambas as etapas pela medida do peso do coração em miligramas e normalizadas pelo peso corporal do animal, em gramas, em todos os grupos (FRANCIS et al., 2001).

3.6.2 Avaliação indireta da insuficiência cardíaca

Simultâneo ao estudo do índice cardíaco, foi realizado o estudo da insuficiência cardíaca esquerda e direita também em ambas as etapas do estudo, medindo-se os pesos, em miligramas, dos pulmões e fígado respectivamente, e normalizando-os pelo peso corporal em gramas, em todos os grupos (PRUNIER et al., 2002).

3.6.3 Planimetria

Vinte e um dias pós-cirurgia de produção de insuficiência cardíaca na 1ª e 2ª etapas, os animais foram anestesiados com éter e sacrificados por deslocamento cervical para o estudo anatomo-histopatológico.

Os corações foram retirados rapidamente, secados com papel de filtro, pesados para avaliação do grau de hipertrofia e submetidos a avaliações planimétricas do infarto como

descrito por Zornoff et al (1997). Posteriormente, foram fixados em formol a 10% para o processamento histológico. Foram realizados a retirada dos átrios e um corte transversal (aproximadamente 2 mm de espessura) na altura dos músculos papilares (6 mm do ápice para a base do órgão) pelo fato deste ser o melhor representativo do tamanho do infarto total (SPADARO et al., 1980).

Para o estudo histológico, foram realizados cortes transversais de cinco micrômetros, corados em lâmina por meio de solução de Tricômio de Gomori e utilizados para análise morfométrica através do Software ImageJ (Sun Microsystems Inc. California, USA). O tamanho da cicatriz instalada após o infarto foi obtido após a determinação do percentual desta nas superfícies endo e epicárdicas em relação à circunferência total do VE. O valor médio do tamanho do infarto foi a média aritmética do tamanho da cicatriz presente no VE.

3.7 Análise Estatística

A análise estatística foi utilizada para a comparação dos resultados apresentados pelos grupos experimentais. No caso de comparação envolvendo o mesmo grupo em tempos diferentes, foi utilizado o Teste t de Student para grupos pareados. No caso de comparação entre dois grupos, foi utilizado o Teste t de Student para grupos não pareados. Quando a análise envolveu mais de dois grupos, a análise da variância foi a de eleição. Para eventos do tipo sim ou não, por exemplo, a presença de onda P maior que 0,1 mV, o Teste exato de Fisher foi utilizado. Em todos os testes, o grau mínimo de significância considerado foi de 95% ($P < 0.05$) ou 99% ($P < 0,01$). Quando o grau mínimo de significância foi atingido ($P < 0,05$), o pós-teste de Tukey então foi realizado.

Todos os cálculos foram realizados no computador, utilizando para tanto, o programa GraphPad Prism (Versão 4.0 , EUA). Os valores foram representados como média \pm s.e.m (erro padrão da média).

4. RESULTADOS

4.1 1ª Etapa: Estudo Periférico

Estudo Funcional – Eletrocardiografia (ECG)

4.1.1 Determinação da frequência cardíaca (bpm) no traçado eletrocardiográfico

Os valores médios das frequências cardíacas dos grupos Sham, INF e CAPoral uma semana imediatamente após a cirurgia foram de: $277 \pm 8,49$; $287 \pm 8,66$; $258 \pm 10,3$ bpm. Os valores médios três semanas após a cirurgia foram: $261 \pm 6,08$; $293 \pm 11,6$; $288 \pm 8,56$ bpm (Quadro 1). Os valores médios da frequência cardíaca dos animais do grupo tratado com Captopril entre as semanas zero e três mostraram um ligeiro aumento quando comparados entre si ($P < 0,05$). Porém, este parâmetro não deve ser considerado pelo fato de possivelmente os animais apresentarem profundidades anestésicas diferentes durante o exame.

4.1.2 Avaliação da amplitude da onda P (mV) no traçado eletrocardiográfico

A onda P no traçado eletrocardiográfico (1ª deflexão positiva) caracteriza a despolarização de ambos os átrios, portanto, o aumento de sua voltagem sugere hipertrofia atrial. Em ratos, tem sido demonstrado que esta amplitude não é superior a 0,1 mV em animais normais (SANTOS & MASUDA, 1991).

Este estudo da 1ª etapa mostrou que 50% dos animais submetidos à insuficiência cardíaca do grupo INF apresentaram onda P $> 0,1$ mV (Quadro 1). No grupo CAPoral, o tratamento com Captopril evitou o aparecimento de animais com onda P $> 0,1$ mV três semanas após a cirurgia.

4.1.3 Avaliação do índice do complexo QRS no traçado eletrocardiográfico

Os valores médios do índice do complexo QRS dos grupos Sham, INF e CAPoral na semana zero foram de: $0,99 \pm 0,03$; $1,08 \pm 0,10$ e $1,11 \pm 0,06$ mV. Os valores três semanas após a cirurgia foram: $1,17 \pm 0,05$; $0,57 \pm 0,06$; $0,70 \pm 0,11$ mV respectivamente (Quadro 1). Os valores médios do grupo INF apresentam uma queda significativa quando comparados nas diferentes semanas ($P < 0,01$). O grupo tratado com Captopril também apresentou uma queda significativa entre os valores nas semanas zero e três, porém, menores quando comparados aos valores do grupo não tratado ($P < 0,01$).

4.1.4 Avaliação do vetor médio de despolarização ventricular no traçado eletrocardiográfico

Os valores médios do vetor médio de despolarização ventricular nos grupos Sham, INF e CAPoral na semana zero foram de: $69,82 \pm 3,47$; $69,9 \pm 4,40$ e $67,75 \pm 2,10^\circ$. Os valores três semanas após a cirurgia foram: $51,31 \pm 21,61$; $153,3 \pm 6,01$ e $124,5 \pm 7,89^\circ$ (Quadro 1). Os valores médios do grupo INF quando comparados entre si nas semanas zero e três apresentaram um aumento significativo do vetor médio de

despolarização ventricular ($P < 0,01$). O tratamento com Captopril parece, portanto ter sido capaz de atenuar esse aumento do vetor entre as semanas zero e três quando comparados entre si e principalmente quando comparados aos animais não tratados ($P < 0,01$ e $P < 0,05$) respectivamente (Figura 1).

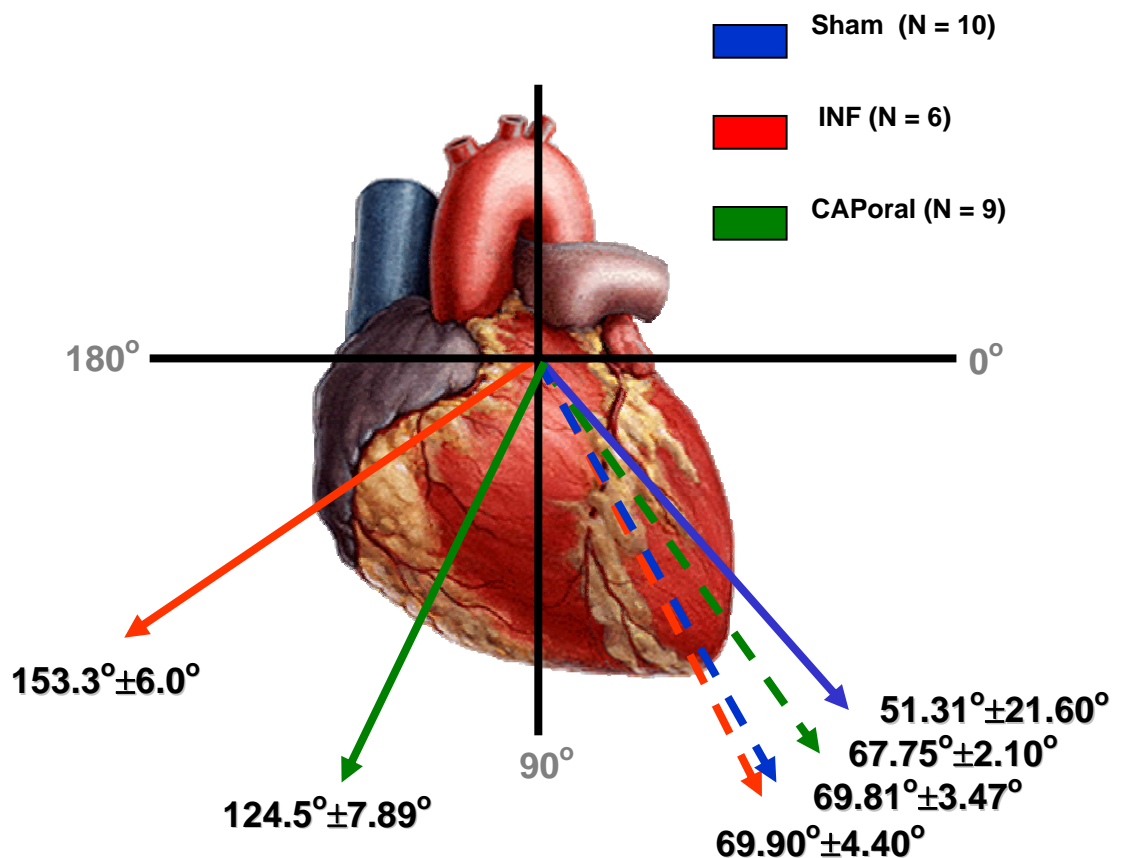


Figura 1 – Esquema representativo dos valores do vetor médio de despolarização ventricular. As setas interrompidas representam valores imediatamente antes da cirurgia ao passo que as setas inteiras representam os valores 3 semanas após o infarto experimental. Note a atenuação do desvio do vetor para a direita no Grupo CAPoral em comparação ao Grupo INF.

4.1.5 Presença e amplitude da onda Q (mV) na derivação D1 do traçado eletrocardiográfico

Os valores que indicam o número de animais onde foram encontradas ondas Q e sua amplitude média nos grupos Sham, INF e CAPoral antes do infarto foram de: 0; 0 e 0. Os valores três semanas imediatamente após a cirurgia foram de: 3 e $0,02 \pm 0,01$; 6 e $0,19 \pm 0,03$; 9 e $0,14 \pm 0,03$ mV respectivamente (Quadro 1). Todos os animais dos Grupos INF e CAPoral apresentaram onda Q em seus traçados eletrocardiográficos na derivação D1 três semanas pós-cirurgia, ocorrendo também alta variação de sua amplitude quando comparadas com a semana zero em ambos os grupos, o que é característico de presença de infarto crônico em ratos (SANTOS & MASUDA, 1991). O valor médio da amplitude da onda Q dos animais do grupo tratado com captopril foi nitidamente menor quando comparado ao valor dos animais do grupo não tratado ($P < 0,01$).

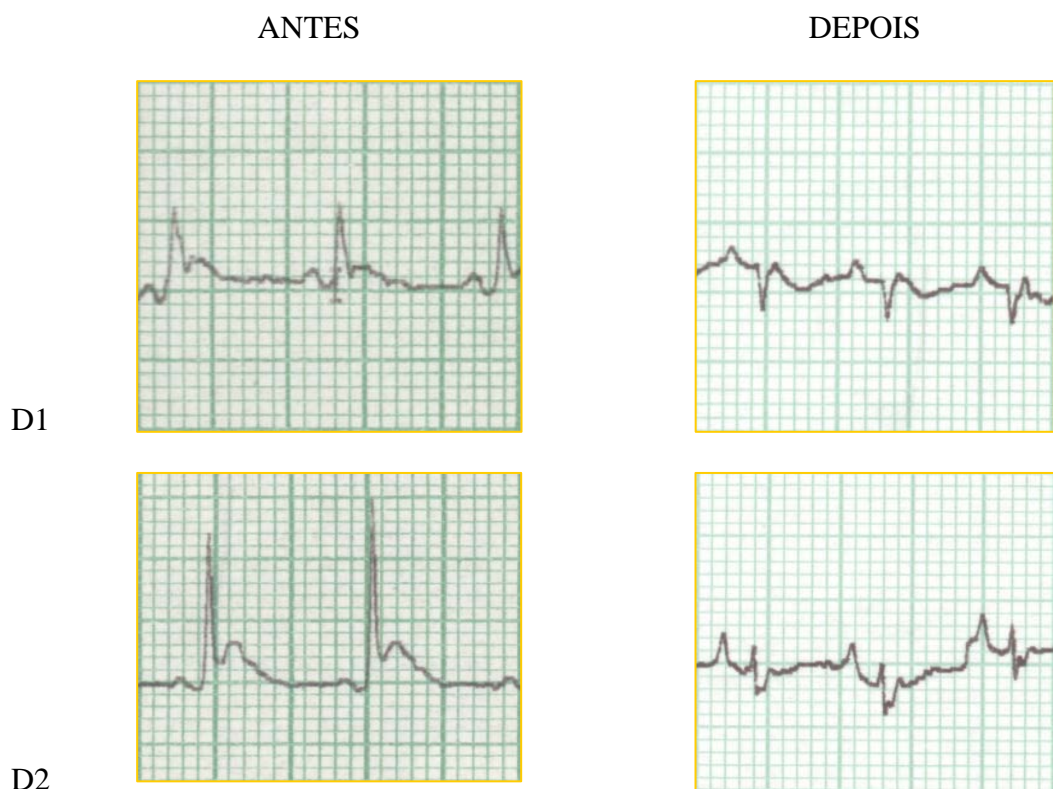


Figura 2 - Eletrocardiogramas representativos de um rato do grupo não-tratado (INF) imediatamente antes e 3 semanas após o infarto experimental. Note a diminuição dos complexos QRS em ambas as derivações (D1 e D2), desvio de vetor despolarização para direita (complexo QRS negativo em D1), bem como o aumento da amplitude da onda P na derivação D2 sugerindo hipertrofia atrial.

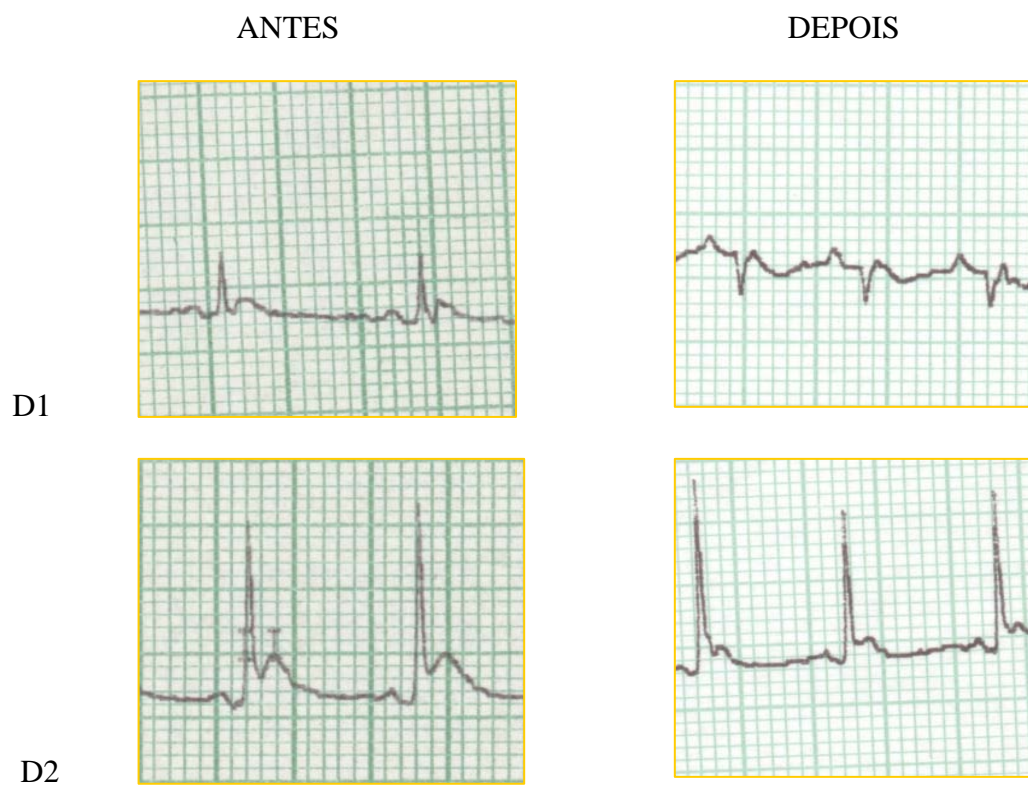


Figura 3 - Eletrocardiogramas representativos de um rato do grupo CAPoral, imediatamente antes e 3 semanas após o infarto experimental. Note que, apesar do surgimento da onda Q em D1, característica de infarto crônico em ratos, a diminuição dos complexos QRS em ambas as derivações (D1 e D2) e o aumento da onda P em D2 não foi observado.

Quadro 1 – Parâmetros eletrocardiográficos mais importantes dos animais na semana zero e três semanas após a cirurgia de produção de infarto nos diferentes grupos estudados.

Grupos	Fc (bpm)	P > 0,1 mV	Índice QRS	ÂQRS (graus)	Onda Q D1	Q-amplitude (mV)
Sham Sem 0 (n=8)	277 ± 8,49	0	0,99 ± 0,03	69,82 ± 3,47	0	0
Sem 3	261 ± 6,08	0	1,17 ± 0,05	51,31±21,61	3	0,02 ± 0,01
INF Sem 0 (n=6)	287 ± 8,66	0 3*	1,08 ± 0,1 0,57±	69,9 ± 4,40 153,3 ±6,01**	0 6**	0 0,19± 0,03**
Sem 3	293 ± 11,6		0,06**			
CAP Sem 0 oral (n=8)	258 ± 10,3	0	1,11 ± 0,06	67,75 ± 2,10	0	0
Sem 3	288 ± 8,56*	0	0,70±0,11**	124.5±7,89**†	9**	0,14± 0,03**†

Os dados são apresentados em média ± desvio da média, * P < 0,05 vs semana zero, ** P < 0,01 vs semana zero, † P < 0,05 vs grupo NT na semana três.

4.1.6 Estudo funcional – ecocardiografia (ECO)

Em todos os grupos estudados a frequência cardíaca dos animais foi constantemente monitorada durante o estudo ecocardiográfico e não foi estatisticamente diferente entre todos os grupos, variando de 250 a 300 batimentos por minuto sob anestesia em ambos os períodos de observação. Os grupos mostraram valores ecocardiográficos similares antes da cirurgia de produção de infarto (Figura 4). Entretanto, o grupo INF apresentou sinais claros de severa insuficiência cardíaca 21 dias após a cirurgia de produção de infarto. A relação AE/Ao, o DDFVE e a proporção E/A (fluxo transvalvar mitral) foram aumentados, e a ERP (espessura relativa de parede) e FE% (fração de ejeção) foram diminuídas comparadas com o mesmo grupo antes da cirurgia e grupo Sham 21 dias após a cirurgia. Não foram encontradas maiores mudanças em outros parâmetros do ECO.

A respeito do aumento significativo na relação AE/Ao (Figura 4A) e DDVE (Figura 1B) mostrado pelo grupo CAPoral, a EPP (espessura de parede posterior na diástole) (Figura 4C) e a ERP (Figura 4D) não mudaram 21 dias após o infarto. No entanto, o grupo tratado com captopril exibiu uma atenuação da dilatação do átrio e ventrículo esquerdo comparado com grupo INF depois do infarto.

Considerando a função sistólica, a fração de ejeção dos animais tratados com a droga captopril diminuiu significativamente após o infarto, porém foi significativamente maior que os animais infartados sem tratamento com captopril.

Os dados obtidos da análise Doppler foram os mais interessantes resultados encontrados no grupo CAPoral. Este grupo mostrou uma proporção de velocidade normal E/A (E/A proporção < 3.0) comparada com os animais do grupo não tratado, no qual exibiram um significativo aumento nesse parâmetro 21 dias após a cirurgia. (Figura 4F).

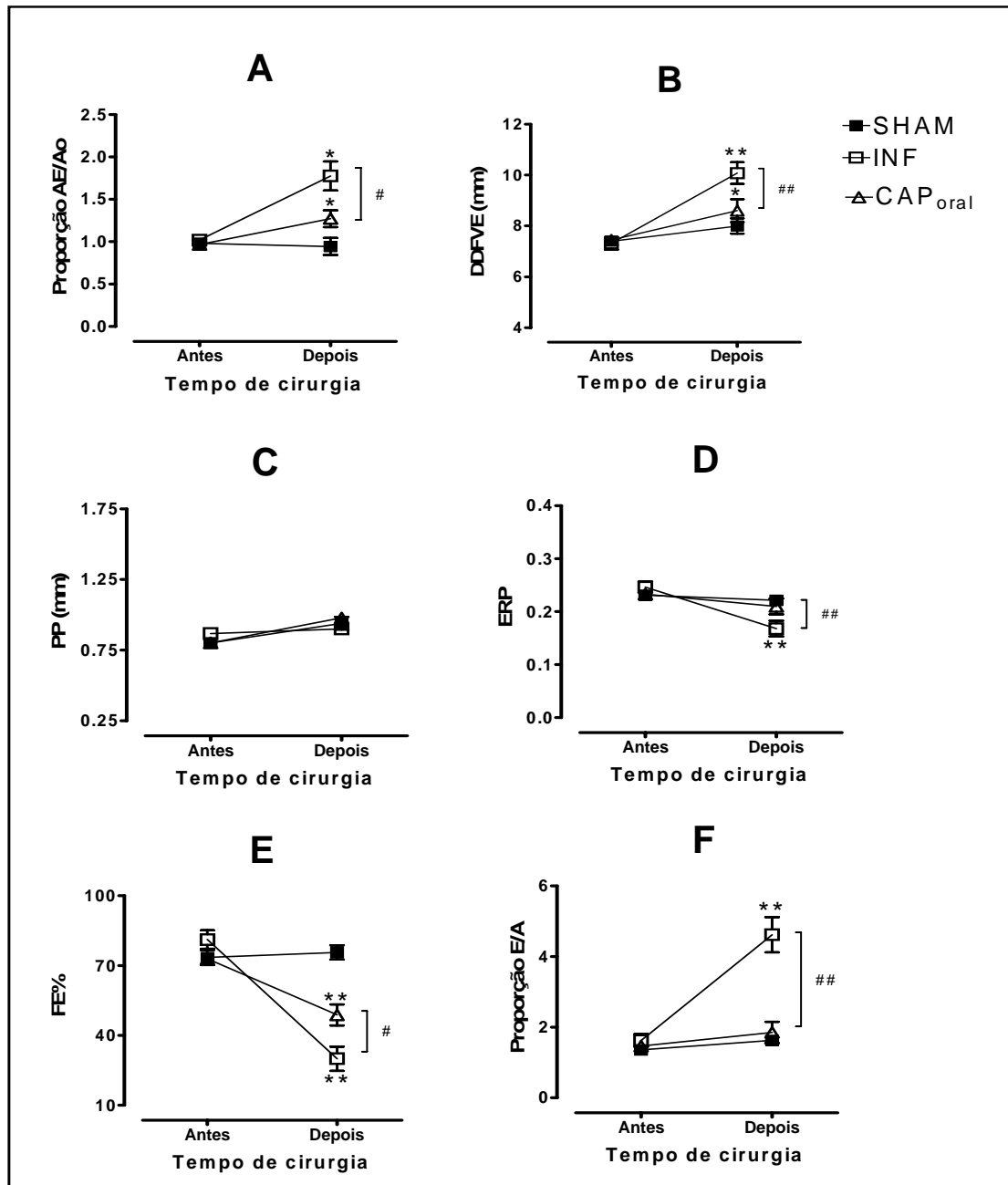


Figura 4 – Parâmetros ecocardiográficos obtidos dos animais dos grupos SHAM, INF e CAP_{oral} antes e 21 dias após a cirurgia de produção de infarto. Proporção do diâmetro átrio esquerdo - artéria aorta (AE/Ao, A); Diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo (DDFVE, B); Espessura de parede posterior na diástole (EPP, C); Espessura relativa de parede (ERP, D); Fração de ejeção (FE%, E) e proporção de velocidade E/A (E/A proporção, F).

F). Os dados são apresentados em média \pm erro da média, *P < 0,05 e **P < 0,01 vs antes e # P < 0,05 e ###P < 0,01 CAPoral vs INF.

Estudo anátomo-patológico

4.1.7 Avaliação do índice cardíaco

Os valores médios do índice cardíaco dos ratos dos grupos Sham, INF e CAPoral ao fim do protocolo experimental do estudo periférico, foram de $3,17 \pm 0,04$; $4,69 \pm 0,15$ e $3,52 \pm 0,10$ respectivamente (Quadro 2). O índice cardíaco dos animais infartados (grupo INF) foi maior do que o observado para os animais do grupo Sham (INF vs Sham, P < 0,01). Os animais que receberam tratamento com Captopril, apresentaram valores reduzidos para os níveis observados no grupo controle (CAPoral vs INF, P < 0,01).

4.1.8 Avaliação do índice do pulmão

Os valores médios dos índices dos pulmões dos animais dos grupos Sham, INF e CAPoral ao fim do protocolo experimental do estudo periférico, foram de $6,90 \pm 0,33$; $12,26 \pm 1,10$ e $7,70 \pm 0,19$ respectivamente (Quadro 2). O índice pulmonar dos animais do grupo INF foi significativamente maior quando comparados aos animais do grupo controle (INF vs Sham, P < 0,01). Nos animais pertencentes ao grupo que recebeu tratamento com Captopril, os valores médios do índice pulmonar mostram-se ligeiramente aumentados em relação ao grupo controle, porém, significativamente menor que o valor médio dos animais infartados não tratados (grupo INF).

4.1.9 Avaliação do índice do fígado

Os valores médios do índice dos fígados dos animais dos grupos Sham, INF e CAPoral ao fim do protocolo experimental do estudo periférico, foram de $38,60 \pm 1,53$; $40,36 \pm 1,27$ e $39,12 \pm 0,78$ respectivamente (Quadro 2). Não houve diferenças significantes entre os valores médios do índice do fígado dos animais nos diferentes grupos nessa etapa do estudo.

4.1.10 Determinação do tamanho do infarto do ventrículo esquerdo (VE)

Os animais do grupo Sham, como explicado anteriormente, são submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico que os outros grupos exceto a ligadura da artéria coronária esquerda para a indução do infarto. Portanto, esses animais não apresentaram infarto do miocárdio durante o estudo da histometria.

Os animais do grupo INF e do grupo CAPoral apresentaram valores médios de porcentagem de infarto significativamente diferentes ao fim do protocolo experimental de $49,70 \pm 5,24$ e $22,33 \pm 6,19$ % respectivamente (Quadro 2). Os valores representados mostram que o tratamento com Captopril foi capaz de reduzir significativamente o tamanho da cicatriz de infarto desses animais quando comparados aqueles não tratados (CAPoral vs INF, P < 0,01).

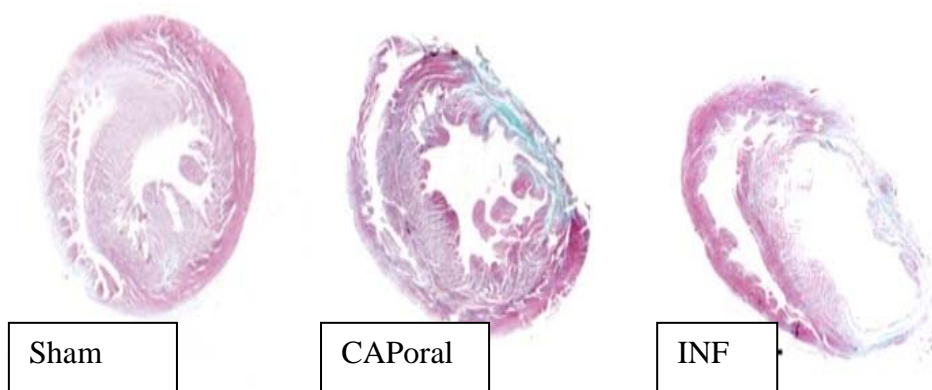


Figura 5 - Cortes histológicos de secção transversa dos corações de ratos dos grupos Sham, INF e CAPoral respectivamente. Note que os animais do grupo INF apresentaram 36% de infarto do ventrículo esquerdo (VE), enquanto os animais tratados com captopril apresentaram 21% de infarto do VE, sugerindo uma menor deposição de tecido cicatricial nos corações desses animais.

Quadro 2 – Valores médios dos índices viscerais e tamanho do infarto do ventrículo esquerdo nos grupos Sham, INF e CAPoral.

Grupos	Índice Cardíaco mg/g	Índice do Pulmão mg/g	Índice do Fígado mg/g	% Infarto VE
Sham	3,17 ± 0,04	6,90 ± 0,33	38,60 ± 1,53	0
INF	4,69 ± 0,15 ^{**}	12,26 ± 1,10 ^{**}	40,36 ± 1,27	49,70 ± 5,24
CAPoral	3,52 ± 0,10 ^{††}	7,70 ± 0,19 ^{††}	39,12 ± 0,78	22,33 ± 6,19 ^{††}

Os dados são apresentados em média ± erro da média, ^{**} P < 0,01 vs Sham e ^{††} P < 0,01 vs INF.

4.2 2ª Etapa: Estudo Central

Estudo Funcional – Eletrocardiografia (ECG)

4.2.1 Determinação da frequência cardíaca (bpm) no traçado eletrocardiográfico

Os valores médios das frequências cardíacas dos grupos Sham, SAL e CAPicv uma semana após a ligadura da artéria coronária esquerda foram de: 277 ± 8,49; 436,7 ± 18,86 e 456,8 ± 16,22 bpm. Os valores médios três semanas após a cirurgia foram: 261 ± 6,08; 300,9 ± 57,89 e 279,3 ± 64,73 bpm (Quadro 3). Os animais dos grupos SAL e CAPicv apresentaram valores médios de suas frequências cardíacas aumentados quando comparados aos animais do grupo Sham na semana zero (P < 0,01).

4.2.2 Avaliação da amplitude da onda P (mV)

A frequência de animais que apresentaram onda p > 0,1 mV está representada no quadro 3. Na primeira semana, ambos os grupos infartados (SAL e CAPicv) apresentaram animais com onda p > 0,1 mV. Já na terceira semana houve redução deste parâmetro independentemente do tratamento com captopril icv.

4.2.3 Avaliação do índice do complexo QRS

Os valores médios do índice do complexo QRS dos grupos Sham, SAL e CAPicv uma semana após a cirurgia para ligadura da artéria coronária esquerda foram de: 0,99 ± 0,03; 0,79 ± 0,06 e 0,70 ± 0,04 mV. Os valores médios três semanas após a cirurgia foram: 1,17 ± 0,05; 0,56 ± 0,09 e 0,35 ± 0,06 mV (Quadro 3). Os valores médios dos grupos SAL e CAPicv apresentaram uma queda significativa na semana três quando comparados aos animais do grupo Sham (P < 0,05).

4.2.4 Avaliação do vetor médio de despolarização ventricular no traçado eletrocardiográfico

Os valores médios do vetor médio de despolarização ventricular nos grupos Sham, SAL e CAPicv uma semana após a ligadura da artéria coronária esquerda foram de: $69,82 \pm 3,47$; $131,6 \pm 7,31$ e $131,6 \pm 7,35^\circ$. Os valores três semanas após a cirurgia foram: $51,31 \pm 21,61$; $122,4 \pm 10,64$ e $143,9 \pm 2,55^\circ$ respectivamente (Quadro 3). O estudo da 2ª etapa mostrou que os animais do grupo SAL e CAPicv apresentaram valores aumentados do vetor médio de despolarização ventricular na semana três quando comparados aos animais do grupo Sham ($P < 0,05$). Os animais tratados com captopril apresentaram valores inferiores quando comparados ao grupo não tratado (SAL) na terceira semana, porém não estatisticamente significantes.

4.2.5 Presença e amplitude da onda Q na derivação D1

A frequência de animais que apresentaram ondas Q em D1 e sua amplitude média nos grupos Sham, SAL e CAPicv uma e três semanas imediatamente após a ligadura da artéria coronária esquerda está representada no Quadro 3. Como observado, o tratamento com captopril icv não foi efetivo em normalizar tais parâmetros.

Quadro 3 – Parâmetros eletrocardiográficos mais importantes dos animais na semana um e três semanas após a falsa cirurgia ou a produção de infarto nos diferentes grupos estudados.

Grupos	Fc (bpm)	P > 0,1 mV	Índice QRS	ÂQRS (graus)	Onda Q D1	Q- amplitude (mV)
Sham Sem 1 (n=10) Sem 3	277 ± 8,49 261 ± 6,08	0 0	0,99 ± 0,03 1,17 ± 0,05	69,82 ± 3,47 51,31 ± 21,61	0 em 10 3 em 10	--- 0,02 ± 0,01
SAL Sem 1 (n=14) Sem 3	436,7 ± 18,86** 300,9 ± 57,89	11 ** 2	0,792 ± 0,06 0,567 ± 0,09 [#]	131,6 ± 7,31 122,4 ± 10,64 [#]	9 em 14** 8 em 9**	0,13 ± 0,02 0,16 ± 0,01**
CAP Sem 1 icv Sem 3 (n=12)	456,8 ± 16,22** 279,3 ± 64,73	8 ** 4	0,705 ± 0,04 0,358 ± 0,06 [#]	131,6 ± 7,35 143,9 ± 2,55 [#]	11 em 12** 9 em 10**	0,11 ± 0,01 0,13 ± 0,01**

Os dados são apresentados em média ± desvio da média, * P < 0,05 vs semana zero, ** P < 0,01 vs Sham na semana zero, # P < 0,05 vs Sham na semana 3.

4.2.6 Estudo funcional – ecocardiografia (ECO)

Também nesta etapa, em todos os grupos estudados a frequência cardíaca dos animais foi constantemente monitorada durante o estudo ecocardiográfico e não foi estatisticamente diferente, variando de 260 a 300 batimentos por minuto sob anestesia por todo o período de observação. Os grupos submetidos à cirurgia de produção de infarto (grupos SAL e CAPicv) apresentaram sinais claros de insuficiência cardíaca 21 dias após. A relação das dimensões internas átrio esquerdo – artéria aorta (AE/Ao), o diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo (DDFVE) e a proporção E/A foram aumentados. A espessura relativa de parede posterior (ERP) e a fração de ejeção (FE%) foram diminuídas quando comparadas com valores normais dos animais não infartados (grupo Sham) na 1ª etapa do experimento (estudo periférico).

Em relação aos aumentos na proporção AE/Ao (Figura 6A) e da ERP (Figura 6C) dos animais infartados (grupos SAL e CAPicv), o tratamento com captopril não foi capaz de exibir uma redução significativa desse parâmetro nos animais quando comparado ao grupo não tratado. Já os valores obtidos do DDFVE (Figura 6B) mostrados pelo grupo CAPicv, o tratamento com captopril promoveu redução significativa da dilatação em relação aos animais não tratados, embora continuassem dilatados.

Considerando a função sistólica, a fração de ejeção dos animais infartados (grupos SAL e CAPicv) diminuiu significativamente após o infarto, sugerindo que o tratamento com captopril icv, assim como na primeira etapa (tratamento oral), não normalizou esse parâmetro significativamente.

Os resultados observados pela análise do Doppler mostraram que os animais dos grupos infartados (grupos SAL e CAPicv) apresentaram aumento da proporção E/A (E/A proporção > 3,0). Porém, o grupo tratado com captopril icv reduziu significativamente a frequência de animais apresentando esse padrão de enchimento diastólico quando comparado ao grupo não tratado (Figura 6).

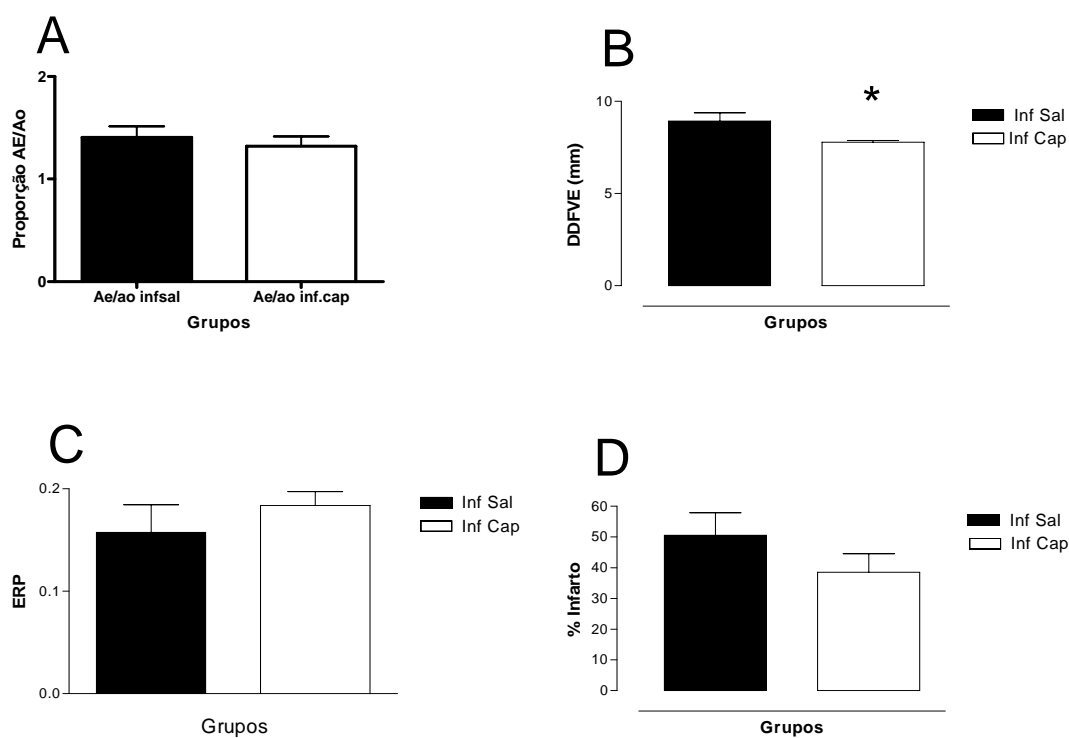


Figura 6 – Parâmetros ecocardiográficos de remodelamento cardíaco dos animais dos grupos SAL e CAPicv 20 dias após a cirurgia de produção de infarto. Proporção do diâmetro átrio esquerdo – artéria aorta (AE/Ao, A); Diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo (DDFVE, B); Espessura relativa de parede posterior (ERP, C); Percentagem (%) de infarto (D). * P < 0,05 vs SAL.

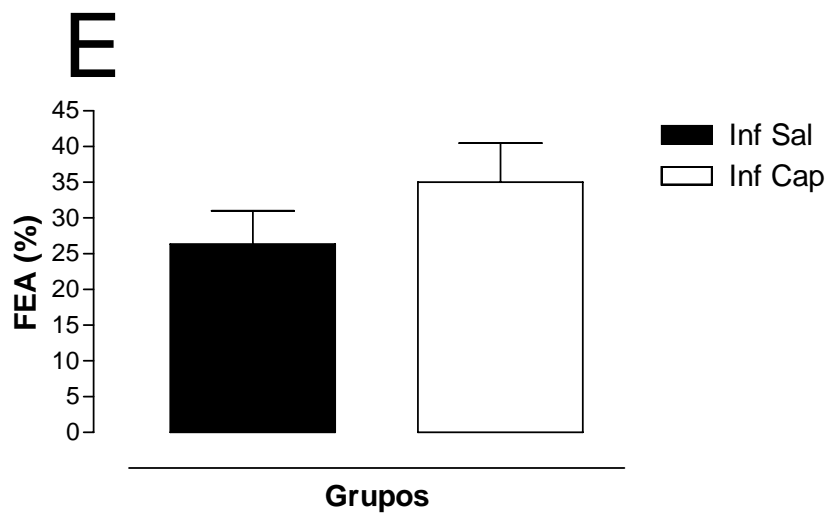


Figura 7 – Parâmetro ecocardiográfico de função sistólica dos animais dos grupos SAL e CAPicv 20 dias após a cirurgia de produção de infarto. Fração de encurtamento de área (FEA, E).

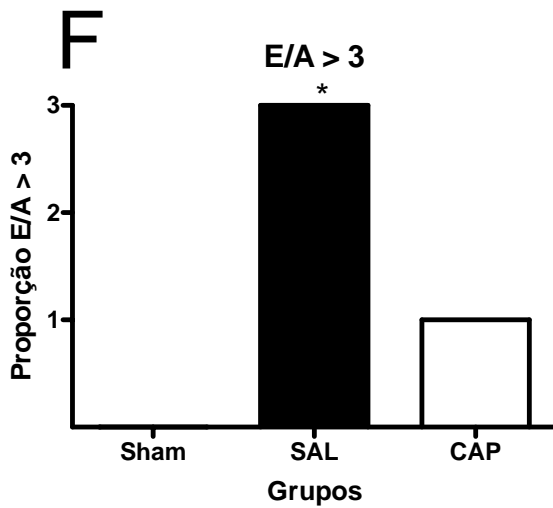


Figura 8 - Parâmetro ecocardiográfico de função diastólica dos animais dos grupos SAL e CAPicv 20 dias após a cirurgia de produção de infarto. Proporção de velocidade E/A (E/A proporção, F). * E/A > 3,0 vs Sham.

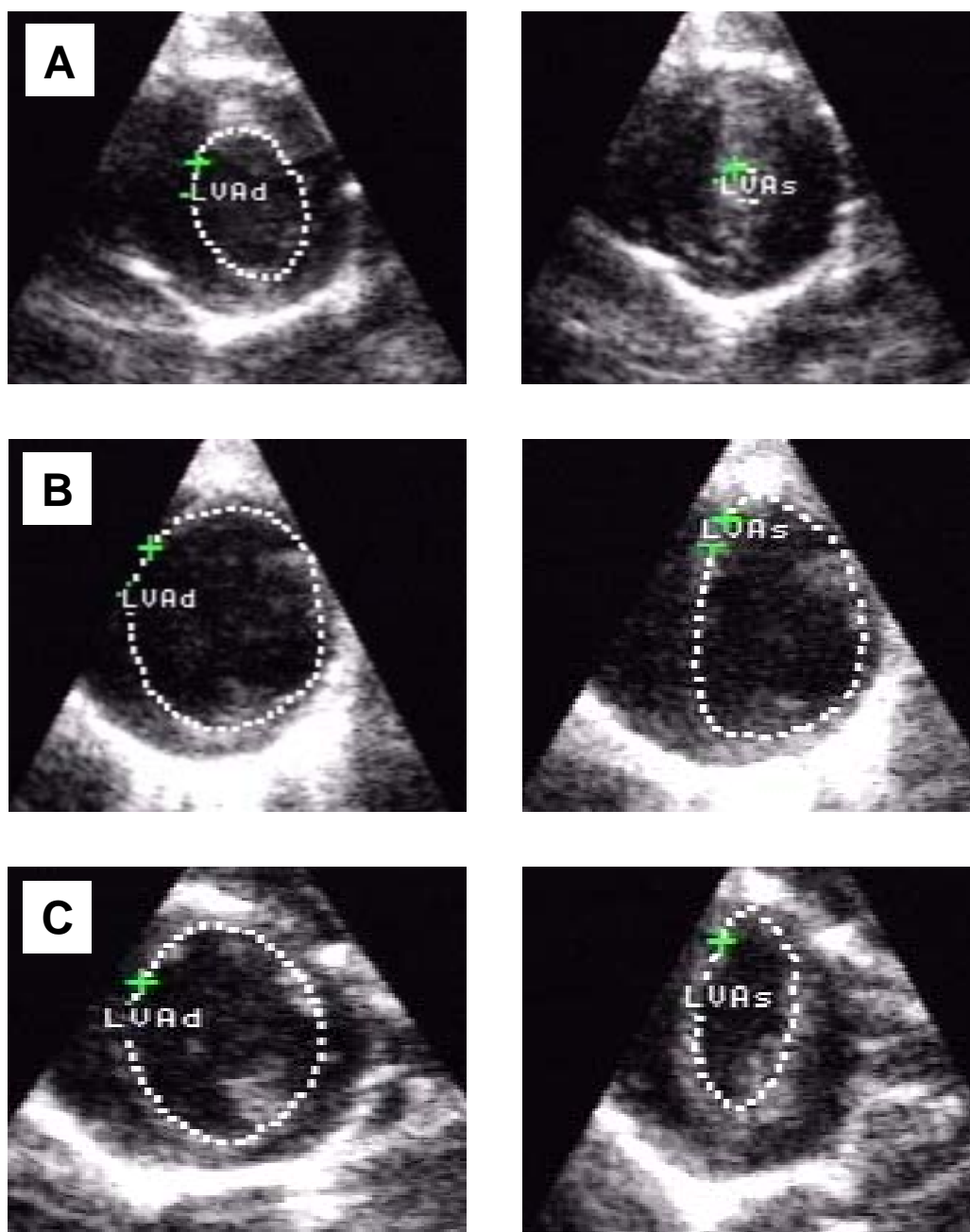


Figura 9 - Ecocardiogramas na modalidade bidimensional transversal representativos de animais do grupo Sham (A), SAL (B) e CAPicv (C). A figura mostra os contornos aproximados da área interna do ventrículo esquerdo no momento da diástole (LVAd) e sístole (LVA_s) máximas. A escala das figuras foi mantida a mesma para facilitar a comparação entre

as mesmas. Note a grave dilatação e a acinesia ântero-lateral percebida após a sístole no animal infartado quando comparado ao Sham. O tratamento com captopril icv apesar de não ter reduzido de forma consistente a dilatação, melhorou a cinética global do ventrículo esquerdo neste animal.

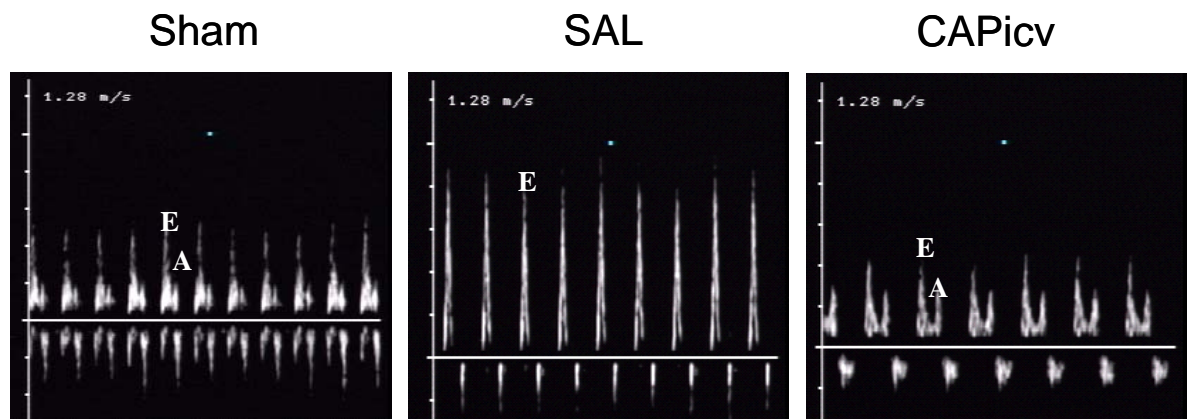


Figura 10 - Ecodopplercardiogramas de fluxo transvalvar mitral de animais representativos do grupo Sham, Infartado tratado com salina (SAL) ou captopril icv (CAPicv). Note o padrão restritivo (aumento da onda E e ausência da onda A) no grupo Salina. O tratamento com captopril icv melhorou o padrão de enchimento ventricular, como sugerido pela normalização do fluxo transvalvar mitral (relação E/A acima de 1 e abaixo de 3).

Estudo comportamental

4.2.7 Ingestão de fluidos

A figura 11 representa a média de ingestão diária de fluidos (água e salina hipertônica) durante 5 dias consecutivos nos grupos SAL e CAPicv. Note que o tratamento icv com captopril reduziu significativamente a ingestão de água ($20,56 \pm 4,40$ vs $13,05 \pm 3,40$ mL para SAL e CAPicv respectivamente, $P < 0,05$). Não houve diferenças entre os grupos em relação a ingestão de salina hipertônica ($5,20 \pm 1,70$ vs $3,70 \pm 1,20$ mL para SAL e CAPicv respectivamente).

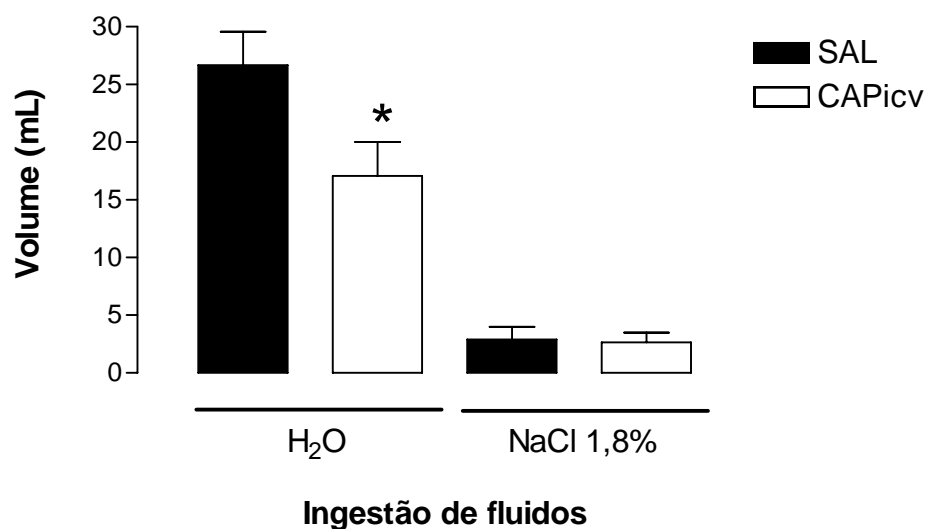


Figura 11 - Média de ingestão diária de fluidos (água e salina hipertônica) durante 5 dias consecutivos nos grupos SAL e CAPicv. * $P < 0,05$ vs SAL.

Estudo anátomo-patológico

4.2.8 Avaliação do índice cardíaco

Os valores médios dos índices cardíacos dos animais dos grupos Sham, SAL e CAPicv ao fim do protocolo experimental do estudo central, foram de $3,45 \pm 0,07$; $4,71 \pm 0,35$ e $4,16 \pm 0,13$ respectivamente (Quadro 4). Os animais do grupo SAL e CAPicv apresentaram um índice cardíaco maior quando comparados aos animais controle ($P < 0,01$). O grupo tratado com captopril apresentou valor médio do índice cardíaco inferior quando comparado aos animais do grupo SAL, porém sem diferença estatisticamente significativa.

4.2.9 Avaliação do índice do pulmão

Os valores médios dos índices dos pulmões dos animais dos grupos Sham, SAL e CAPicv ao fim do protocolo experimental do estudo central, foram de: $4,85 \pm 0,18$; $7,41 \pm 1,52$ e $5,75 \pm 0,38$ respectivamente (Quadro 4). Os animais dos grupos SAL e CAPicv apresentaram valores dos índices dos pulmões significativamente superiores quando comparados aos animais do grupo controle ($P < 0,05$). Os animais tratados com captopril apresentaram valor médio do índice do pulmão reduzido em relação ao grupo SAL, porém não significativo estatisticamente.

4.2.10 Avaliação do índice do fígado

Os valores médios dos índices dos fígados dos animais dos grupos Sham, SAL e CAPicv ao fim do protocolo experimental do estudo central, foram de: $37,10 \pm 1,61$; $35,47 \pm 1,21$ e $34,35 \pm 2,59$ protocolo respectivamente (Quadro 4). Também não houve diferenças estatisticamente significante dos valores do índice do fígado dos ratos nos diferentes grupos nessa etapa do experimento. Provavelmente, a disfunção ventricular direita não foi significativa a ponto de induzir a uma congestão sistêmica e consequentemente a um aumento do peso hepático pelo menos no tempo desse estudo.

4.2.11 Determinação do tamanho do infarto do ventrículo esquerdo (VE)

Os valores médios do tamanho do infarto dos animais dos grupos Sham, SAL e CAPicv ao fim do protocolo experimental do estudo central estão representados no quadro 4. Como observado, o grupo CAPicv não apresentou diferença significativa do tamanho do infarto em relação ao grupo SAL.

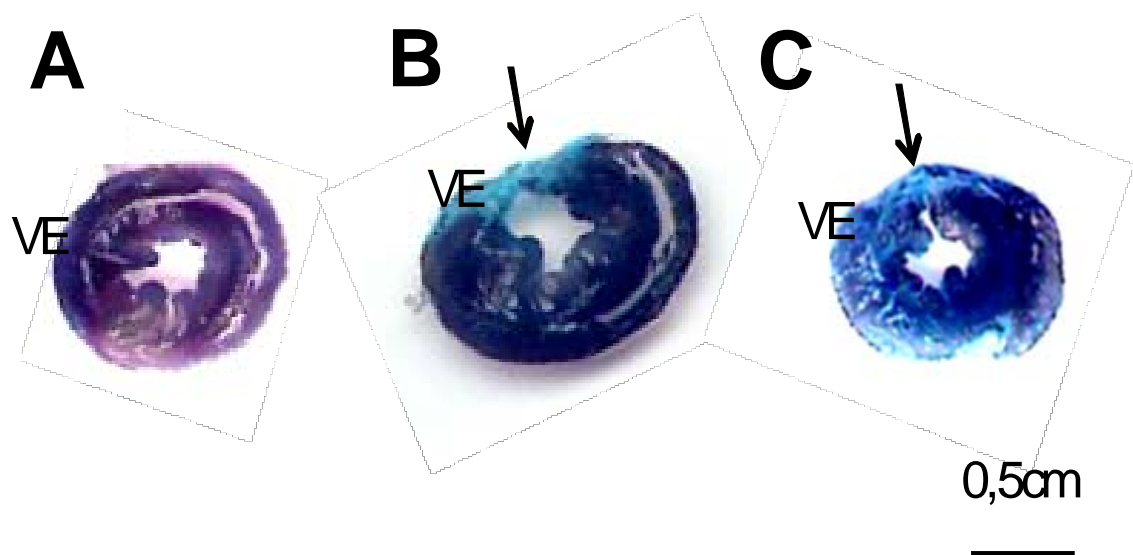


Figura 12 - Cortes transversais de três corações de ratos representativos dos grupos Sham (A), SAL (B) e CAPicv (C). Note a presença de cicatriz fibrosa (corada em azul) no ventrículo esquerdo (VE) de ambos os corações infartados. Apesar de menos extensa no animal tratado centralmente com captopril (C), isto não se refletiu na análise estatística entre os grupos. Coloração de tricômio de gomori.

Quadro 4 - Apresentação dos valores médios dos índices viscerais e tamanhos do infarto do ventrículo esquerdo nos grupos Sham, SAL e CAPicv.

Grupos	Índice Cardíaco mg/g	Índice do Pulmão mg/g	Índice do Fígado mg/g	% Infarto VE
Sham	3,45 ± 0,07	4,85 ± 0,18	37,10 ± 1,61	0
SAL	4,71 ± 0,35 ^{**}	7,41 ± 1,52 [*]	35,47 ± 1,21	50,60 ± 7,34
CAPicv	4,16 ± 0,13 ^{**}	5,75 ± 0,38 [*]	34,35 ± 2,59	38,58 ± 6,05

Os dados são apresentados em média ± erro da média * P < 0,05 e ** P <0,01 vs Sham.

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

5.1 1ª Etapa: Estudo Periférico

O sistema renina-angiotensina (SRA) local ou periférico tem sido considerado de longo tempo responsável por remodelamento cardíaco e disfunção ventricular. Nesta etapa do estudo nós avaliamos o papel do SRA no remodelamento e função cardíaca de ratos com infarto do miocárdio pela inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) imediatamente após a cirurgia. Os dados funcionais apresentados nessa etapa reforçam as evidências que o SRA representa um importante papel no processo de cura. Os parâmetros Eletro e Ecocardiográficos dos animais tratados com captopril melhoraram significativamente quando comparados aos animais não tratados, sugerindo um envolvimento direto e/ou indireto do SRA na cadeia de eventos que levam à insuficiência cardíaca.

De acordo com os dados funcionais, o exame histológico confirmou que o bloqueio do SRA foi efetivo para diminuir a formação de tecido cicatricial e dilatação do ventrículo esquerdo, tão comumente chamada como “remodelamento cardíaco”. Ao passo que alguns estudos como Lapointe et al. (2002) deram suporte a estes achados, diversos outros não mostraram efeitos marcantes na fibrose depois do tratamento imediato com drogas inibidoras da ECA (iECA) comparado com animais não tratados (NELISSEN-VRANCKEN et al., 1998; SHAO et al., 1999; ZORNOFF et al., 2000). A nossa hipótese é que esses dados controversos poderiam ser explicados por diferenças na seleção dos iECA, isto é, propriedades farmacológicas como distribuição tecidual (KEILANI et al., 1995), no qual poderia inibir algum sistema renina-angiotensina local enquanto deixaria outros relativamente intactos, dose ou vias de administração da droga e diferenças no tamanho do infarto induzidas pelo procedimento cirúrgico. Embora diversos trabalhos terem avaliado o efeito de inibidores da ECA em corações de ratos infartados, esses dados controversos mostram que o verdadeiro papel do sistema renina-angiotensina no remodelamento e função cardíaca nesse modelo está longe de ser entendido.

A insuficiência cardíaca congestiva (ICC) também foi prevenida como mostrada no estudo post-mortem: diminuição do índice pulmonar e ausência de efusão pleural em todos os animais tratados com captopril quando comparados com os animais não tratados. Apesar do aumento do átrio esquerdo mostrado pelos ratos do grupo CAPoral depois da cirurgia, ele foi ainda significativamente menor que o apresentado pelos animais infartados não tratados (grupo INF) no mesmo tempo.

Curiosamente, a onda P > 0,1 mV em D1, um parâmetro eletrocardiográfico com alta frequência de ocorrência em ratos infartados como descrito neste e em outro estudo (SANTOS & MASUDA, 1991), não foi observado em 50% dos ratos tratados. Em um estudo prévio, usando o mesmo modelo de infarto do miocárdio em ratos, a angulação do vetor médio de despolarização ventricular (ÂQRS) foi um importante parâmetro eletrocardiográfico (ECG) alterado no grupo infartado (A. MIRANDA, dados não publicados). Todos os animais infartados tiveram ângulos maiores que 92 graus e esta alteração se mostrou presente desde o primeiro dia pós-infarto,

permanecendo inalterada até o último dia do experimento (28 dias de cirurgia). Além disso, a presença de onda Q em D1 foi outro importante parâmetro do ECG. Houve uma correlação entre a medida da onda Q um dia pós-cirurgia e tamanho do infarto sugerindo que o ECG gravado nesse tempo poderia estimar o tamanho do infarto. Por esta razão, foram excluídos dessa etapa dois animais (um do grupo INF e um do grupo CAPoral) dos quais mostraram pequena (ou não mostraram) onda Q em D1 um dia pós-infarto. Foi pensado em minimizar ou abolir a maior limitação do modelo de infarto induzido pela ligadura da artéria coronária, isto é, a grande variedade do tamanho do infarto. Entretanto, o fato que aqueles animais tratados com captopril apresentaram menor tamanho de infarto que os ratos não tratados poderia estar atribuído ao efeito do captopril e não à heterogenicidade do modelo. Considerando os principais sinais eletrocardiográficos de grandes infartos do miocárdio em ratos, a onda Q em D1 e o desvio para direita do eixo frontal QRS (SANTOS & MASUDA, 1991; OLIVARES et al., 2004), o tratamento com captopril atenuou ambas a amplitude da onda Q em D1 e a angulação do vetor médio de despolarização ventricular, até mesmo com a presença de onda Q em 100 % dos ratos tratados. Se esses achados são explicados pelo pequeno tamanho de infarto apresentado por este grupo, futuros estudos precisam ser realizados. De qualquer forma, o ECG foi considerado importante para detectar a verdadeira contribuição do SRA no desenvolvimento de insuficiência cardíaca induzida por infarto do miocárdio em ratos.

A ecodopplecardiografia mostrou que o tratamento com captopril iniciado na fase inicial de remodelamento cardíaco e continuado até o fim do experimento, não restaurou totalmente a competência funcional sistólica dos corações de ratos infartados, mas normalizou a função diastólica como sugerido pela normalização da proporção de velocidade E/A (valores normais: $1 < \text{proporção E/A} < 3$), OLIVARES et al., 2004). Esses dados são similares àqueles relatados por Litwin et al. (1996). Entretanto, os dados apresentados sugerem que o SRA foi mais relevante em uma cadeia de eventos que levam ao remodelamento cardíaco e conseqüentemente à disfunção diastólica que afetam diretamente a performance sistólica. Este atraso pode resultar de diversos outros mecanismos como a perda de tecido cardíaco e o aumento da resposta neurohumoral envolvida na disfunção cardíaca (FRANCIS 1985).

Os dados nesta etapa sugerem que o sistema renina-angiotensina induz mudanças morfológicas e funcionais em corações de ratos pós-infartados podendo ser avaliados por exames não invasivos.

5.2 2ª Etapa: Estudo Central

Apesar de se conhecer muito pouco sobre a verdadeira função do SRA centralmente, já somos capazes de entender que esse importante sistema neuro-endócrino está diretamente envolvido em um grande número de respostas adaptativas principalmente em parâmetros cardiovasculares no organismo. Nesta etapa do estudo nós avaliamos o papel do SRA pela inibição central da enzima conversora de angiotensina (ECA) sobre a ingestão de fluidos e no remodelamento e função cardíaca de ratos submetidos a infarto do miocárdio. Os resultados das avaliações funcionais realizadas em animais com e sem tratamento com captopril, apresentando insuficiência cardíaca, reforçam o envolvimento do SRA central no processo patológico. Em relação à atividade elétrica do coração, notou-se que o tratamento com captopril *in vivo* não foi capaz de atenuar significativamente as alterações nos principais parâmetros eletrocardiográficos (IQRS, Δ QRS, Onda P $> 0,1$ mV e presença/amplitude da onda Q em D1) estudados em relação aos animais não tratados; talvez a inibição desta via não

seja capaz de influenciar significativamente esses resultados, pelo menos no protocolo utilizado (dose, via, tempo, etc). Por outro lado, os parâmetros ecocardiográficos dos animais tratados com captopril icv mostraram melhora significativa quando comparados aos animais não tratados, sugerindo um envolvimento direto e/ou indireto do SRA na cadeia de eventos que finalmente levam à insuficiência cardíaca. Nessa avaliação funcional, o tratamento icv com captopril iniciado na fase do remodelamento cardíaco até o fim da etapa central (20 dias) apesar de não ter melhorado a performance sistólica, normalizou a função diastólica dos animais infartados. Os dados que corroboram esta hipótese foram: os menores valores do DDFVE (diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo) e um menor número de animais apresentando proporção E/A > 3,0 quando comparados ao grupo não tratado (grupo SAL). De acordo com trabalho já descrito pelo nosso grupo, os valores normais de padrão de enchimento ventricular analisados em termos de proporção E/A está entre 1,0 e 3,0 (OLIVARES et al., 2004). Esses resultados sugerem então que o tratamento central com captopril icv induziu à mudanças morfológicas que devam ter induzido à melhora das propriedades diastólicas (lusitropismo). Diferente do tratamento oral (primeira etapa), o tratamento central não foi eficaz em melhorar significativamente a função sistólica, pelo menos com o protocolo utilizado. Se o bloqueio central do SRA é capaz de melhorar consistentemente a função cardíaca, estudos futuros precisam ser realizados.

No estudo post-mortem, o exame histológico mostrou que o bloqueio do SRA central não foi capaz de diminuir significativamente os valores do tamanho do infarto do ventrículo esquerdo dos animais tratados com captopril icv em relação aos animais não tratados.

O processo congestivo instalado após a cirurgia de produção infarto mostrou não ter sido prevenido pela inibição central da ECA, como sugerido pelos dados da patologia: aumento dos índices do coração, pulmão e fígado nos animais infartados independentemente do tratamento com captopril icv. Os dados ecocardiográficos já anteciparam esta hipótese, isto é, não houve reversão no aumento do átrio esquerdo do grupo CAPicv quando comparado ao SAL.

Curiosamente na semana três pós-infarto, o número de animais apresentando a onda P > 0,1 mV nas derivações bipolares reduziu drasticamente tanto nos animais tratados como também naqueles não tratados. Esses dados sugerem que independentemente do tratamento com captopril, os animais infartados reverterem espontaneamente esse parâmetro, e que este não possui valor preditivo para avaliação do processo congestivo. Estudos futuros de correlação envolvendo um maior número de animais são necessários.

No estudo comportamental, foi testada a hipótese de que a inibição central da ECA seria capaz de bloquear os efeitos dipsogênico e natriurexugênico mediados pela ativação angiotensinérgica, como já descritos (FRANCIS et al., 2000). O protocolo utilizado mostrou que o tratamento com captopril icv durante cinco dias consecutivos foi capaz de inibir a ingestão de água, mas não de salina hipertônica.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BAILY, R.G.; LEHMAN, C.G.; GUBIN, S.S.; MUSCH, T.I. Non-invasive assessment of ventricular damage in rats with myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 27: 851-3, 1993.

BEL, A. et al. Transplantation of autologous fresh bone marrow into infarcted myocardium: A word of caution. *Circulation* 108: II-247-252, 2003.

BERNE, R., LEVY, M. *Fisiologia*. Rio de Janeiro. Ed. Elsevier, 5 ed, 2004.

BURREL, L.M.; CHAN, R.; PHILLIPS, A.P.; CALAFIORE, P.; TONKIN, M.A. Validation of an echocardiographic assessment of cardiac function following moderate size myocardial infarction in the rat. *Clin Exp. Pharmacol. Physiol* 23: 570-572, 1996.

CROZIER, I., IKRAM, H., AWAN, N. et al. Losartan in heart failure: hemodynamic effects and tolerability. *Circulation* 91: 691-7, 1995.

DAWSON, C.A.; JHAMANDAS, J. H.; KRUKOFF, T.L. Activation by systemic angiotensin II of neurochemically identified neurons in rat hypothalamic paraventricular nucleus. *J. Neuroendocrinol.* 10: 453-459, 1998.

De SIMONE, G.; WALLERSON, D.C.; VOLPE, M.; DEVEREUX, R.B. Echocardiographic measurement of left ventricular mass and volume in normotensive and hypertensive rats. *Am J Hypertens* 3: 688-696, 1990.

ELLIS, L.B.; ALLISON, R.B.; RODRIGUEZ, F.L.; ROBBINS, S.L. Relations of the degree of coronary artery disease and myocardial infarctions to cardiac hypertrophy and chronic congestive heart failure. *New England Journal of Medicine.* 266:525-9, 1962.

FACTOR, S.M. Pathophysiology of myocardial ischemia. In: Hurt, J.W.; SCHLANT, R.C.; RACKLEY, C.E.; *The heart. Arteries and veins.* 7 ed. New York, MC Graw-Hill, Cap. 49, p. 940-59, 1990.

FEITOSA, G.S., CARVALHO, E.N. Sistema renina-angiotensina e insuficiência cardíaca: o uso dos antagonistas do receptor da angiotensina II. *Rev. Bras. Hiperten.* Vol. 73: julho/setembro 2000.

FISHBEIN, M.C., MACLEAN, D., MAROKO, P.R. Experimental Myocardial Infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. *Am. J. Pathol.*, n.90: 57-70, 1978.

FISHBEIN, M.C., MACLEAN, D., MAROKO, P.R. The histopathologic evolution of myocardial infarction. *Chest.* 1978, Jun; 73 (6): 843-9.

FRANCIS, G.S. Neurohumoral mechanism involved in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 55: 15-21, 1985.

FRANCIS, J.; MOHANKUMAR, S. M.; MOHANKUMAR, P. S. Correlations of norepinephrine release in the paraventricular nucleus with plasma corticosterone and leptin after systemic lipopolysaccharide: blockade by soluble IL-1 receptor. *Brain Research*. 867: 180-187, 2000.

FRANCIS, J. et al. Central mineralocorticoid receptor blockade improves volume regulation and reduces sympathetic drive in heart failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 282: H1898-H1906, 2002.

FRANCIS, J.; WEISS, R.M.; WEI, S.G.; JOHNSON, A.K.; FELDER, R.B. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. *Am. J. Physiol Regulatory Integrative Com. Physiol.* 281: 1734-1745, 2001.

GOY, J.J.; FROMER, M.; SCLAEPFER, J.; KOPPENBERGER, L. Clinical efficacy of radiofrequency current in the treatment of patients with atrioventricular node reentrant tachycardia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1990., Aug; 16 (2): 418-23.

HEIMBURGER, R.F. Injection into pericardial sac and ligation of coronary artery of the rat. *Arch. Surg.*, n.52: 677-89, 1947.

HOIT, B.D.; KHAN ZU, PAWLOSKI-DAHM, C.M.; WALSH, R.A. In vivo determination of left ventricular wall stress-shortening relationship in normal mice. *Am J Physiol* 272: H-1047-1052, 1997.

HU, K.; GAUDRON, P.; ANDERS, H.J.; WEIDEMANN, F.; TURSCHNER, O.; NAHRENDORF, M.; ERTL, G. Chronic effects of early started angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin AT1-receptor subtype blockade in rats with myocardial infarction: role of bradykinin. *Cardiovascular Research*. 1998. Aug; 39 (2): 401-412.

JOHNS, T.N.P. & OLSON. Experimental Myocardial Infarction: a method of coronary occlusion in small animals. *Ann. Surg.*, n.140:675-82, 1954.

JOHNSON, A. K. & THUNHORST, R. L. The neuroendocrinology of thirst and sal appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. *Front Neuroendocrinol.* 18: 292-353, 1997.

JULIAN, D.G. Prognosis, risk stratification and rehabilitation after myocardial infarction. In: JULIAN, D.G.; CAMM, A.J.; FOX, K.M.; HALL, R.J.C.; POOLE-WILSON, P.A., ed. *Diseases of the heart*. London, Baillière Tiddall Cap. 51, p. 1192-1202, 1989.

KALKMAN, E.A.J.; SAXENA, P.R.; SHOEMAKER, R.G. Sensitivity to ischemia of chronically infarcted rats hearts: effects of long-term captopril treatment. *European Journal of Pharmacology*, 1996. Mar., 7; 298 (2): 121-8.

KALKMAN, E.A.J., et al. Early captopril prevents myocardial infarction-induced hypertrophy but not angiogenesis. *European Journal of Pharmacology*, n.369:339-48, 1999.

KEILANI, T.; SCHLUETER, W.; BATTLE, D. Selected aspects of ACE inhibitor therapy for patients with renal disease: impact of proteinuria, lipids and potassium. *J Clin Pharmacol* 35: 87-97, 1995.

LAPOINTE, N.; BLAIS-JR, C.; ADAM, A.; PARKER, T.; SIROIS, M.G.; GOSSELIN, H.; CLEMENT, R.; ROULEAU, J.L. Comparison of the effects of an angiotensin converting enzyme inhibitor and a vasopeptidase inhibitor after myocardial infarction in rat. *Am Coll cardiol* 39: 1692-1698, 2002.

LITWIN, S.E.; RAYA, T.E.; WARNER, A.; LITWIN, C.M.; GODMAN, S. Effects of captopril on contractility after myocardial infarction: experimental observations. *American Journal of Cardiology*. 1991, Nov., 18; 68(14): 26-34.

LITWIN, S.E.; KATZ, S.E.; MORGAN, J.P.; DOUGLAS, P.S. Serial echocardiography assessment of the left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. *Circulation* 89: 345-54, 1994.

LITWIN, S.E., KATZ, S.E., MORGAN, J.P. Long-term Captopril treatment improves diastolic filling more than systolic performance in rats with large myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, n.28: 773-81, 1996.

MCDONALD, K.M.; CHU, C.; FRANCIS, G.S.; CARLYLE, W.; JUDD, D.L.; HAUER, K. Effect of delayed intervention with ACE-inhibitor therapy on myocyte hypertrophy and growth of the cardiac interstitium in the rat model of myocardial infarction. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1997. Dec, 29(12): 3203-10.

MALLORY, G.K.; WHITE, P.D; SALCEDO-SALGAR, J. The speed or healing of myocardial infarction. A study of the pathologic anatomy in seventy-two cases. *American Heart Journal* 18: 647-71, 1939.

MORRIS, D.C.; WALTER, P.F.; HURST, J.W. The regulation and treatment of myocardial infarction and its complication. In: HURST, J.W.; SCHLANT, R.C. ed. *The heart. Arteries and veins*. 7 ed. New York, MC Graw Hill, Cap. 53, p. 1054-1078, 1990.

NELISSEN-VRANCKEN, H.J.M.G.; KUIZINGA, M.C.; DAEMEN, M.J.A.P.; SMITS, J.F.M. Early captopril inhibits DNA synthesis in endothelial cells and normalization of maximal coronary flow in infarcted rat hearts. *Cardiovasc Res* 40: 156-164, 1998.

OLIVARES, E.L., et al. Bone marrow stromal cells improve cardiac performance in healed infarcted rat hearts. *Am J Physiol Heart Cir Physiol* 287: H 464-470, 2004.

PATEL, K.P. Neural regulation in experimental heart failure. *Baillieres Clin Neural* 6: 283-296, 1997.

PATEL, K. P. Role of paraventricular nucleus in mediating sympathetic outflow in heart failure. *Heart Fail Rev*. 5: 73-86, 2000.

PFEFFER, A.M.; PFEFFER, J.M.; FISHBEIN, M.C.; FLETCHER, P.J.; SPADARO, J.; KLONER, R.A.; BRAUNWALD, E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ. Res.* 1979. Apr; 44(4): 503-12.

PFEFFER, A.M. et al. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation* 72, n.2: 406-412, 1985.

PFEFFER, A.M., BRAUNWALD, E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: Experimental observations and clinical implications. *Circulation.*, n.81: 1161-72, 1995.

PFEFFER, J.M.; BRAUNWALD, E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation* 81: 1161-1172, 1990.

PFEFFER, J.M.; PFEFFER, M.A.; BRAUNWALD, E. Hemodynamic benefit and prolonged survival with long-term captopril therapy in rats with myocardial infarction and heart failure. *Circulation* 75: 1149-1155, 1987.

PITT, B., SEGAL, R., MARTINEZ, F.A. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure. *Lancet.* n. 349: 747-52, 1997.

PRUNIER, F., et al. Doppler echocardiographic estimation of left ventricular end-diastolic pressure after MI in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: 346-352, 2002.

SANTOS, P. E. B. & MASUDA, M. O. The electrocardiogram of rats with an old extensive myocardial infarction. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 24: 1173-1177.

SATO, T.; YOSHIMURA, R.; KAWADA, T.; SHISHIDO, T.; MIYANO, H.; SUGIMACHI, M.; SUNAGAWA, K. The brain is a possible target for an angiotensin-converting enzyme inhibitor in the treatment of chronic heart failure. *J. Card. Fail.* 4: 139-144, 1998.

SCHILLER, N.B., et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr* Sep-Oct; 2(5): 358-67, 1989.

SCHOEMAKER, R.G.; KALKMAN, E.A.; SMITS, J.F. Quality of life after therapy in rat with myocardial infarction: dissociation between hemodynamic and behavioral improvement. *Eur. J. Pharmacol.* 1996, Feb 29, 298(1): 17-25.

SELYE, H., BAJUSZ, E., GRASSOS, S., MENDEL, P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology.*, n. 11: 398-407, 1960.

SHAN, D.J.; DeMARIA, A.; KISSLO, J.; WEYMAN, A. Recommendations regarding M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiography measurements. *Circulation* 58: 1072-1083, 1978.

SHAO, Q., et al. Captopril treatment improves the sarcoplasmic reticular Ca⁺⁺ transport in heart failure due to myocardial infarction. *Journal Mol. Cell. Cardiol.* N. 31: 1663-72, 1999.

SPADARO, J.; FISHBEIN, M.C.; HARE, C.; PFEFFER, M.A.; MAROKO, P.R. Characterization of myocardial infarcts in the rat. *Arch Pathol Lab Med* 104: 179-183, 1980.

TANAKA, N. et al. Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. *Circulation* 94: 1109-1117, 1996.

TILLEY, L.P., GOODWIN, J.K. *Manual de Cardiologia para cães e gatos*. São Paulo, Ed. Roca, 3 ed., 2002.

YOSHIYAMA, M. et al. Effects of cellular cardiomyoplasty on ventricular remodeling assessed by doppler echocardiography and topographic immunohistochemistry. *Cir J* 68:580-586, 2004.

ZHANG, W.; HUANG, B. S.; LEENEN, F. H. Brain rennin-angiotensin-aldosterone system and sympathetic hyperactivity in rats after myocardial infarction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol* 276: H1608-H1615, 1999.

ZHANG, Z. H.; FRANCIS, J. WEISS, R. M.; FELDER, R. B. The rennin-angiotensin-aldosterone system excites hypothalamic paraventricular nucleus neurons in heart failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol* 283: H423-H433, 2002.

ZORNOFF, L. A.M.; SPADARO, J. Ventricular remodeling after acute myocardial infarction. Concepts, pathophysiology and therapeutic approach. *Arq. Bras. Cardiol.* 1997. Jun 68(6): 453-60.

ZORNOFF, L.A.M.; MATSUBARA, B.B.; MATSUBARA, L.S.; PAIVA, S.A.R.; SPADARO, J. Early rather than delayed administration of lisinopril protects the heart after myocardial infarction in rats. *Basic Res Cardiol* 95: 208-214, 2000.

ANEXOS

A – Artigo dos Anais da Academia Brasileira de Ciências (2007) 79(2): 251-259