

*Meliza Goi Roscani*

# **Evolução das modificações morfo-funcionais cardíacas no processo de adaptação crônica à insuficiência aórtica aguda experimental em ratos**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, para obtenção de título de doutor.

Orientador: Profa. *Beatriz Bojikian Matsubara*  
Co-Orientador: Prof. *Luiz Shiguero Matsubara*

Botucatu  
2011

**DEDICATÓRIA**

*Dedico esta tese a três pessoas:*

*Minha mãe, Maria Eliza Goi Roscani, zelosa e exemplar, amiga e companheira de todas as horas. Obrigada pela minha educação, por sua dedicação e amor imensurável. Obrigada por ter me ensinado que*

*“O que importa na vida não é o ponto de partida, mas a caminhada.  
Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”  
Cora Coralina*

*Meu pai, Augusto Carlos Roscani, que durante toda minha vida me fortaleceu e me apoiou. Obrigada por seu exemplo de justiça, honestidade e coerência. Obrigada por ter me alertado:*

*“Não se preocupe tanto em entender. Viver ultrapassa todo o entendimento.”  
Clarice Lispector*

*Obrigada por tudo que sou. Por fim, obrigada por terem existido!*

*Minha orientadora, Professora Dra. Beatriz Bojikian Matsubara, por todos os ensinamentos científicos, éticos e morais, pela paciência em discutir dados, por sempre me encorajar e acreditar em meu potencial. Um grande exemplo a seguir. Tem como uma de suas qualidades, além de nunca desistir do que acredita, lutar sempre com justiça por seus objetivos. Sempre me ensinou que:*

*“A mente que se abre a uma nova idéia jamais volta ao seu tamanho original.”  
Albert Einstein*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço a Deus, em primeiro lugar, por ter abençoado a minha infância, minha juventude e toda a minha caminhada. Obrigada pela minha fé e religiosidade. Fez com que através de minhas orações e preces aprendesse que:*

*“Deus nos dá pessoas e coisas, para aprendermos a alegria....Depois, retoma coisas e pessoas para ver se já somos capazes da alegria sozinhos. Essa...a alegria que Ele quer”.*

*Guimarães Rosa*

*Agradeço a Dra. Beatriz pelo incentivo de todas as horas e por me ensinar que:*

*Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos.*

*Agradeço ao Professor Dr. Katashi Okoshi, com quem tenho a honra de trabalhar no ambulatório de cardiologia e aprender ecocardiograma pediátrico e*

*Ao Professor Dr. João que com seu jeito peculiar, amigo e companheiro soube me influenciar a seguir meus sonhos e*

*Ao Professor Dr. Matsubara que com alegria e otimismo sempre me orientou e impulsionou no ramo da pesquisa científica e*

*À Professora Dra. Marina, pela sua alegria, incentivo, inteligência e cordialidade e*

*À Dra Bertha por ser sempre companheira e minha inestimável amiga e sempre parceira nos trabalhos experimentais e*

*Ao Dr. Cicogna, que me iniciou na experimentação e análise científica e*

*Ao grupo da Experimental, especificamente ao Mário, que teve paciência e dedicação ao me acompanhar nas cirurgias experimentais e nos ecocardiogramas dos ratinhos e também pela inestimável ajuda e solidariedade em minhas dificuldades e*

*A todas as enfermeiras que me acompanharam e acreditaram em minha potencialidade, pela verdadeira amizade que duplicou nossa alegria e dividiu nossas tristezas;*

*A todos os funcionários da Cardiologia, do Ecocardiograma e do Departamento de Clínica Médica pela amizade, compreensão e ajuda. Sem eles, meu trabalho não teria se realizado!*

*“Muitas vezes basta ser: Colo que acolhe, Braço que envolve, Palavra que conformta, Silêncio que respeita, Alegria que contagia, Lágrima que corre, Olhar que acaricia, Desejo que sacia, Amor que promove. E isso não é coisa de outro mundo, É o que dá sentido à vida. É o que faz com que ela Não seja nem curta, Nem longa demais, Mas que seja intensa, Verdadeira, pura...*

*Enquanto durar”*

*Cora Coralina*

*Aos meus queridos amigos e companheiros de luta Dr. Marcos (Japa), Dra Mari, Dra. Daniele, Dr. Daniéliso, Dra. Ana Lúcia, Dra. Elaine, Dra Fabiana, Dra Eneida, Dra Ana*

*Gabriela, Dr. Péricles, Dr. Marcos (Meleca), Dra. Paula, Dra. Renata, Dra. Juliana, Dr. Ricardo, Dr. Fábio, Dr. Renato, Dr. Minoru e Dra. Silmeia pela amizade e o entendimento de que:*

*“Fácil é ser colega, fazer companhia a alguém, dizer o que ele deseja ouvir. Difícil é ser amigo para todas as horas e dizer sempre a verdade quando for preciso. E com confiança no que se diz”.*

*C. Drummond de Andrade*

*Ao meu amigo de todas as horas, Dr. Denis, que soube me ouvir, me compreender e sempre estar junto nas horas que mais precisei. A amizade é um amor que nunca morre.*

*Aos Professores Drs. Katashi, Dr. Marcos e Dra. Juliana, que fazendo parte da banca examinadora de qualificação, foram técnicos e amigos e contribuindo sobremaneira na redação final desta tese e me fizeram entender:*

*“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”*

*Fernando Sabino*

## SUMÁRIO

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 1. Introdução .....                 | 1  |
| 2. Objetivos .....                  | 7  |
| 3. Casuística e Métodos .....       | 9  |
| 4. Resultados .....                 | 19 |
| 5. Discussão .....                  | 37 |
| 6. Conclusão .....                  | 44 |
| 7. Referências Bibliográficas ..... | 46 |

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

%AF: porcentagem de água no fígado  
%E: Porcentagem de encurtamento do ventrículo esquerdo  
A: Onda A do fluxo transvalvar mitral  
AAD: Área do átrio direito  
AAE: Área do átrio esquerdo  
AAE/AAD: Área normalizada do átrio esquerdo  
AE: Diâmetro sistólico do átrio esquerdo no modo M  
AO: Diâmetro diastólico da aorta no modo M  
ASM: Área seccional do miócito  
CVF: Fração de volume de colágeno  
DDVE: Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo  
DSVE: Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo  
E: Onda E do fluxo transvalvar mitral  
GEE: General Estimative Equation  
HE: Hematoxilina-Eosina  
IAO: Insuficiência aórtica  
L: Diâmetro longitudinal do ventrículo esquerdo, na posição apical 4-  
câmaras  
I: Diâmetro transversal do ventrículo esquerdo, na posição apical 4-  
câmaras  
I/L: Índice de esfericidade do ventrículo esquerdo  
PC: Peso corporal  
PP: Espessura da parede posterior  
PPC: Pressão de perfusão coronariana  
PP/DDVE: do ventrículo esquerdo  
PulmU: Pulmão úmido  
PVD: Peso do ventrículo direito  
PVE: Peso do ventrículo esquerdo  
VE: Ventrículo esquerdo

**RESUMO**

**Fundamento:** A adaptação cardíaca à insuficiência aórtica resulta em hipertrofia excêntrica seguida de disfunção ventricular e insuficiência cardíaca. A evolução desse processo ainda não é bem compreendida. **Objetivos:** Avaliar a adaptação cardíaca à insuficiência aórtica aguda experimental por meio de ecocardiografia, identificar os marcadores anatômicos de transição da hipertrofia excêntrica compensada para a fase descompensada e verificar se existe associação entre marcadores anatômicos e de disfunção ventricular e fibrose miocárdica. **Casuística e Métodos:** Estudo experimental com 35 ratos Wistar machos, 23 animais submetidos à insuficiência aórtica aguda (grupo IAO) e 12 animais a procedimento simulado (Grupo Controle). Todos os animais foram seguidos com ecocardiogramas seriados com 1, 4, 8 e 16 semanas. No término do protocolo, foi realizada morfometria do tecido cardíaco. A análise estatística foi efetuada por meio do teste “t” de Student, Mann-Whitney, ANOVA de medidas repetidas, Modelo de Regressão Longitudinal (GEE) e Modelo de Regressão Linear simples e múltipla. Em todos os casos, o nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ . **Resultados:** Houve interação entre tempo e insuficiência aórtica para aumentar o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE,  $p < 0,001$ ), a área normalizada do átrio esquerdo (AAE/AAD,  $p = 0,0011$ ) e índice de esfericidade (I/L,  $p < 0,001$ ) e diminuir a do ventrículo esquerdo (PP/DDVE,  $p = 0,009$ ) e a porcentagem de encurtamento (%E,  $p < 0,001$ ). Comparativamente à semana 1, o aumento do I/L na semana 4 ( $0,72 \pm 0,10$  vs.  $0,65 \pm 0,60$ ;  $p < 0,001$ ) ocorreu anteriormente ao aumento do DDVE ( $9,00 \pm 1,30$  mm vs.  $7,60 \pm 0,63$  mm;  $p < 0,05$ ), observado na semana 8. Também precedeu o aumento da AAE/AAD ( $1,59 \pm 0,35$  vs.  $1,45 \pm 0,20$ ;  $p < 0,05$ ) e a redução da PP/DDVE ( $0,18 \pm 0,04$  vs.  $0,20 \pm 0,02$ ;  $p = 0,003$ ), observados na semana 16. Houve interação entre tempo e I/L para reduzir a %E ( $p < 0,001$ ). A regressão linear múltipla mostrou que na semana 4 apenas o DDVE foi preditor de disfunção sistólica na semana 16 ( $R^2 = 0,35$ ;  $p = 0,026$ ). O mesmo modelo obtido na semana 8 mostrou que apenas I/L e AAE/AAD foram independentemente associados à redução da %E na semana 16 ( $R^2 = 0,52$ ;  $p = 0,031$  e  $p = 0,032$ , respectivamente). No momento final do protocolo, os grupos eram semelhantes quanto ao peso corporal (IAO:  $476 \pm 67$  g; Controle:  $429 \pm 82$  g;  $p = 0,57$ ), porcentagem de água no fígado (IAO:  $70 \pm 1\%$ ; Controle:  $70 \pm 2\%$ ;  $p = 0,376$ ) e peso

úmido dos pulmões normalizado para o peso corporal (IAO:  $6,54 \pm 1,56$  mg/g; Controle:  $6,06 \pm 0,75$  mg/g;  $p=0,57$ ). Não houve diferença entre os grupos quanto à fração de volume de colágeno (CVF; IAO: 6,63 %; 5,4-8,9 %; Controle: 6,23 %; 3,63-6,89 %,  $p=0,23$ ). No entanto, essa variável apresentou associação inversa e significativa com a %E, nos animais IAO, na semana 16 ( $R=0,58$ ,  $R^2=0,33$ ;  $p=0,008$ ). **Conclusões:** Nesse modelo experimental, a adaptação cardíaca se faz a partir de hipertrofia excêntrica compensada, seguida de fase descompensada, caracterizada por sinais de disfunção sistólica e diastólica e na ausência de fenômenos congestivos. O índice de esfericidade é um marcador precoce dessa transição. O aumento da área do átrio esquerdo, um índice de disfunção diastólica, também foi marcador de disfunção sistólica. A presença de fibrose no grupo IAO parece acentuar a disfunção ventricular.

**Palavras-chave:** insuficiência cardíaca, geometria esférica, hipertrofia descompensada e Doppler-ecocardiograma.

## **ABSTRACT**

**Objectives:** To evaluate the cardiac adaptation to experimental acute aortic regurgitation by echocardiography, to identify the anatomical markers of the transition from compensated eccentric hypertrophy to decompensated stage and to investigate the association between anatomical markers of ventricular dysfunction and myocardial fibrosis. **Methods:** Thirty five Male Wistar rats underwent surgical procedure for inducing acute aorta regurgitation (AR group, n= 23) or sham operation (SH group, n= 12). Transthoracic echocardiograms were performed at 1, 4, 8 and 16 weeks after procedure. At the end of the protocol, morphometry of the heart tissue was performed. Statistical analyses used *t* test, Mann-Whitney, repeated measures ANOVA, GEE model (General Estimative Equation, STATA 10.0), linear regression model and multiple linear regression. In all cases, the level of significance was  $p < 0.05$ . **Results:** There were interactions between time and AR for increasing left ventricle diastolic diameter (LVDD,  $p < 0.001$ ), normalized left atrium area (LAA,  $p = 0.0011$ ) and sphericity index (SI,  $p < 0.001$ ), and for decreasing relative wall thickness (RWT,  $p = 0.002$ ) and fractional shortening (FS,  $p < 0.001$ ). Compared to week 1, the increased SI at week 4 ( $0.72 \pm 0.10$  vs.  $0.65 \pm 0.60$ ;  $p < 0.001$ ) preceded the LVDD enlargement ( $9.00 \pm 1.30$  mm vs.  $7.60 \pm 0.63$  mm;  $p < 0.05$ ) and LAA increasing ( $1.59 \pm 0.35$  vs.  $1.45 \pm 0.20$ ;  $p < 0.05$ ) observed at week 8 and RWT decreasing observed at week 16 ( $0.18 \pm 0.04$  vs.  $0.20 \pm 0.02$ ;  $p = 0.003$ ). There was an interaction between time and SI for reducing FS ( $p < 0.001$ ). LV systolic dysfunction was detected at week 8 and preceded LAA enlargement at week 16. This suggested increased LV diastolic pressure and it was coincident with the decreased RWT indicating LV dilation. The Multiple Regression Model found that at week four, only LV diastolic diameter was independently associated with fractional shortening at week 16 ( $R^2 = 0.35$ ;  $p = 0.026$ ). The model obtained at week 8 showed that, at this time, only sphericity index and normalized left atrium area were independently associated with the decreased fractional shortening at week 16 ( $R^2 = 0.52$ ;  $p = 0.031$  e  $p = 0.032$ , respectively). At the end of the protocol, the groups were similar in body weight (IAO:  $476 \pm 67$  g; Sham:  $429 \pm 82$  g,  $p = 0.57$ ), percentage of water in the liver (IAO:  $70 \pm 1\%$ ; Control  $70 \pm 2\%$ ,  $p = 0.376$ ) and lung wet weight normalized to body weight (IAO:  $6.54 \pm 1.56$  mg / g, control:  $6.06 \pm 0.75$  mg / g,

p = 0, 57). There was no difference between groups as collagen volume fraction was concerned (CVF; IAO: 6.63%[5.4 to 8.9%], control: 6.23%[3.63 to 6.89%], p = 0.23). CVF presented a significant inverse association with FS, in IAO group, week 16 (R = 0.58, R<sup>2</sup> = 0.33, p = 0.008). **Conclusions:** In this experimental model, the cardiac adaptation is eccentric hypertrophy, followed by decompensated phase, characterized by signs of systolic and diastolic dysfunction in the absence of congestive phenomena. The sphericity index is an early marker of this transition. Increased left atrial area, an index of diastolic dysfunction, is also a marker of systolic dysfunction. The presence of fibrosis in the IAO group appears to enhance left ventricular dysfunction.

# 1. INTRODUÇÃO

A principal resposta do coração às sobrecargas hemodinâmicas crônicas é a hipertrofia miocárdica. Durante muito tempo, os autores argumentaram sobre o papel benéfico ou prejudicial da hipertrofia nessas situações. A partir do final da década de 80 e nos anos 90, os estudos sobre a remodelação miocárdica mostraram claramente que a hipertrofia é a alteração marcadora de eventos cardiovasculares desfavoráveis, na evolução das diferentes cardiopatias<sup>(1)</sup>. Remodelação cardíaca é a denominação que se dá a um processo complexo e multifatorial que envolve alterações da massa, do volume e da geometria ventricular. Também se acompanha de modificações estruturais e bioquímicas do miocárdio que se constituem nos principais fatores associados à falência ventricular<sup>(2)</sup>. No entanto, a remodelação é mecanismo de adaptação cardíaca à sobrecarga de volume ou pressão e sua principal manifestação detectável clinicamente é a hipertrofia miocárdica<sup>(2,3)</sup>.

A hipertrofia concêntrica ocorre em resposta à sobrecarga pressórica e consiste na replicação em paralelo dos sarcômeros de modo a aumentar a espessura de parede, mantendo constante a tensão parietal<sup>(3)</sup>. Os principais exemplos são hipertensão arterial e estenose aórtica. Esse processo é bastante estudado e se caracteriza, principalmente, por aumento do diâmetro dos miócitos, fibrose intersticial miocárdica, redução da reserva coronariana, ativação de genes fetais, aumento da apoptose e disfunção miocárdica. De início, essa alteração causa disfunção ventricular diastólica<sup>(1-4)</sup>.

O processo de adaptação que ocorre na sobrecarga de volume é bastante diferente e menos estudado. Nessa situação, o aumento da tensão de parede ocorre na diástole, provocando a replicação em série dos sarcômeros, alongamento dos miócitos e aumento do diâmetro da cavidade ventricular. Numa fase compensada dessa adaptação, há aumento proporcional da espessura da parede, de modo que a hipertrofia excêntrica é capaz de normalizar a tensão parietal e preservar a função ventricular. No entanto, havendo manutenção da sobrecarga, ocorre aumento progressivo do diâmetro da cavidade, sem aumento proporcional da espessura da parede miocárdica. Instala-se a condição de hipertrofia excêntrica descompensada, com sobrecarga hemodinâmica e falência

progressiva do ventrículo esquerdo (VE)<sup>(5,6)</sup>. A insuficiência aórtica (IAO), a fístula aorto-cava e a insuficiência mitral são exemplos dessa condição.

Há poucos modelos experimentais de sobrecarga de volume descritos na literatura. Os mais comuns são a insuficiência mitral em cães<sup>(7)</sup> e a fístula aorto-cava<sup>(8)</sup> e a insuficiência aórtica em ratos<sup>(9)</sup>.

A regurgitação aórtica é a principal doença valvar que cursa com a coexistência de sobrecarga volumétrica e sobrecarga pressórica. A primeira causada pelo volume regurgitante durante a diástole e a segunda secundária ao aumento da resistência vascular periférica e ao excesso de volume que ocorre durante a fase de ejeção. O processo de adaptação a essa sobrecarga hemodinâmica peculiar é bastante interessante. A hipertrofia excêntrica, inicialmente compensada, permite ao ventrículo aumentar sua capacidade de conter o excesso de volume. Isto é, há aumento da complacência do VE. Como consequência, a pressão de enchimento ventricular permanece em níveis normais e o fluxo diastólico atrioventricular ocorre sem sobrecarga para o átrio esquerdo<sup>(5,10,11)</sup>. Portanto, não havendo congestão pulmonar, os indivíduos com insuficiência aórtica permanecem longos períodos sem manifestar o principal sintoma de falência ventricular que é a intolerância aos esforços físicos. No entanto, em função dos mecanismos adaptativos, há modificações intrínsecas importantes no miocárdio, suficientes para induzir disfunção celular ou ventricular, mesmo na ausência de sintomas. Com isso, em geral, o diagnóstico da disfunção cardíaca ocorre tardiamente, com menor chance de regressão das alterações<sup>(5)</sup>.

Há consenso hoje de que a disfunção miocárdica na insuficiência aórtica ocorre de maneira contínua, a partir da instalação da sobrecarga hemodinâmica, mas não se conseguiu estabelecer um marcador morfológico ou funcional que se associe com risco aumentado de evolução para disfunção ventricular. A disfunção sistólica, definida neste contexto como fração de ejeção diminuída ao repouso, é inicialmente um fenômeno reversível, secundário ao aumento da pós-carga, com possibilidade de normalizar o tamanho do VE e a fração de ejeção após a terapia de substituição valvar aórtica<sup>(12-16)</sup>. Por outro lado, quando o VE assume geometria esférica e dilatação significativa, a depressão da

contratilidade miocárdica passa a ser o principal fator responsável pela disfunção sistólica e o benefício da correção valvar cirúrgica torna-se cada vez menor. As diretrizes atuais da sociedade americana e européia de cardiologia preconizam a intervenção cirúrgica mais precoce, em pacientes assintomáticos que já apresentem dilatação ventricular esquerda significativa ou mesmo redução discreta da fração de ejeção<sup>(17,18)</sup>. Isso se deve principalmente à sequência de trabalhos elaborados desde a década de 80<sup>(15,19-30)</sup> que mostraram que a intervenção precoce nestes pacientes se associa à melhora da sobrevida a longo prazo. Uma análise retrospectiva, publicada em 2006, por Tornos e colaboradores<sup>(31)</sup>, mostrou que os pacientes que se enquadravam nas atuais diretrizes para indicação de substituição da valva aórtica devido à insuficiência aórtica isolada evoluíram com melhora da sobrevida pós-cirúrgica em relação aos pacientes que tiveram indicação de intervenção mais tardiamente. No entanto, essa questão continua em debate, pois a redução da fração de ejeção, o aparecimento de sintomas significativos e a dilatação importante da cavidade ventricular esquerda, constituem os únicos marcadores conhecidos para intervenção cirúrgica. Até o presente, permanece sem definição o papel da mudança de geometria do VE como preditor de desfechos na insuficiência aórtica. Também não se conhece a importância do aumento do átrio esquerdo, um marcador de disfunção diastólica<sup>(32,33)</sup>, na evolução da doença.

Os principais aspectos fisiopatológicos analisados nos estudos sobre sobrecarga de volume foram o papel do sistema renina-angiotensina-aldosterona, a matriz colágena extracelular e contratilidade miocárdica *in vitro*. Os principais resultados foram obtidos até 10 semanas de evolução no modelo clássico de fístula aorto-cava e mostraram aumento do débito e do índice cardíaco<sup>(34-36)</sup>. Brower e Janicki<sup>(37)</sup>, com observações efetuadas até 21 semanas de evolução, também no modelo de fístula aorto-cava, mostraram prejuízo intrínseco da contratilidade miocárdica e desenvolvimento de insuficiência cardíaca, com incidência de 80% de mortalidade após exposição à sobrecarga crônica de volume.

Wang e colaboradores<sup>(8)</sup> publicaram em 2003 as alterações estruturais e hemodinâmicas do coração ao longo de 1, 2, 4, 8 e 16 semanas de evolução após o modelo de fístula aorto-cava. Foram observados três estágios de

hipertrofia ventricular durante o seguimento. O primeiro estágio ocorreu nas duas primeiras semanas após a cirurgia e foi caracterizado por hipertrofia ventricular em desenvolvimento, com aumento rápido da massa do ventrículo direito e esquerdo. A hipertrofia compensatória ocorreu com 2 a 8 semanas de evolução sem alteração significativa da performance hemodinâmica, avaliada por meio da fração de ejeção. Entre 8 e 16 semanas ocorreu falência dos mecanismos compensatórios e os animais apresentaram aumento da tensão parietal e insuficiência cardíaca, com prejuízo significativo da função ventricular.

Stefano e colaboradores<sup>(38)</sup> avaliaram a função diastólica e sistólica de ratos Wistar, submetidos à fístula arterio-venosa infra-renal, por oito semanas. Os autores observaram que, embora o VE com hipertrofia excêntrica apresentasse aumento da sua complacência, os índices de contração e de relaxamento se associaram inversamente com o peso do VE. Isto é, nessa condição experimental o enchimento diastólico poderia ocorrer com baixas pressões, prevenindo os fenômenos congestivos próprios da insuficiência cardíaca. No entanto, já haveria sinais de disfunção miocárdica, a qual foi proporcional ao grau de hipertrofia.

A presença de fibrose miocárdica nesse modelo experimental é tema de controvérsia. Guido e colaboradores<sup>(39)</sup> investigaram o papel da pressão de perfusão coronariana no remodelamento subendocárdico e os possíveis efeitos sobre a função cardíaca em um modelo de fístula aorto-cava. Os autores mostraram que a disfunção ventricular estava associada à fibrose intersticial e, surpreendentemente, essa fibrose ocorreu com maior predominância nas áreas de redução do fluxo coronariano, sugerindo que a queda da pressão de perfusão coronariana tem correlação fisiopatológica com a disfunção ventricular na sobrecarga de volume. Por outro lado, outros autores não observaram fibrose intersticial relevante em modelos experimentais de sobrecarga de volume<sup>(38,40,41)</sup>.

O ecocardiograma, largamente reconhecido por proporcionar boa acurácia nas medidas quantitativas, morfológicas e funcionais do ventrículo esquerdo em humanos, tem se revelado um importante método na avaliação de aspectos hemodinâmicos e de geometria e função ventricular esquerda em pequenos animais. Modelos experimentais de insuficiência aórtica que estudaram a adaptação ventricular crônica a essa sobrecarga de volume são escassos na

literatura. Plante e colaboradores<sup>(42)</sup> observaram por meio da análise ecocardiográfica comparativa de 2 semanas, 6 meses e 12 meses que ratos Wistar com insuficiência aórtica apresentavam aos 6 meses da avaliação dilatação ventricular e hipertrofia excêntrica, sem prejuízo na função sistólica. Foi também realizada análise histopatológica do miocárdio dos animais, sendo observado aumento significativo da fibrose subendocárdica, com 6 meses e 1 ano de acompanhamento da insuficiência aórtica.

Murakami e colaboradores<sup>(43)</sup> compararam ratos com insuficiência aórtica tratados com perindopril com ratos com insuficiência aórtica sem tratamento e ratos com cirurgia simulada. Realizaram seguimento ecocardiográfico a cada 2 semanas no total de 12 semanas e mostraram dilatação ventricular, redução mais acentuada da porcentagem de encurtamento e aumento do colágeno intersticial nos ratos com insuficiência aórtica sem tratamento quando comparado aos demais grupos. Por outro lado, Liu e colaboradores<sup>(44)</sup> induziram insuficiência aórtica moderada a importante em 11 coelhos, confirmada pelo ecocardiograma. Após a morte desses animais, foi efetuada análise histopatológica do miocárdio. Seis animais morreram em um ano e meio de seguimento e todos apresentaram sinais histológicos de lesão miocárdica. Os cinco animais remanescentes foram sacrificados com cerca de 2,9 anos de seguimento e não foram encontradas evidências patológicas de lesão cardíaca, mostrando variedade histopatológica significativa no aparecimento de insuficiência cardíaca para o mesmo grau de sobrecarga de volume no modelo experimental de insuficiência aórtica.

Diante das informações obtidas na literatura formulou-se a hipótese de que, na insuficiência aórtica, outras alterações estruturais cardíacas, além do aumento do VE, ocorrem precocemente, antes da disfunção ventricular, *in vivo*. Essas alterações se acentuam progressivamente, enquanto a disfunção ventricular se instala. Além disso, é provável que essa disfunção esteja associada à fibrose miocárdica.

## **2. OBJETIVOS**

Os objetivos do presente estudo foram:

1. Avaliar a adaptação cardíaca à insuficiência aórtica aguda experimental por meio de ecocardiografia;
2. Identificar os marcadores anatômicos de transição da hipertrofia excêntrica compensada para a fase descompensada;
3. Verificar se existe associação entre marcadores anatômicos e de disfunção ventricular e fibrose miocárdica.

### **3. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas estabelecidas pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e pelo UFAW (The Universities Federation for Animals Welfare) e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP. (Protocolo 715 - CEEA, de 12 de fevereiro de 2009).

### **Cálculo do tamanho amostral:**

Considerou-se relevante a diferença de 1,0 mm no diâmetro diastólico do VE, considerados dois grupos experimentais, controle e IAO, com desvio padrão de 0,7 mm. Nessas condições, o tamanho amostral, com poder do teste de 0,80 e alfa de 0,05 seria de, pelo menos, 10 animais em cada grupo.

### **Animais**

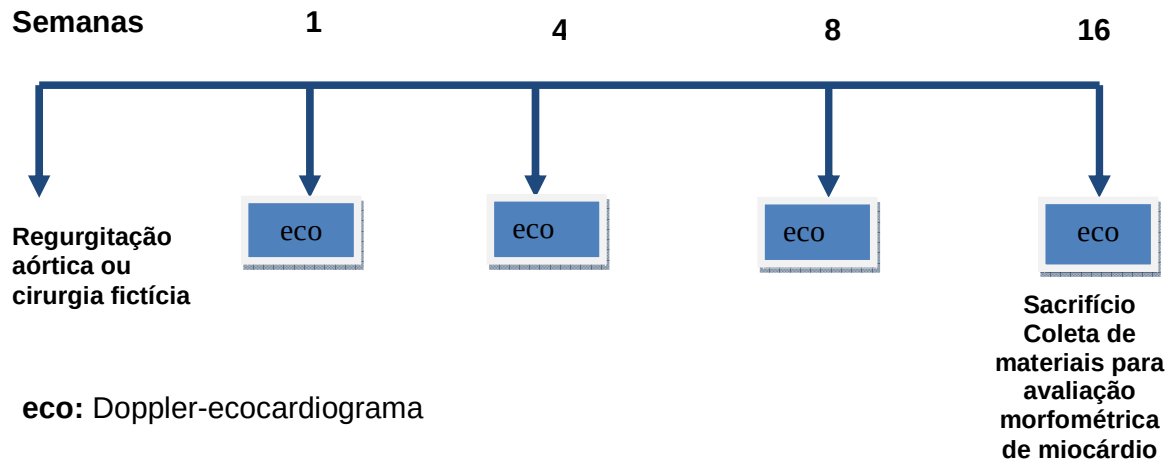
Foram utilizados 35 ratos Wistar machos com peso corporal aproximado de 250 a 300 g provenientes do Biotério Central da Unesp, campus de Botucatu. Os ratos foram mantidos em grupos de cinco em gaiolas por até 16 semanas, em local com temperatura e ciclo de luz, mantidos em níveis controlados, e recebendo água e ração *ad libitum*. Os animais foram aleatoriamente separados em dois grupos: **Grupo IAO** (composto por 23 animais submetidos ao procedimento para indução de insuficiência aórtica aguda) e **Grupo Controle** (composto por 12 animais submetidos ao procedimento simulado).

### **Metodologia**

Os animais foram submetidos à cirurgia para indução de regurgitação aórtica, por meio da punção retrógrada e lesão de folhetos valvares. Todos os animais foram seguidos com ecocardiogramas seriados com 1, 4, 8 e 16 semanas (momentos S1, S4, S8 e S16, respectivamente), conforme ilustração

abaixo. Após o sacrifício com 16 semanas, amostras do tecido cardíaco foram obtidas para morfometria.

## Desenho do estudo



## Regurgitação aórtica

O modelo de regurgitação aórtica foi realizado utilizando-se a técnica descrita por Plante e colaboradores<sup>(9)</sup> e modificada em nosso laboratório. Resumidamente, sob anestesia com pentobarbital sódico a 4% (0,1 ml/Kg), a artéria carótida comum direita foi dissecada e canulada com cateter de policloreto de vinila (0,5 mm de diâmetro interno), preenchido com solução fisiológica heparinizada (1000 UI/ml). Após registro da pressão arterial sistêmica, o cateter foi avançado até bem próximo à valva aórtica. Um fio guia de aço de diâmetro apropriado (0,34 mm) foi introduzido através do cateter carotídeo de modo a produzir lesões puntiformes repetidas na valva aórtica. O procedimento só era finalizado quando não havia mais qualquer resistência ao avanço do fio guia.

O grupo submetido à cirurgia fictícia foi constituído de animais submetidos aos mesmos procedimentos, porém sem a perfuração da valva aórtica.

A presença e caracterização qualitativa da gravidade da insuficiência aórtica foram confirmadas por ecocardiograma, uma semana após a cirurgia.

Os animais que não apresentavam insuficiência aórtica de moderada a importante foram excluídos do estudo.

## **Estudo Doppler - ecocardiográfico**

O estudo foi realizado por meio de Doppler-ecocardiografia transtorácica convencional com equipamento Philips (HDI 5000), dotado de transdutor eletrônico setorial multifrequência (5,0 a 12 MHz), seguindo-se a padronização descrita na literatura<sup>(45)</sup>. Todos os exames foram realizados pelo mesmo pesquisador.

Os ratos foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/kg) e cloridrato de xilidino (1 mg/kg) por via intramuscular, com posterior tricotomia da região anterior do tórax. Após estes procedimentos, os animais foram posicionados em decúbito dorsal para realização do ecocardiograma, em aparato de madeira especificamente construído para esse fim. As imagens monodimensionais foram obtidas com o feixe de ultra-som orientado pela imagem bidimensional, sendo esta adquirida com o transdutor na posição paraesternal eixo menor. A imagem da cavidade ventricular esquerda foi obtida posicionando o cursor do modo-M logo abaixo do plano da valva mitral entre os músculos papilares. As imagens da aorta (AO) e do átrio esquerdo (AE) também foram adquiridas na posição paraesternal eixo menor com o cursor do modo-M passando pelos folhetos da valva aórtica. As medidas do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE), diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (DSVE), espessura diastólica da parede posterior (PP), conforme ilustra a figura 1, diâmetro do AE e diâmetro da AO (figura 2) foram realizadas por meio do cursor do próprio equipamento, durante o exame. Três a cinco ciclos consecutivos foram utilizados para a realização das medidas, obtendo-se a média aritmética dos valores. As imagens dos registros das câmaras ventriculares, modo M, foram arquivadas para eventuais consultas posteriores.

O fluxo diastólico transmitral (figura 3) foi obtido com o transdutor colocado na posição apical quatro câmaras permitindo as medidas das ondas E (E, cm/s) e A (A, cm/s). A frequência cardíaca (FC, bpm) foi estimada pelo tempo

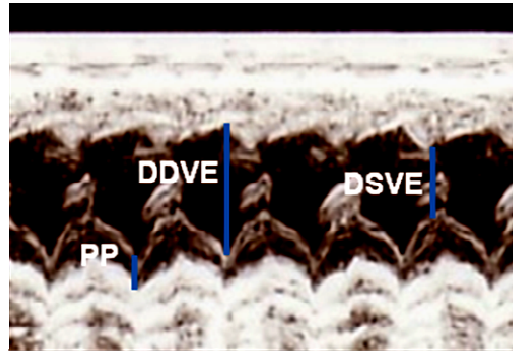
entre dois batimentos consecutivos. As medidas referentes aos fluxos também foram realizadas diretamente no monitor do ecocardiógrafo, obedecendo à mesma sistemática descrita acima.

As áreas dos átrios esquerdo (AAE, cm<sup>2</sup>) e direito (AAD, cm<sup>2</sup>) foram obtidas a partir da planimetria na janela apical quatro câmaras, no final da sístole ventricular, quando as dimensões dos átrios eram máximas (figura 4). As medidas dos eixos maior (L) e menor (l) do ventrículo esquerdo foram realizadas no corte apical, respectivamente, por meio da medida da maior distância entre o ânulo mitral e o ápice do VE, no final da diástole, e o maior diâmetro transversal entre o endocárdio da parede septal e o endocárdio da parede lateral (figura 5).

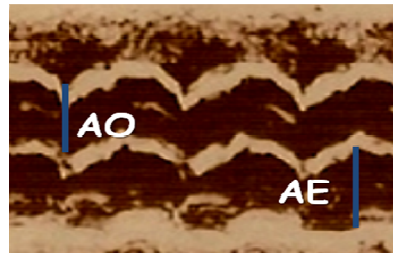
A regurgitação aórtica (figura 6) foi considerada significativa quando, no mapeamento de fluxo a cores, observava-se fluxo retrógrado e holo-diastólico na porção proximal da aorta descendente e o jato regurgitante ocupava mais de 50% do diâmetro da via de saída do VE <sup>(42)</sup>.

As outras variáveis derivadas de cálculos matemáticos, a partir das medidas obtidas estão descritas abaixo:

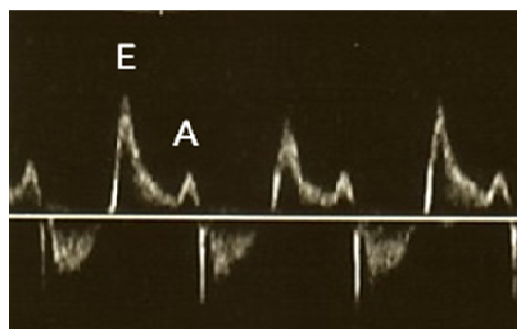
- PP/DDVE = espessura relativa da parede posterior do VE
- AE/AO
- %E =  $[(DDVE - DSVE) / DDVE] \times 100$  (%), sendo %E a porcentagem de encurtamento do VE.
- E/A
- AAE/AAD = área normalizada do átrio esquerdo
- l/L= índice de esfericidade do VE



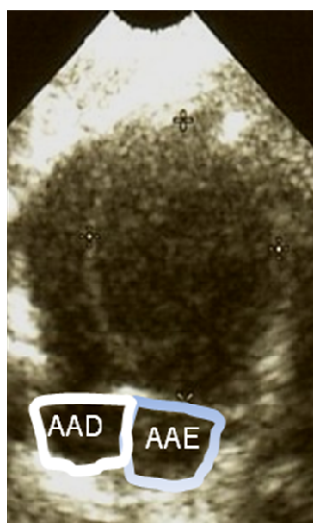
**Figura 1.** Variáveis ecocardiográficas de dimensão do ventrículo esquerdo (VE): diâmetro diastólico (DDVE), diâmetro sistólico (DSVE) e espessura diastólica da parede posterior (PP), obtidos pelo modo M, a partir da janela paraesternal, eixo menor.



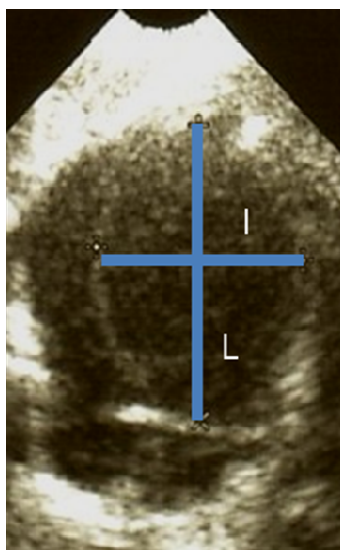
**Figura 2.** Diâmetro da aorta (AO) e do átrio esquerdo (AE), obtidos pelo modo M, a partir da janela paraesternal, eixo menor.



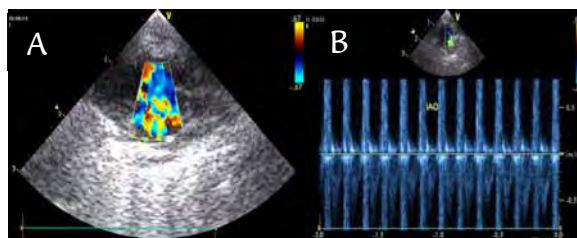
**Figura 3.** Fluxo diastólico transmitral de um animal do grupo controle: velocidade de pico das ondas de enchimento E e A.



**Figura 4.** Área do átrio esquerdo (AAE) e área do átrio direito (AAD), no final da sístole ventricular, obtidas na janela apical de quatro câmaras.



**Figura 5.** Índice de esfericidade (I/L) do ventrículo esquerdo (VE), obtido no final da diástole (janela apical de quatro câmaras).



**Figura 6.** Paineis A= mapeamento de fluxo a cores mostrando regurgitação aórtica na janela paraesternal, eixo maior. Paineis B= imagem de Doppler pulsado mostrando refluxo aórtico holodiastólico.

### **Análise morfométrica**

Procedeu-se a eutanásia por meio de injeção venosa de pentobarbital sódico. Em seguida, foi efetuada toracotomia mediana e o coração foi retirado e banhado em soro fisiológico. Os átrios e os grandes vasos foram retirados e desprezados. Os ventrículos direito e esquerdo foram separados e pesados. A base e o ápice do ventrículo esquerdo e metade do ventrículo direito foram rapidamente congelados e estocados em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . A porção coronal central do ventrículo esquerdo e metade do ventrículo direito foram fixadas em solução tamponada de formol a 10% por período de 48 horas. Após a fixação, o tecido foi incluído em blocos de parafina, obtendo-se a seguir, cortes histológicos coronais de  $4\ \mu\text{m}$  para coloração com Hematoxilina-Eosina (HE). Cortes histológicos de  $6\ \mu\text{m}$  foram corados pelo Picro Sirius red, específico para colágeno, para avaliação do interstício do miocárdio.

Os cortes histológicos corados pelo HE foram utilizados para análise da área de secção transversa do miócito. Para tanto, eram selecionados miócitos que estavam seccionados transversalmente, apresentando forma circular e com o núcleo visível no centro da célula. Foram medidas, pelo menos, 30 células por lâmina. As lâminas coradas pelo Picro Sirius red foram utilizadas para a quantificação da fração de colágeno intersticial por meio de análise em vídeo-câmara. Imagens do tecido cardíaco foram capturadas por computador IBM compatível e analisadas por software de análise de imagens Image Pro-plus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA). Os elementos do tecido cardíaco

foram identificados de acordo com os níveis de cor. Assim, as fibras de colágeno apareceram vermelhas, os miócitos amarelos e os espaços sem tecidos, brancos. O perfil digitalizado foi analisado pelo computador que calculou o volume de fração do colágeno como a soma de toda área do tecido conectivo dividido pela soma da área de tecido conectivo mais a área do miócito. Em média foram analisados 30 campos por lâmina com a utilização de objetiva 40X. O colágeno perivascular foi excluído da presente análise<sup>(34)</sup>.

### **Variáveis de Congestão Venosa Sistêmica**

Foram obtidos os pesos dos pulmões, normalizados para o peso corporal (PulmU/PC) e a porcentagem de água no fígado (%AF). Essa última foi obtida calculando-se a diferença entre peso úmido e peso seco de fragmento hepático, normalizada pelo peso úmido. O dessecamento do fragmento hepático foi obtido colocando-se a amostra do tecido em estufa por 24 horas.

### **Métodos estatísticos**

As variáveis contínuas foram expressas pelas médias e seus respectivos desvios padrão. As comparações entre grupos, no momento semana 1 foram efetuadas por meio do teste “t” de Student. A variável CVF (fração de volume de colágeno), obtida na semana 16, nos dois grupos experimentais, apresentou distribuição não normal e foi expressa pela mediana e intervalo interquartílicos e analisada por meio do teste de Mann-Whitney.

Em cada grupo, as comparações entre os momentos do estudo foram efetuadas pela ANOVA para medidas repetidas.

O comportamento temporal das variáveis nos dois grupos e as associações entre essas variáveis foram analisados por meio do Modelo de Regressão Longitudinal (Modelo GEE - General Estimative Equation), com o uso do programa STATA 10.0.

As associações entre variáveis funcionais e variáveis morfométricas cardíacas, na 16ª semana do protocolo experimental, foram analisadas pelo Modelo de Regressão Linear Simples.

As associações entre as variáveis morfométricas registradas nos momentos semana 4 e semana 8 e a porcentagem de encurtamento, registrada na semana 16, foram analisadas pelo Modelo de Regressão Linear Múltipla.

Em todos os casos foi adotado o nível de significância  $p < 0,05$ .

## **4. RESULTADOS**

Na Tabela 1 são apresentadas as médias e os desvios padrão dos pesos corporais e dos pesos normalizados dos ventrículos, obtidos no final do protocolo experimental, nos dois grupos do estudo. Também são apresentados os valores médios e os desvios padrão da porcentagem de água no fígado, do peso úmido normalizado dos pulmões, da área seccional do miócito (ASM) e as medianas (intervalos interquartílicos) dos valores de CVF. No final do período de 16 semanas não houve diferença entre os grupos quanto ao peso corporal (IAO:  $476 \pm 67$ g; Controle:  $429 \pm 82$ g;  $p=0,57$ ), porcentagem de água no fígado (IAO:  $70 \pm 1\%$ ; Controle:  $70 \pm 2\%$ ;  $p=0,376$ ) e peso úmido dos pulmões normalizado para o peso corporal (IAO:  $6,54 \pm 1,56$ mg/g; Controle:  $6,06 \pm 0,75$ mg/g;  $p=0,57$ ). Foi observado aumento do peso normalizado do ventrículo esquerdo nos animais IAO ( $2,43 \pm 0,77$ mg/g vs  $1,58 \pm 0,26$ mg/g;  $p=0,025$ ). Os pesos normalizados do ventrículo direito não apresentaram diferença estatística ( $p=0,092$ ). Não houve diferença entre os grupos quanto à variável ASM (IAO:  $284 \pm 59,6$   $\mu$ m; Controle:  $263 \pm 69,2$   $\mu$ m) e à variável CVF (IAO: 6,63 %; 5,4-8,9 %; Controle: 6,23 %; 3,63-6,89 %;  $p=0,23$ ). No entanto, houve associação inversa e significativa entre CVF e %E, nos animais IAO, no momento S16 ( $R=0,58$ ,  $R^2=0,33$ ;  $p=0,008$ ).

Na Tabela 2 são apresentadas as variáveis morfométricas cardíacas e de função sistólica e diastólica do VE, obtidas por meio de ecocardiogramas seriados, nos animais do grupo IAO. Comparado a semana 1, observou-se aumento significativo do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo e diminuição da porcentagem de encurtamento do VE a partir de 8 semanas de seguimento. A redução da espessura relativa da parede posterior do VE e o aumento da área normalizada do átrio esquerdo foram significantes na 16ª semana. O índice de esfericidade aumentou significativamente a partir da quarta semana de evolução.

As mesmas variáveis obtidas no grupo Controle são apresentadas na Tabela 3. Não foi observada diferença estatística entre as variáveis ecocardiográficas ao longo das semanas de evolução.

A influência do tempo e da presença de insuficiência aórtica nas variáveis ecocardiográficas são apresentadas nos Gráficos 1 a 5. As associações entre as variáveis são apresentadas nos Gráficos 6 a 18. As variáveis preditoras

da porcentagem de encurtamento na semana 16 são apresentadas nas Tabelas 4 e 5.

O Gráfico 1 mostra as associações entre tempo e DDVE. Houve interação entre tempo de evolução e presença de IAO no sentido de aumentar o diâmetro da cavidade ( $p < 0,001$ ). Essa interação foi estatisticamente significativa nos momentos S4 ( $p = 0,029$ ), S8 ( $p = 0,001$ ) e S16, ( $p = 0,007$ ). Em todos os momentos, Controles e IAO foram diferentes entre si ( $p < 0,001$ ).

O Gráfico 2 mostra a evolução temporal da espessura relativa da parede posterior do VE (PP/DDVE). Houve interação significativa entre tempo e presença de insuficiência aórtica no sentido de reduzir a PP/DDVE ( $p = 0,0087$ ), mas não foi possível identificar o momento exato em que essa interação ocorreu. A presença de IAO por si só não afetou a evolução dessa variável ( $p = 0,139$ ), enquanto o efeito do tempo foi estatisticamente significativo. Somente na décima sexta semana de evolução os dois grupos se distanciaram, com diferença estatisticamente significativa (IAO:  $0,175 \pm 0,009$ ; Controle:  $0,194 \pm 0,008$ ;  $p = 0,014$ ).

O Gráfico 3 mostra a evolução temporal da porcentagem de encurtamento. Houve interação entre tempo e IAO no sentido de reduzir a %E ( $p < 0,001$ ). Essa interação ocorreu nos momentos S4 ( $p = 0,001$ ), S8 ( $p = 0,013$ ) e S16 ( $p < 0,001$ ) em relação ao momento S1.

No Gráfico 4, é apresentada a evolução da área normalizada do AE (AAE/AAD). O tempo e presença de IAO também mostraram interação significativa ( $p = 0,001$ ), no sentido de aumentar a área normalizada do AE. O momento de interação provavelmente ocorreu em S16, quando a probabilidade foi marginalmente significativa ( $p = 0,057$ ).

O Gráfico 5 mostra a evolução do índice de esfericidade (I/L) do VE. Foi também observada interação entre tempo e IAO ( $p < 0,001$ ), mas não foi possível identificar em qual momento essa interação foi mais importante. Provavelmente, essa interação ocorreu na semana 16 ( $p = 0,06$ ). Em média, o valor do índice foi 0,13 maior no grupo IAO em relação ao grupo Controle. A análise por meio de ANOVA de medidas repetidas identificou que I/L permaneceu estável ao longo do tempo no grupo Controle. No grupo IAO o índice de esfericidade já se

apresentou significativamente aumentado no momento S4 em relação a S1 ( $p<0,05$ ), crescendo pouco até S16 (Tabela 2).

A associação entre PP/DDVE e DDVE, nos diferentes momentos do protocolo experimental e considerando-se os dois grupos, é apresentada no Gráfico 6. Não houve interação entre tempo e DDVE no sentido de modificar a associação, em nenhum dos momentos. Embora na semana 4 houvesse crescimento da espessura relativa da parede posterior do VE ( $p=0,008$ ), durante o protocolo experimental foi identificada associação inversa e significativa entre DDVE e PP/DDVE ( $p<0,001$ ). Para cada unidade de crescimento da cavidade ventricular, houve redução de 0,016 na espessura relativa da parede. Considerando somente os animais do grupo IAO na semana 16 (Gráfico 7), observou-se associação inversa e significativa entre PP/DDVE e DDVE ( $R=0,49$ ,  $R^2=0,24$ ;  $p=0,017$ ).

O Gráfico 8 mostra associação entre DDVE e %E ( $p<0,001$ ), sendo que a presença de IAO não influenciou essa associação ( $p=0,875$ ). O aumento de uma unidade no DDVE esteve associado à redução de 1,47% no índice de função sistólica. A análise estatística identificou interação entre tempo e DDVE no sentido de reduzir a %E nos momentos S4 ( $p=0,025$ ) e S16 ( $p=0,026$ ).

O Gráfico 9 mostra a associação positiva entre AAE/AAD e DDVE ( $p<0,001$ ). Houve interação entre tempo e DDVE, no sentido de aumentar a AAE/AAD ( $p=0,0405$ ), mas sem efeito da presença de IAO ( $p=0,709$ ). Essa interação foi significativa no momento S16 ( $p=0,032$ ). Considerando somente esse momento e os animais com IAO houve associação positiva entre AAE/AAD e DDVE (Gráfico 10,  $R=0,64$ ;  $R^2=0,41$ ;  $p=0,001$ ).

A análise da associação entre I/L e DDVE está ilustrada no Gráfico 11. Houve interação entre tempo e DDVE, no sentido de aumentar a esfericidade do ventrículo esquerdo ( $p=0,0006$ ), que ocorreu com significância marginal nos momentos S4 ( $p=0,055$ ) e S16 ( $p=0,06$ ). Além disso, foi observado que a presença de IAO modificou a associação entre essas variáveis ( $p<0,001$ ).

O Gráfico 12 mostra associação significativa entre PP/DDVE e %E ( $p<0,001$ ). A análise estatística mostrou que essa associação não sofreu influência da presença de IAO ( $p=0,839$ ). Também não foi possível identificar um

momento específico de maior associação, nem a presença de interação entre tempo e porcentagem de encurtamento para reduzir a PP/DDVE ( $p=0,0878$ ).

A associação entre AAE/AAD e PP/DDVE (Gráfico 13) não mostrou significância estatística ( $p=0,09$ ). No entanto, houve interação entre tempo e PP/DDVE no sentido a aumentar a AAE ( $p=0,008$ ) e a maior interação ocorreu no momento S16 ( $p=0,004$ ). A presença de IAO influenciou essa associação ( $P=0,001$ ). Considerando somente os animais com IAO, nesse momento específico, a análise de regressão linear evidenciou associação inversa e significativa entre essas variáveis (Gráfico 14,  $R=-0,44$ ;  $R^2=-0,19$ ;  $p=0,035$ ).

No Gráfico 15 está representada a associação entre PP/DDVE e I/L, que não se mostrou significativa ( $p=0,369$ ). Além disso, a presença de IAO não influenciou essa associação ( $p=0,707$ ). Também não se observou interação entre tempo e esfericidade no sentido de reduzir a espessura da parede.

O Gráfico 16 mostra associação negativa entre AAE/AAD e %E ( $p=0,006$ ). Foi também observada interação entre tempo e %E no sentido de aumentar a AAE/AAD ( $p=0,049$ ), mas não foi possível identificar em qual momento essa interação foi significativa. A presença de IAO influenciou a associação ( $p=0,011$ ), sendo que os animais do grupo IAO apresentaram em média crescimento de 0,14 na área normalizada do AE em relação ao Controle.

Houve interação entre tempo e I/L, no sentido de diminuir a %E ( $p<0,001$ , Gráfico 17) e essa interação foi progressivamente mais significativa com o passar do tempo: S4 ( $p=0,059$ ), S8 ( $p=0,006$ ) e S16 ( $p<0,001$ ). No Gráfico 18 é apresentada a associação entre esfericidade e função sistólica nos animais IAO com 16 semanas de evolução ( $R=0,50$ ;  $R^2=0,25$ ;  $p=0,016$ ).

O modelo de regressão linear múltipla, incluindo as variáveis DDVE, PP/DDVE, AAE/AAD e I/L, obtidas na semana 4 (Tabela 4), para prever %E na semana 16, mostrou que o DDVE foi a única variável independentemente associada ao prejuízo da função sistólica.

O mesmo modelo, incluindo as mesmas variáveis obtidas na semana 8 (Tabela 5), mostrou que a área normalizada do átrio esquerdo e o índice de esfericidade foram as únicas independentemente associadas à %E na semana 16.

**Tabela 1.** Variáveis morfométricas corporais e cardíacas, nos dois grupos, obtidas no final do protocolo experimental. São apresentadas as médias  $\pm$  desvios padrão ou mediana e intervalo interquartilico

| Variáveis      | Controle(n=12)  | IAO(n=23)        | p     |
|----------------|-----------------|------------------|-------|
| PC(g)          | 429 $\pm$ 82    | 476 $\pm$ 67     | 0,57  |
| PVE/PC(mg/g)   | 1,58 $\pm$ 0,26 | 2,43 $\pm$ 0,77* | 0,025 |
| PVD/PC(mg/g)   | 0,52 $\pm$ 0,09 | 0,55 $\pm$ 0,17  | 0,092 |
| %AF            | 70,0 $\pm$ 2    | 70,0 $\pm$ 1     | 0,376 |
| PulmU/PC(mg/g) | 6,06 $\pm$ 0,75 | 6,54 $\pm$ 1,56  | 0,57  |
| ASM ( $\mu$ m) | 263 $\pm$ 69,2  | 284 $\pm$ 59,6   | 0,517 |
| CVF (%)        | 6,23(3,63-6,89) | 6,63(5,4-8,9)    | 0,231 |

IAO= Grupo Insuficiência Aórtica; PC= Peso Corporal; PVE= peso do ventrículo esquerdo; PVD= peso do ventrículo direito; %AF= porcentagem de água no fígado; PulmU= pulmão úmido; ASM= área seccional do miócito; CVF=fração de volume de colágeno. Teste t de Student ou Mann Whitney ( $p<0,05$ ).

**Tabela 2.** Variáveis morfométricas cardíacas e de função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo, obtidas por meio de ecocardiografia seriada, nos animais do grupo IAO. São apresentadas as médias e seus respectivos desvios padrão.

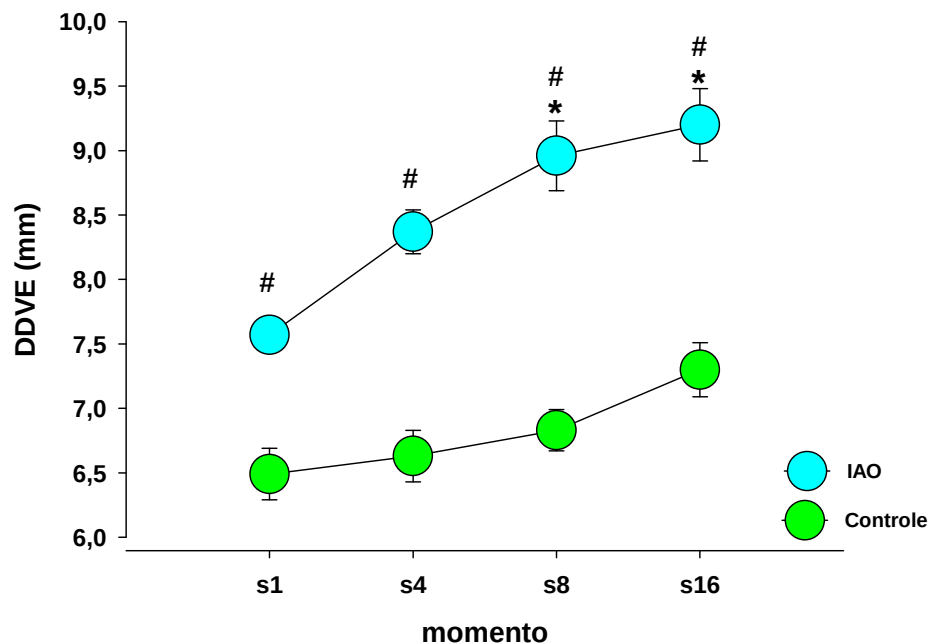
| Variáveis(n=23) | 1 Semana  | 4 Semanas              | 8 Semanas              | 16 Semanas               |
|-----------------|-----------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| FC (bpm)        | 294±45,0  | 293±40,0               | 289±37,0               | 303±39,0                 |
| AE (mm)         | 4,67±0,78 | 5,06±0,79 <sup>a</sup> | 5,32±0,77 <sup>a</sup> | 5,71±0,78 <sup>a,b</sup> |
| DDVE(mm)        | 7,57±0,63 | 8,37±0,80              | 8,96±1,30 <sup>a</sup> | 9,20±1,35 <sup>a,b</sup> |
| DSVE(mm)        | 3,55±0,51 | 4,27±1,14 <sup>a</sup> | 4,70±1,45 <sup>a</sup> | 5,22±1,63 <sup>a,b</sup> |
| PP/DDVE         | 0,20±0,02 | 0,20±0,03              | 0,19±0,04              | 0,18±0,04 <sup>a,b</sup> |
| AE/AO           | 1,39±0,22 | 1,35±0,21              | 1,45±0,19              | 1,44±0,30                |
| AAE/AAD         | 1,45±0,20 | 1,45±0,20              | 1,56±0,31              | 1,59±0,35 <sup>a</sup>   |
| I/L             | 0,65±0,06 | 0,72±0,10 <sup>a</sup> | 0,72±0,10 <sup>a</sup> | 0,74±0,10 <sup>a</sup>   |
| %E              | 0,53±0,04 | 0,49±0,11              | 0,48±0,09 <sup>a</sup> | 0,44±0,10 <sup>a</sup>   |
| E (cm/s)        | 83,0±24,0 | 84,0±16,0              | 80,0±22,0              | 77,0±23,0                |
| A (cm/s)        | 65,0±17,0 | 69,0±20,0              | 67,0±22,0              | 71,0±21,0                |

FC= frequência cardíaca; AE = diâmetro sistólico do átrio esquerdo; DDVE= diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE= diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; PP/DDVE= espessura relativa da parede posterior do VE; AE/AO= diâmetro sistólico do átrio esquerdo no modo M normalizado para o diâmetro diastólico da aorta; AAE/AAD = área do átrio esquerdo normalizada para área do átrio direito; I/L = índice de esfericidade do ventrículo esquerdo; %E= porcentagem de encurtamento do VE; E e A= velocidade das ondas de echimento E e A do fluxo transmitral. As letras “a” e “b” representam diferença significativa em relação à semana 1 e à semana 4, respectivamente. ANOVA de medidas repetidas (p<0,05).

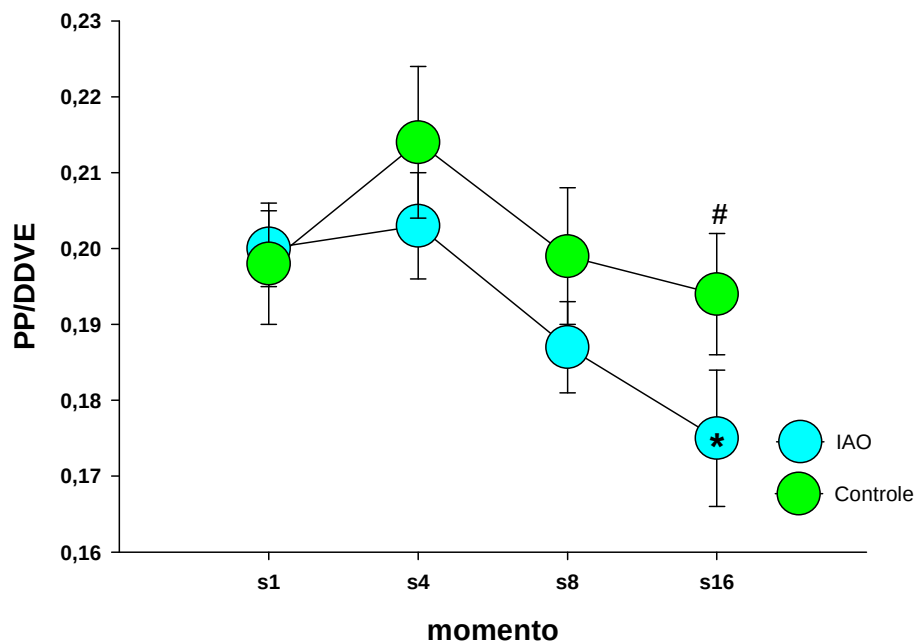
**Tabela 3.** Variáveis morfométricas cardíacas e de função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo, obtidos por meio de ecocardiografia seriada, nos animais do grupo Controle. São apresentadas as médias e seus respectivos desvios padrão.

| Variáveis(n=12) | 1 Semana  | 4 Semanas | 8 Semanas | 16 Semanas             |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|------------------------|
| FC (bpm)        | 304±34,0  | 312±38,0  | 311±47,0  | 294±57,0               |
| AE (mm)         | 4,01±0,58 | 3,85±0,67 | 4,12±0,78 | 4,46±0,62 <sup>b</sup> |
| DDVE (mm)       | 6,49±0,69 | 6,63±0,69 | 6,83±0,55 | 7,30±0,72              |
| DSVE (mm)       | 2,99±0,53 | 2,54±0,47 | 2,96±0,52 | 3,14±0,61 <sup>b</sup> |
| PP/DDVE         | 0,20±0,03 | 0,21±0,03 | 0,20±0,03 | 0,19±0,03              |
| AE/AO           | 1,25±0,17 | 1,17±0,21 | 1,18±0,22 | 1,22±0,20              |
| AAE/AAD         | 1,32±0,22 | 1,23±0,1  | 1,31±0,21 | 1,30±0,21              |
| I/L             | 0,58±0,11 | 0,57±0,07 | 0,59±0,09 | 0,58±0,05              |
| %E              | 0,54±0,04 | 0,62±0,05 | 0,57±0,05 | 0,57±0,06              |
| E (cm/s)        | 77,0±9,00 | 78,0±8,00 | 85,0±13,0 | 72,0±17,0              |
| A (cm/s)        | 56,0±12,0 | 55,0±12,0 | 66,0±16,0 | 56,0±19,0              |

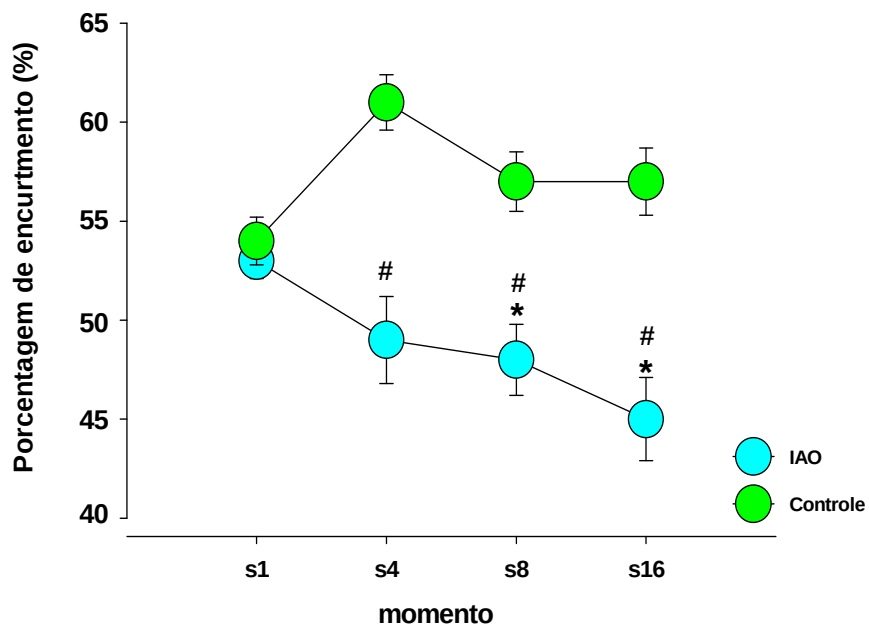
FC= frequência cardíaca; AE = diâmetro sistólico do átrio esquerdo; DDVE= diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE= diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; PP/DDVE= espessura relativa da parede posterior do VE; AE/AO= diâmetro sistólico do átrio esquerdo no modo M normalizado para o diâmetro diastólico da aorta; AAE/AAD = área do átrio esquerdo normalizada para área do átrio direito; I/L = índice de esfericidade do ventrículo esquerdo; %E= porcentagem de encurtamento do VE; E e A= velocidade das ondas de echimento E e A do fluxo transmitral. As letras “a” e “b” representam diferença significativa em relação à semana 1 e à semana 4, respectivamente. ANOVA de medidas repetidas (p<0,05).



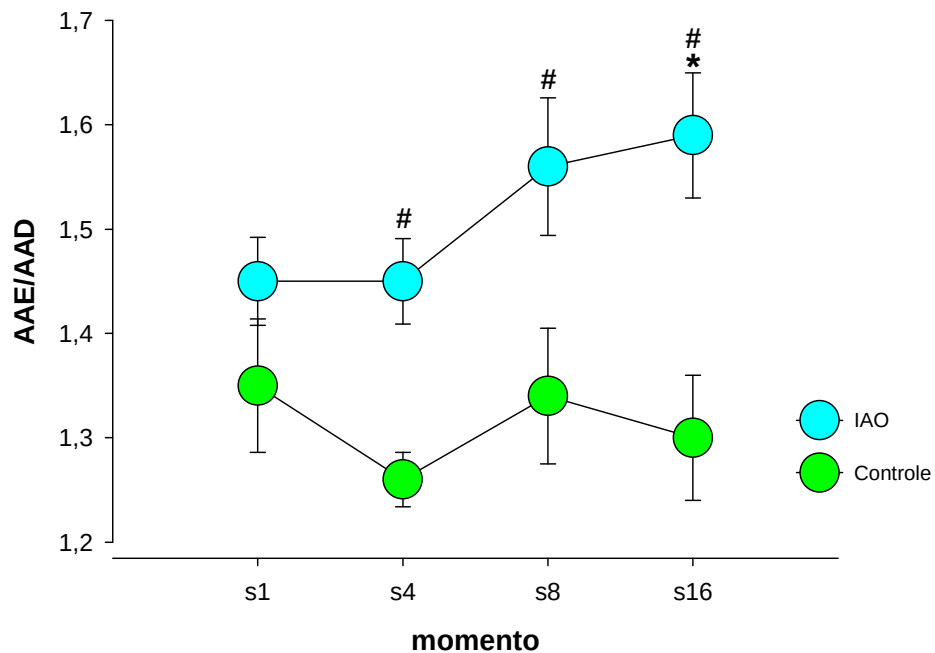
**Gráfico 1:** Evolução temporal do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE), nos dois grupos de estudo. s1, s4, s8 e s16: semanas 1, 4, 8 e 16, respectivamente. IAO: grupo Insuficiência Aórtica.\*:  $P < 0,05$  vs momento s1 (ANOVA para medidas repetidas) e #:  $P < 0,05$  vs Controle (teste t de Student). Houve Interação tempo\*IAO no sentido de aumentar o DDVE ( $P < 0,001$ , GEE), nos momentos s4, s8 e s16, em relação ao momento s1.



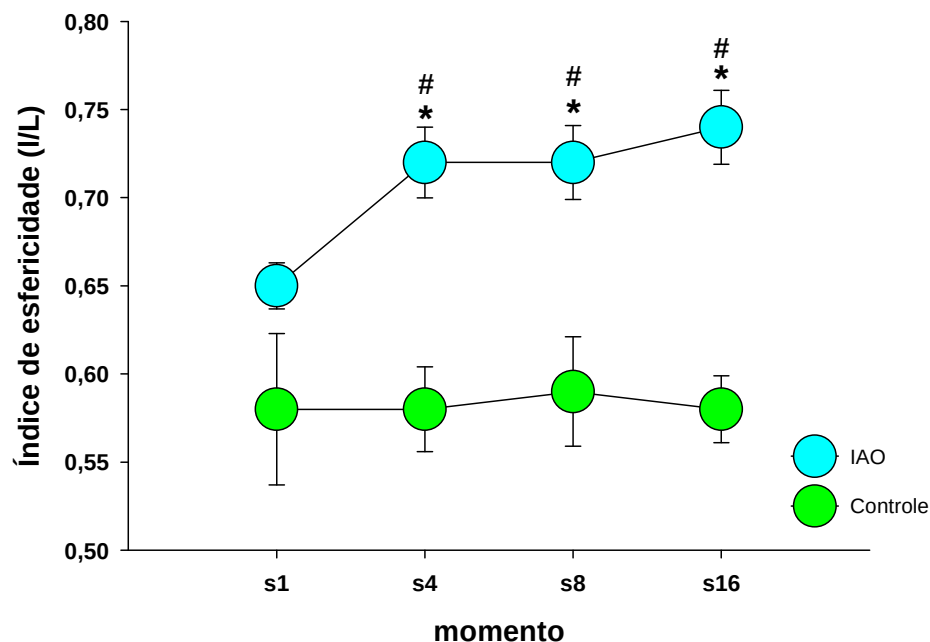
**Gráfico 2:** Evolução temporal da espessura relativa da parede ventricular nos dois grupos de estudo. s1, s4, s8 e s16: semanas 1, 4, 8 e 16, respectivamente. IAO: grupo Insuficiência Aórtica.\*:  $p = 0,009$  vs momento s1. (ANOVA para medidas repetidas) e #:  $p < 0,05$  vs grupo Controle (teste t de Student). Houve interação tempo\*IAO no sentido de reduzir a espessura relativa da parede ( $P = 0,0087$ , GEE).



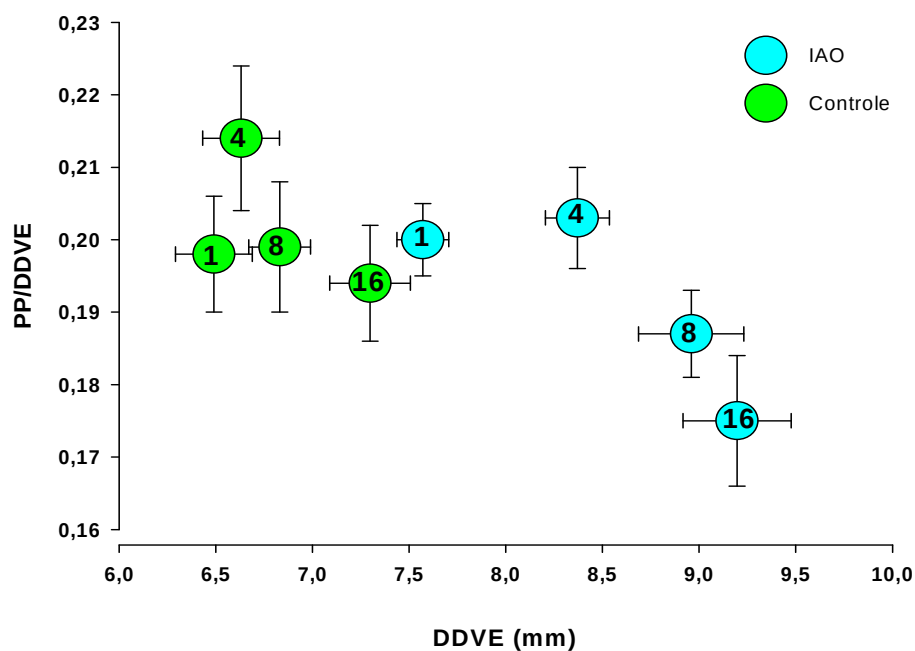
**Gráfico 3:** Evolução temporal da porcentagem de encurtamento do diâmetro ventricular, nos dois grupos de estudo. s1, s4, s8 e s16: semanas 1, 4, 8 e 16, respectivamente. IAO: grupo Insuficiência Aórtica.\*:  $P=0,005$  vs momento s1 (ANOVA para medidas repetidas) e #:  $P<0,05$  vs grupo Controle (test  $t$  de Student). Houve interação tempo\*IAO ( $P<0,001$ , GEE) nos momentos s4, s8 e s16, em relação ao momento s1.



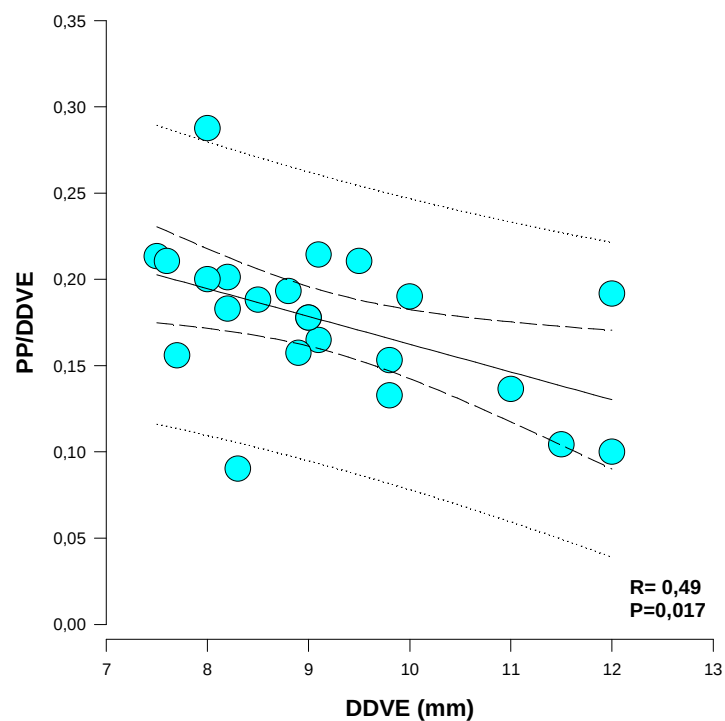
**Gráfico 4:** Evolução temporal da área normalizada do átrio esquerdo nos dois grupos de estudo. s1, s4, s8 e s16: semanas 1, 4, 8 e 16, respectivamente. IAO: grupo Insuficiência Aórtica.\*:  $P<0,05$  vs momento s1 (ANOVA para medidas repetidas) e #:  $P<0,05$  vs grupo Controle (test  $t$  de Student). Houve interação tempo\*IAO no sentido de aumentar a área do átrio esquerdo ( $P=0,001$ , GEE).



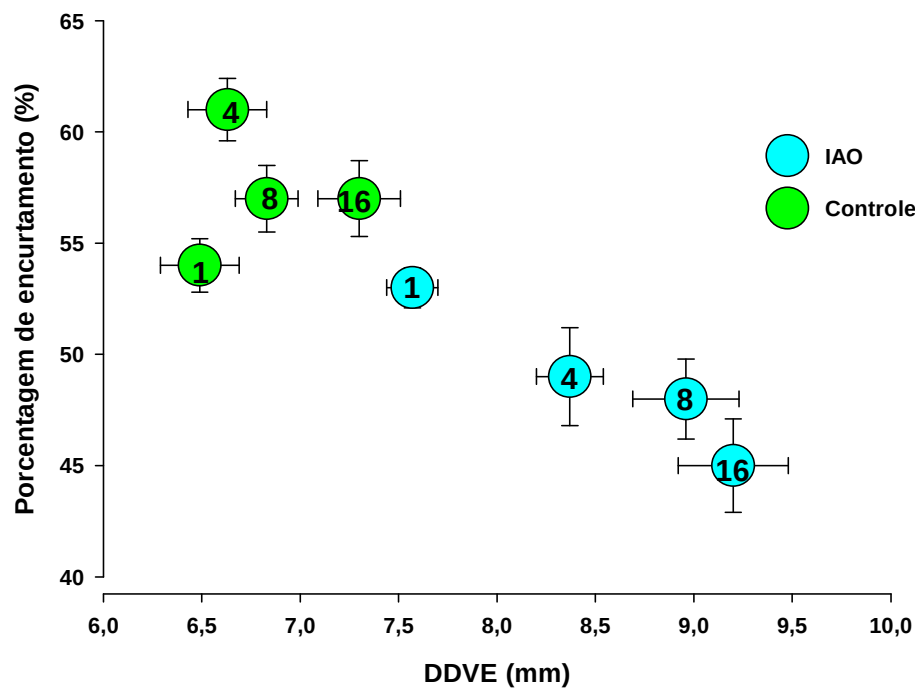
**Gráfico 5:** Evolução temporal do índice de esfericidade do ventrículo esquerdo nos dois grupos de estudo. s1, s4, s8 e s16: semanas 1, 4, 8 e 16, respectivamente. IAO: grupo Insuficiência Aórtica. \*:  $P < 0,001$  vs momento s1 (ANOVA para medidas repetidas) e #:  $P < 0,05$  vs grupo Controle (test t de Student). Houve interação tempo\*IAO no sentido de aumentar a esfericidade ( $P < 0,001$ , GEE).



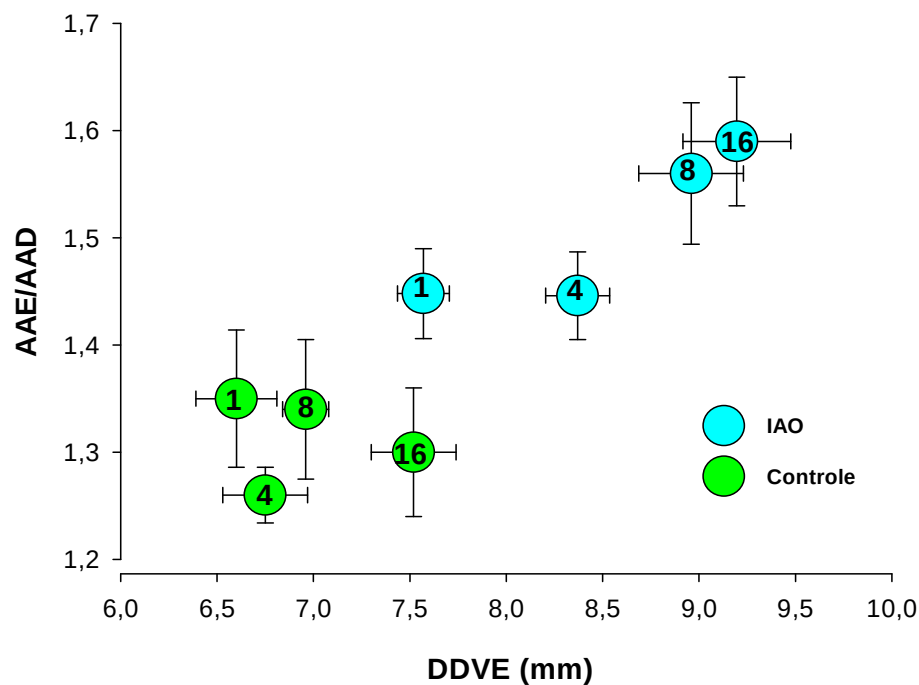
**Gráfico 6:** Associação entre espessura relativa da parede ventricular (PP/DDVE) e diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE,  $P < 0,001$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. A presença de IAO influenciou essa associação ( $P = 0,017$ ). Não houve interação tempo\* DDVE no sentido de reduzir a espessura relativa da parede.



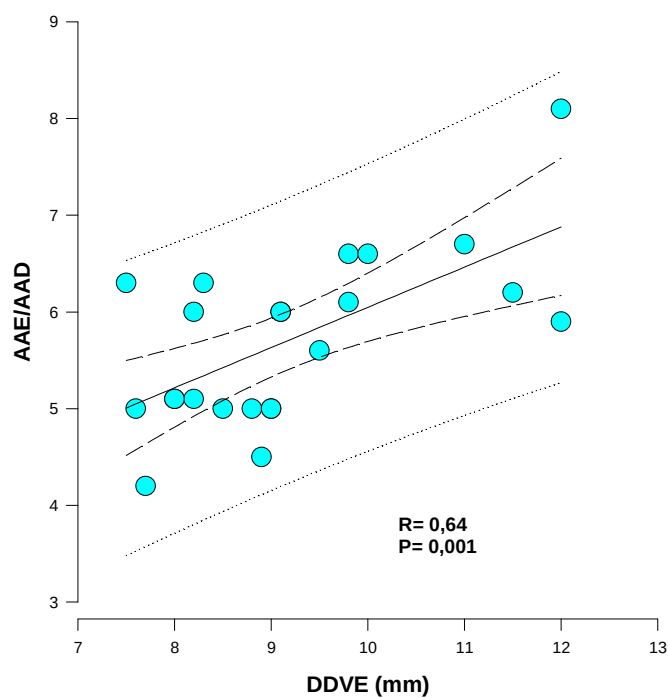
**Gráfico 7:** Associação inversa entre espessura relativa da parede ventricular (PP/DDVE) e diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE) nos animais do grupo Insuficiência Aórtica (IAO) na décima sexta semana do protocolo experimental (Regressão Linear Simples).



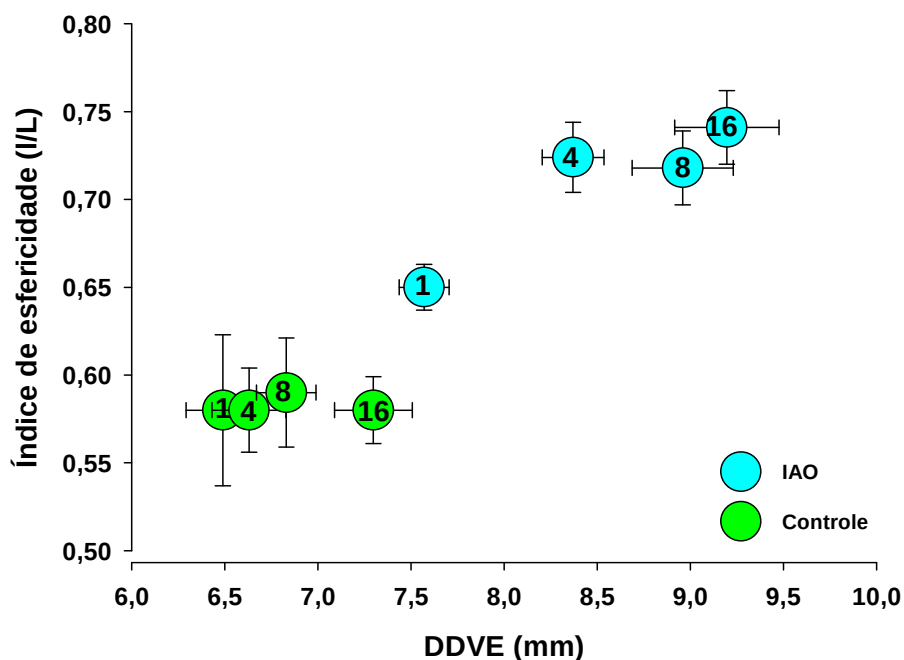
**Gráfico 8:** Associação inversa entre porcentagem de encurtamento do diâmetro ventricular e o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE,  $P < 0,001$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. A presença de insuficiência aórtica (IAO) não influenciou a associação ( $p = 0,875$ , GEE). Não houve interação tempo\*DDVE no sentido de reduzir o índice de função sistólica ( $P = 0,09$ , GEE).



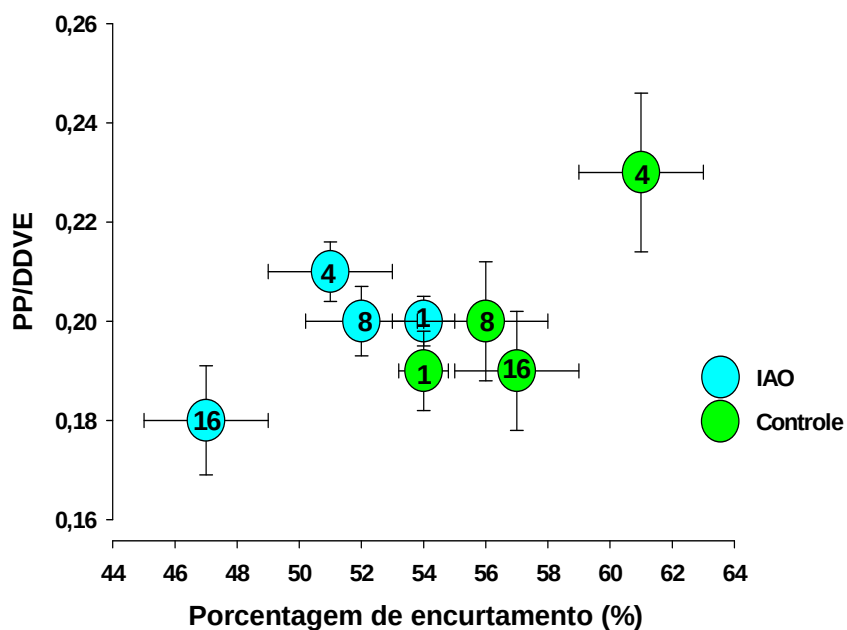
**Gráfico 9:** Associação entre área normalizada do átrio esquerdo (AAE/AAD) e diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE,  $P < 0,001$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. Houve interação tempo\*DDVE, no sentido de aumentar o átrio esquerdo ( $P = 0,0405$ , GEE).



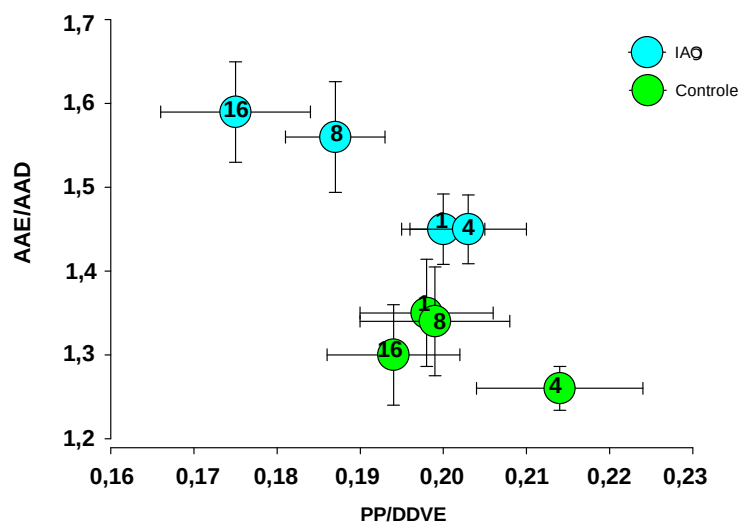
**Gráfico 10:** Associação positiva entre diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE) e a área normalizada do átrio esquerdo (AAE/AAD) nos animais do grupo insuficiência aórtica (IAO) na décima sexta semana do protocolo experimental (Regressão Linear Simples).



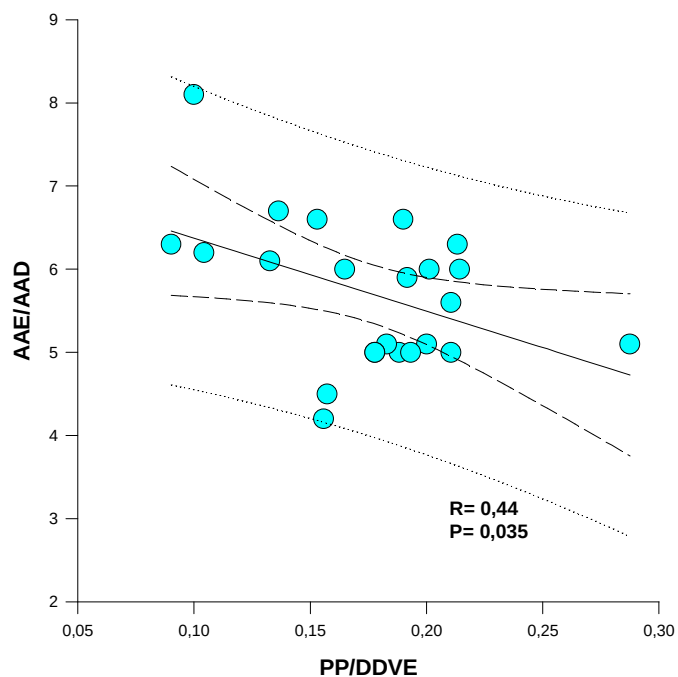
**Gráfico 11:** Associação entre o índice de esfericidade e o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo ( $P=0,073$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. A presença de insuficiência aórtica (IAO) influenciou a associação entre as variáveis ( $P<0,001$ , GEE). Houve interação tempo\*DDVE ( $P= 0,0006$ , GEE) no sentido de aumentar a esfericidade da câmara ventricular.



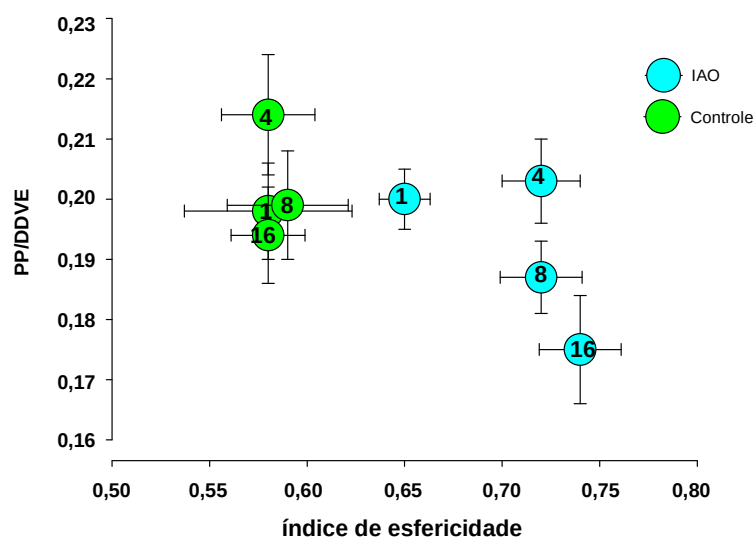
**Gráfico 12:** Associação entre espessura relativa da parede ventricular (PP/DDVE) e porcentagem de encurtamento do diâmetro ventricular (%E,  $P<0,001$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. A associação não foi influenciada pela presença de insuficiência aórtica (IAO,  $P=0,839$ , GEE). Não houve interação tempo\*PP/DDVE no sentido de modificar o índice de função sistólica ( $P=0,0878$ , GEE).



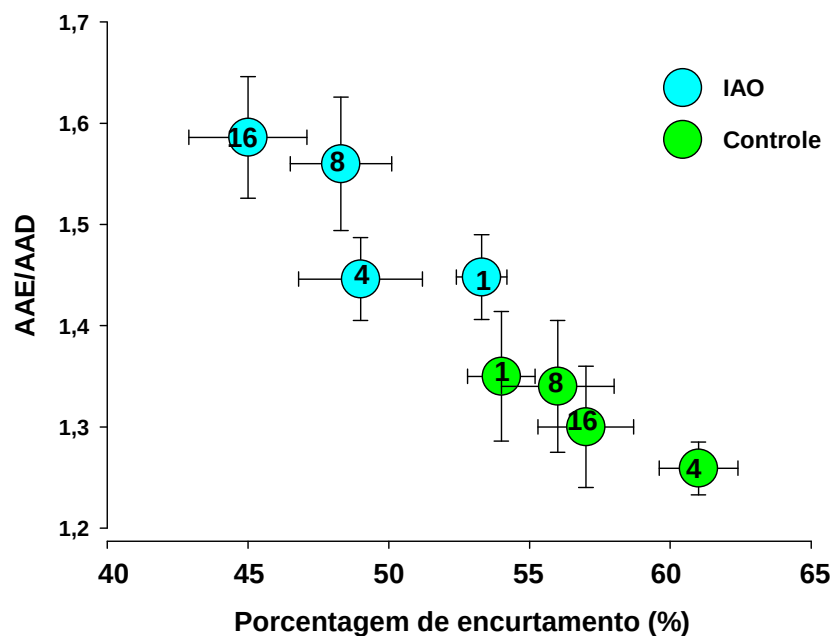
**Gráfico 13:** Associação entre área normalizada do átrio esquerdo (AAE/AAD) e espessura relativa da parede (PP/DDVE,  $P=0,09$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. A associação foi influenciada pela presença de insuficiência aórtica (IAO,  $P=0,001$ , GEE). Houve interação tempo\*PP/DDVE no sentido de aumentar a área do átrio esquerdo ( $P=0,008$ , GEE).



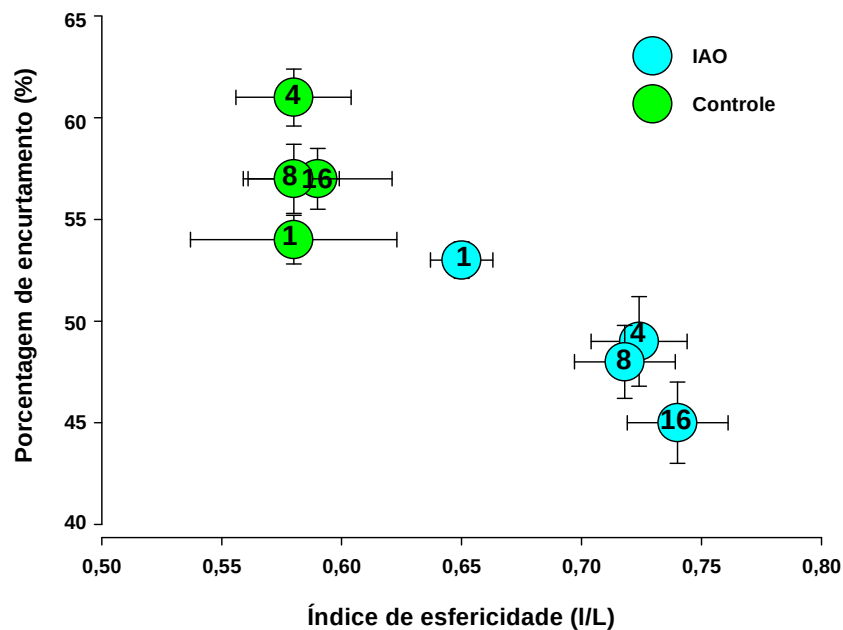
**Gráfico 14:** Associação entre espessura relativa da parede ventricular (PP/DDVE) e a área normalizada do átrio esquerdo (AAE/AAD) no grupo insuficiência aórtica (IAO) com 16 semanas de evolução (Regressão Linear Simples).



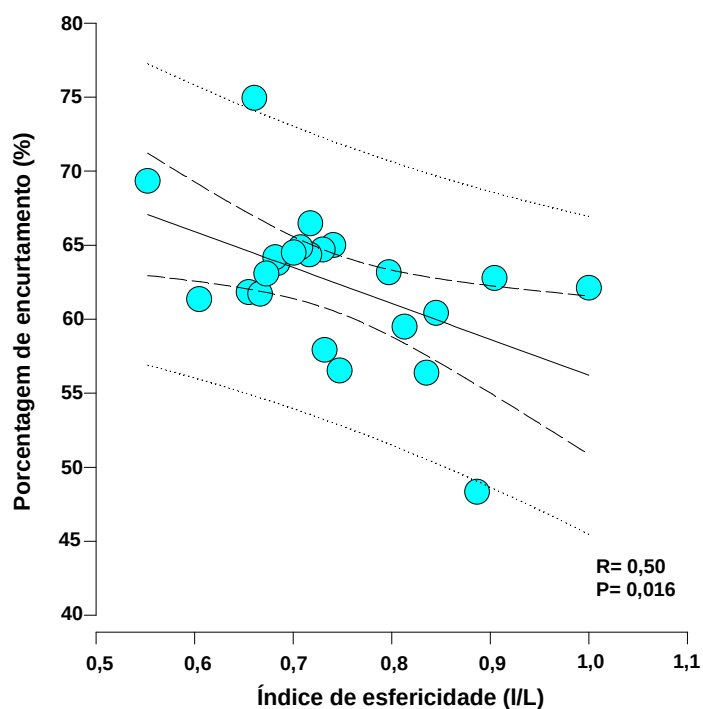
**Gráfico 15:** Associação entre espessura relativa da parede (PP/DDVE) e índice de esfericidade do ventrículo esquerdo ( $P=0,369$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. Não houve influência da presença de insuficiência aórtica (IAO,  $P=0,707$ , GEE). Não houve interação tempo\*esfericidade no sentido de modificar a espessura relativa da parede.



**Gráfico 16:** Associação inversa entre a área normalizada do átrio esquerdo (AAE/AAD) e porcentagem de encurtamento do diâmetro ventricular ( $P=0,006$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. A presença de insuficiência aórtica (IAO) influenciou a associação ( $P=0,011$ , GEE). O tempo influenciou a associação ( $P=0,036$ , GEE). Houve interação tempo\*porcentagem de encurtamento, no sentido de aumentar o átrio esquerdo ( $0,048$ , GEE).



**Gráfico 17:** Associação entre porcentagem de encurtamento do diâmetro ventricular e índice de esfericidade do ventrículo esquerdo ( $P=0,287$ , GEE), considerando os dois grupos experimentais, em todos os momentos. Houve interação do tempo\*esfericidade ( $P<0,001$ , GEE) no sentido de reduzir a porcentagem de encurtamento. A presença de insuficiência aórtica (IAO) influenciou essa interação ( $P<0,001$ , GEE).



**Gráfico 18:** Associação entre índice de esfericidade e porcentagem de encurtamento do ventrículo esquerdo, no grupo insuficiência aórtica (IAO) com 16 semanas de evolução (Regressão Linear Simples).

**Tabela 4.** Modelo de Regressão Linear Múltipla, incluindo variáveis morfométricas obtidas na semana 4, para prever %E na semana 16

| % E -<br>Semana 16      | Dados Morfométricos – Semana 4 |               |                |                |
|-------------------------|--------------------------------|---------------|----------------|----------------|
|                         | DDVE                           | PP/DDVE       | I/L            | AAE/AAD        |
| <b>Coeficiente (SE)</b> | - 0,061 (0,025)                | 0,033 (0,561) | -0,219 (0,192) | -0,147 (0,090) |
| <b>P</b>                | 0,026                          | 0,954         | 0,270          | 0,120          |

R<sup>2</sup> ajustado =0,35. DDVE= diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; PP/DDVE= espessura relativa da parede posterior do VE; AAE/AAD = área do átrio esquerdo normalizada para área do átrio direito; I/L = índice de esfericidade do ventrículo esquerdo; %E= Porcentagem de encurtamento do VE.

**Tabela 5.** Modelo de Regressão Linear Múltipla, incluindo variáveis morfométricas obtidas na semana 8, para prever %E na semana 16

| % E -<br>Semana 16      | Dados Morfométricos – Semana 8 |               |                |                |
|-------------------------|--------------------------------|---------------|----------------|----------------|
|                         | DDVE                           | PP/DDVE       | I/L            | AAE/AAD        |
| <b>Coeficiente (SE)</b> | - 0,014 (0,017)                | 0,814 (0,561) | -0,332 (0,141) | -0,147 (0,063) |
| <b>P</b>                | 0,428                          | 0,164         | 0,031          | 0,032          |

R<sup>2</sup> ajustado=0,52. DDVE= diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; PP/DDVE= espessura relativa da parede posterior do VE; AAE/AAD = área do átrio esquerdo normalizada para área do átrio direito; I/L = índice de esfericidade do ventrículo esquerdo; %E= Porcentagem de encurtamento do VE.

## **5. DISCUSSÃO**

A remodelação tipo excêntrica, da qual faz parte o modelo de insuficiência aórtica experimental, é um tema muito menos estudado do que a hipertrofia tipo concêntrica. Ainda não são conhecidos todos os marcadores de transição de hipertrofia excêntrica compensada para descompensada e nem seu real valor prognóstico na evolução dessa condição. Dessa forma, ainda há controvérsia na literatura a respeito do momento ideal da cirurgia de substituição valvar aórtica. Nas diretrizes atuais<sup>(17)</sup>, o diâmetro diastólico (superior a 75mm) e sistólico (superior a 55mm) do VE, a fração de ejeção e a presença de sintomas clínicos são os principais determinantes para a intervenção cirúrgica. No entanto, há discussão na literatura<sup>(31)</sup> sobre quais marcadores morfométricos seriam preditores de disfunção ventricular mais acentuada. Também é motivo de debate se a troca valvar realizada mais precocemente, isto é, na fase de transição, entre hipertrofia compensada e descompensada, pode propiciar melhor prognóstico para o paciente<sup>(25-29)</sup>. Por esse motivo, o objetivo do nosso estudo foi identificar outras variáveis ecocardiográficas que pudessem auxiliar na detecção mais precoce desse período de transição e colocar mais uma vez em pauta a discussão sobre o momento ideal da terapia de substituição valvar aórtica.

Em nossa análise, como já esperado, a presença de insuficiência aórtica influenciou o crescimento do DDVE. A análise comparativa entre os momentos mostrou que o incremento do DDVE observado entre os momentos S8 e S16 foi menor do que o ocorrido entre os momentos S4 e S8. Isso sugere que o ventrículo atingiu o limiar de crescimento entre os momentos S8 e S16, após a indução de IAO. Esse efeito não ocorreu com o grupo controle.

A análise das curvas de evolução da PP/DDVE, AAE/AAD, %E e I/L permitiu observar que a adaptação crônica à sobrecarga de volume envolve hipertrofia excêntrica compensada, isto é, sem redução da espessura relativa da parede. Na fase de transição para hipertrofia descompensada, tanto a redução do PP/DDVE e da %E, quanto o aumento da AAE/AAD parecem ocorrer no momento S16. No entanto, tendo em vista o perfil ascendente da curva de evolução da AAE/AAD já no momento S8 no grupo IAO, podemos sugerir que, de fato, o aumento da pressão diastólica final do VE, sugerida pelo crescimento da câmara

atrial, ocorre mais precocemente do que o afinamento da parede e a disfunção sistólica, os quais já indicariam hipertrofia descompensada. A análise da evolução temporal da %E no grupo IAO corrobora com essa condição. Observou-se redução discreta e progressiva da %E até S4, com manutenção dos seus valores até S8. Na 16ª semana houve declínio significativo, sugerindo que, embora o momento de transição entre hipertrofia compensada e descompensada tenha ocorrido no momento S8, a deterioração da função sistólica ocorreu no momento S16. Esse resultado sugere que a disfunção diastólica pode ser detectada mais precocemente que a disfunção sistólica nesse modelo experimental. Esse resultado deve ser interpretado com cautela, tendo em vista as limitações do índice de ejeção para avaliar função sistólica. Isto é, a presença de %E preservada não excluiria prejuízo da função sistólica miocárdica. Curiosamente, a disfunção ventricular não foi acompanhada de sinais de congestão venosa, segundo a avaliação efetuada no final do protocolo experimental, por meio da determinação do peso úmido do pulmão.

Outro aspecto surpreendente foi o comportamento da curva de evolução do índice de esfericidade. Nos animais do grupo Controle, a geometria do VE não se alterou. Já na presença de IAO, a geometria ventricular mudou precocemente, sendo identificada no momento S4. Após esse período, o crescimento adicional desse índice foi pequeno. Portanto, pode-se afirmar que a mudança da geometria é a alteração anatômica mais precoce nesse modelo. Os fatores envolvidos nesse processo não podem ser identificados no presente estudo, mas alguma argumentação pode ser elaborada. Após a agressão aguda, a sobrecarga de volume promove aumento da pré-carga. Essa alteração mecânica desencadeia modificações bioquímicas celulares que interferem com o metabolismo do arcabouço conjuntivo de sustentação do miocárdio. Esse arcabouço é composto por vários elementos e proteínas, sendo a mais importante o colágeno. Essa proteína apresenta estrutura e características físicas que lhe conferem alta rigidez, permitindo a manutenção da geometria da câmara ventricular, apesar da larga variação de pressão e de volume durante o ciclo cardíaco<sup>(46)</sup>. Diante da sobrecarga aguda, há imediata ativação da enzima collagenase capaz de degradar a matriz intersticial do colágeno em pontos

específicos de maior tensão. Essa reação permite o rearranjo de feixes musculares na espessura da parede miocárdica e funciona como mecanismo de adaptação do ventrículo<sup>(47,48)</sup>. Dessa forma, o excesso de volume pode ser contido, sem elevação excessiva da pressão diastólica, até que a hipertrofia excêntrica se desenvolva. Ocorre que esse mecanismo propicia a uniformização da distribuição da tensão de parede em todas as direções. Como consequência, ocorre mudança da geometria do ventrículo para um padrão mais esférico, o qual é referido como associado à perda de função sistólica<sup>(49,50)</sup>. A observação de que essa mudança é precoce e estável sugere que se trata de um mecanismo que se esgota precocemente. No entanto, parece que esse processo preveniu, em parte, o aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo, tendo em vista o crescimento modesto do átrio esquerdo até S4.

As análises também evidenciaram que a dilatação do VE, com aumento do diâmetro e redução da espessura relativa da parede, foi associada com prejuízo da %E. Essa associação caracteriza a hipertrofia descompensada. No entanto, no presente estudo, a redução mais acentuada do índice de ejeção no final do protocolo não se acompanhou de aumento proporcional do DDVE, sugerindo que existem outras variáveis interferindo para o prejuízo da função sistólica. Dessa forma, o acompanhamento da gravidade da IAO tendo em vista apenas o DDVE e a função sistólica não parecem apropriados. Outros índices podem ser úteis, como a AAE/AAD e I/L. A associação significativa entre aumento da AAE/AAD e do DDVE reforça essa afirmação. No grupo Controle, a variação do DDVE e da AAE/AAD foi bem estreita e não significativa. Ao contrário, no grupo IAO, o crescimento anormal do DDVE se acompanhou do crescimento da AAE/AAD, principalmente no momento S16. Seria razoável sugerir que provavelmente o aumento ventricular deveu-se à sobrecarga de volume, e que o crescimento atrial foi secundário ao aumento da pressão diastólica na câmara ventricular, no final do período experimental, ainda precedendo o fenômeno de congestão pulmonar.

O mesmo raciocínio poderia explicar o comportamento das dimensões das câmaras entre os momentos S1 e S4, quando houve crescimento do DDVE e manutenção da AAE/AAD. Isto é, o aumento do DDVE teria ocorrido

devido ao excesso de volume, enquanto a manutenção da pressão de enchimento ventricular propiciaria a preservação do tamanho do átrio esquerdo. Portanto, é possível sugerir que nesse modelo experimental, a adaptação inicial à sobrecarga de volume ocorre sem disfunção diastólica.

A ausência de associação entre I/L e DDVE permitiu concluir que a esfericidade do VE é fenômeno precoce e que se altera mais lentamente após S4, período em que o DDVE cresce progressivamente. A observação de que a interação entre tempo e DDVE para aumentar o I/L ocorre preferencialmente no momento S4 e S16, mas não no momento S8, foi interessante. A quarta semana foi o momento de maior crescimento da esfericidade, considerando-se todo período experimental. Uma possível explicação para esse comportamento seria que na fase inicial de hipertrofia em desenvolvimento, ainda não haveria compensação da sobrecarga. O momento compreendido entre S4 e S8 pode ser considerado um período de estabilidade, de hipertrofia compensada, uma vez que houve manutenção da %E e da geometria, apesar do crescimento do DDVE. Na avaliação com 16 semanas, houve redução expressiva da %E e da PP/DDVE. Além disso, nesse momento, a esfericidade e o DDVE voltaram a se correlacionar, indicando que os ventrículos maiores eram também mais esféricos. Assim, nesse momento, reforçando o já exposto, é bem provável que a hipertrofia já se encontrava em fase descompensada. A ausência de associação entre PP/DDVE e I/L foi também surpreendente, pois mostrou que a mudança de geometria do ventrículo é mais precoce e independente da redução da espessura de parede. A literatura registra informações de que essa variação de geometria ocorre pela quebra de traves de colágenos que unem feixes musculares presentes na parede ventricular<sup>(49,50)</sup>. No presente estudo, se esse foi o mecanismo subjacente, ele ocorreu sem impacto na espessura de parede, medida na porção equatorial do ventrículo pelo ecocardiograma. E ainda, que a dilatação ventricular e hipertrofia excêntrica descompensada ocorrem tardiamente, quando provavelmente, alterações mais graves do miocárdio já se instalaram. Nesse momento da evolução, o aumento de massa miocárdica não foi relacionado com crescimento da área seccional transversa do miócito, compondo o quadro típico de hipertrofia excêntrica<sup>(1,2,8)</sup>. Ainda que se considerem o caráter agudo da agressão, o fato de se

tratar de modelo experimental e a dificuldade de se extrapolar esses dados para a clínica, os resultados do presente estudo sugerem a necessidade de ensaios clínicos para avaliar a utilidade do índice de esfericidade na estratificação de risco de pacientes com IAO, juntamente com os outros índices mais utilizados.

Associação positiva encontrada entre redução da PP/DDVE e %E tem conotação predominantemente mecânica. Isto é, o ventrículo de parede mais grossa, independentemente da sobrecarga, é capaz de ejetar melhor. Conforme ocorre hipertrofia excêntrica descompensada, com o aumento do DDVE e maior afinamento da parede, há prejuízo da função sistólica<sup>(3,4)</sup>.

A interação entre tempo e PP/DDVE, no sentido de prever o aumento do átrio esquerdo ocorreu predominantemente na semana 16, sugerindo a coexistência de disfunção diastólica e hipertrofia descompensada. Essa afirmativa foi corroborada com a associação negativa encontrada entre %E e área normalizada do átrio esquerdo. Foi observada redução da %E no momento S4, sem aumento adicional da AAE/AAD. No entanto, a partir de S4, observou-se crescimento da AAE/AAD e manutenção da %E até S16, quando há prejuízo da função sistólica e manutenção da dimensão atrial. Portanto, a disfunção diastólica presente no momento S4 não deve ser um fenômeno dependente apenas da redução da complacência do VE, secundária à disfunção ventricular. Pode haver também componente de disfunção intrínseca do miocárdio, com prejuízo do relaxamento e da rigidez passiva do músculo. A manutenção da alteração hemodinâmica deve contribuir para maior remodelação, com aumento da hipertrofia e maior agravamento da disfunção diastólica (momento S8), antes do prejuízo do final da sístole (S16).

Interessante também foi a análise de regressão linear múltipla (Tabelas 4 e 5), indicando que o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo realmente é preditor de disfunção ventricular, mas apenas em uma fase mais precoce (S4). Uma explicação para isso é que, como dito anteriormente, o crescimento do DDVE nas semanas subsequentes não foi tão expressivo e, portanto, não se correlacionou com queda da %E numa fase mais tardia. A dimensão do átrio esquerdo e o índice de esfericidade na semana 8 foram preditores independentes de disfunção ventricular no final do período

experimental. Tal informação corrobora com a hipótese de que o índice de esfericidade pode ser um marcador ecocardiográfico útil de hipertrofia descompensada, precedendo a disfunção ventricular sistólica.

Finalmente, é preciso salientar que todos os aspectos relativos à disfunção ventricular observados *in vivo* não foram associados a sinais de congestão pulmonar ou sistêmica avaliadas *in vitro*, no momento S16. Esse resultado é interessante, na medida em que oferece suporte para a afirmativa de que a insuficiência cardíaca clinicamente manifesta é um fenômeno tardio, nesse modelo experimental.

Além disso, as alterações funcionais ocorreram na ausência de fibrose miocárdica significativa, colaborando com estudos da literatura a respeito de modelos de sobrecarga de volume<sup>(38,40,41)</sup>. Esse resultado indica que a remodelação miocárdica e a consequente disfunção ventricular, na insuficiência aórtica, apresentam um forte componente miocítico. Diferente da hipertrofia concêntrica secundária à sobrecarga de pressão, onde o acúmulo anormal de colágeno intersticial parece ter impacto mais relevante na função ventricular<sup>(51)</sup>. Por outro lado, a resposta individual heterogênea quanto ao acúmulo de colágeno, permitiu identificar que dois animais com mais fibrose apresentaram maior comprometimento da função sistólica.

## **6. CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que na IAO:

1. A adaptação cardíaca à sobrecarga aguda de volume, ao longo de 16 semanas, ocorre com dilatação das câmaras esquerdas e hipertrofia excêntrica. A disfunção sistólica é um fenômeno tardio.
2. O índice de esfericidade do ventrículo esquerdo é um marcador precoce de disfunção sistólica dessa câmara.
3. O aumento da área normalizada do átrio esquerdo precede ou coexiste com a disfunção sistólica do VE, podendo ser considerado como um marcador de transição entre hipertrofia compensada e descompensada.
4. O prejuízo da função ventricular ocorre na ausência de fenômenos congestivos e mesmo na ausência de fibrose miocárdica.
5. Quando presente, a fibrose miocárdica parece acentuar a disfunção sistólica.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1) Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 1999; 79: 215-62.
- 2) Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac Remodeling - Concepts and clinical implications: A consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *JACC* 2000; 35: 569-82.
- 3) Hein S, Amon E, Kostin S, et al. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart. Structural deterioration and compensatory mechanisms. *Circulation* 2003; 107: 984-91.
- 4) Gunther S, Grossman W. Determinants of ventricular function in pressure-overload hypertrophy in man. *Circulation* 1979; 59: 679-88.
- 5) Ricci DR. Afterload mismatch and preload reserve in chronic aortic regurgitation. *Circulation* 1982; 66: 826-34.
- 6) Nitenberg A, Foulst JM, Antony I, et al. Coronary flow and resistance reserve in patients with chronic aortic regurgitation, angina pectoris and normal coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11: 478-86.
- 7) Katayama K, Tajimi T, Guth BD, et al. Early diastolic filling dynamics during experimental mitral regurgitation in the conscious dog. *Circulation* 1988; 78: 390-400.
- 8) Wang X, Ren B, Liu S, et al. Characterization of cardiac hypertrophy and heart failure due to volume overload in the rat. *J Appl Physiol* 2003; 94: 752-63.
- 9) Plante E, Couet J, Gaudreau M, et al. Left ventricular response to sustained volume overload from chronic aortic valve regurgitation in rats. *J Card Fail* 2003; 9: 128-40.
- 10) Wisenbaugh T, Spann JF, Carabello BA. Differences in myocardial performance and load between patients with similar amounts of chronic aortic versus chronic mitral regurgitation. *J Am Coll Cardiol* 1984; 3: 916 - 23.

- 11) Carabello BA. Aortic regurgitation: a lesion with similarities to both aortic stenosis and mitral regurgitation. *Circulation* 1990; 82: 1051-3.
- 12) Gaasch WH, Andrias CW, Levine HJ. Chronic aortic regurgitation: the effect of aortic valve replacement on left ventricular volume, mass and function. *Circulation* 1978; 58: 825-36.
- 13) Schwarz F, Flameng W, Langebartels F, et al. Impaired left ventricular function in chronic aortic valve disease: survival and function after replacement by Bjork-Shiley prosthesis. *Circulation* 1979; 60: 48-58.
- 14) Carroll JD, Gaasch WH, Zile MR, et al. Serial changes in left ventricular function after correction of chronic aortic regurgitation: dependence on early changes in preload and subsequent regression of hypertrophy. *Am J Cardiol* 1983; 51: 476-82.
- 15) Bonow RO, Rosing DR, Maron BJ, et al. Reversal of left ventricular dysfunction after aortic valve replacement for chronic aortic regurgitation: influence of duration of preoperative left ventricular dysfunction. *Circulation* 1984; 70: 570-9.
- 16) Fioretti P, Roelandt J, Sclavo M, et al. Postoperative regression of left ventricular dimensions in aortic insufficiency: a long-term echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 1985; 5: 856-61.
- 17) Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, et al. ACC/AHA 2006 Guidelines for the management of patients with valvular heart disease. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease). *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1-148.
- 18) Vahanian A, Baumgartner H, Bax J, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease. The Task Force on the management of valvular heart disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007; 28: 230-68.

- 19) Carabello BA, Usher BW, Hendrix GH, et al. Predictors of outcome for aortic valve replacement in patients with aortic regurgitation and left ventricular dysfunction: a change in the measuring stick. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10: 991-7.
- 20) Taniguchi K, Nakano S, Hirose H, et al. Preoperative left ventricular function: minimal requirement for successful late results of valve replacement for aortic regurgitation. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10: 510-8.
- 21) Bonow RO, Dodd JT, Maron BJ, et al. Long-term serial changes in left ventricular function and reversal of ventricular dilatation after valve replacement for chronic aortic regurgitation. *Circulation* 1988; 78: 1108 - 20.
- 22) Borer JS, Herrold EM, Hochreiter C, et al. Natural history of left ventricular performance at rest and during exercise after aortic valve replacement for aortic regurgitation. *Circulation* 1991; 84: 133-9.
- 23) Herremans F, Ameer A, de Vernejoul F, et al. Pre and postoperative hemodynamic and cineangiographic assessment of left ventricular function in patients with aortic regurgitation. *Am Heart J* 1979; 98: 63-72.
- 24) Cunha CL, Giuliani ER, Fuster V, et al. Preoperative M-mode echocardiography as a predictor of surgical results in chronic aortic insufficiency. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980; 79: 256-65.
- 25) Forman R, Firth BG, Barnard MS. Prognostic significance of preoperative left ventricular ejection fraction and valve lesion in patients with aortic valve replacement. *Am J Cardiol* 1980; 45: 1120-5.
- 26) Greves J, Rahimtoola SH, McAnulty JH, et al. Preoperative criteria predictive of late survival following valve replacement for severe aortic regurgitation. *Am Heart J* 1981; 101: 300-8.
- 27) Gaasch WH, Carroll JD, Levine HJ, Criscitiello MG. Chronic aortic regurgitation: prognostic value of left ventricular end-systolic dimension and end-diastolic radius/thickness ratio. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1: 775-82.

- 28) Bonow RO, Picone AL, McIntosh CL, et al. Survival and functional results after valve replacement for aortic regurgitation from 1976 to 1983: impact of preoperative left ventricular function. *Circulation* 1985; 72: 1244-56.
- 29) Carabello BA, Williams H, Gash AK, et al. Hemodynamic predictors of outcome in patients undergoing valve replacement. *Circulation* 1986; 74: 1309-16.
- 30) Michel PL, Iung B, Abou JS, et al. The effect of left ventricular systolic function on long term survival in mitral and aortic regurgitation. *J Heart Valve Dis* 1995; 2: S160-8.
- 31) Tornos P, Sambola A, Permanyer-Miralda G, et al. Long-term outcome of surgically treated aortic regurgitation: influence of guideline adherence toward early surgery. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 1012-7.
- 32) Pritchett AM, Mahoney DW, Jacobsen SJ, et al. Diastolic dysfunction and left atrial volume. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 87-92.
- 33) Lester SJ, Tajik J, Nishimura RA, et al. Unlocking the mysteries of diastolic function. *J. Am. Coll. Cardiol* 2008; 51: 679-89
- 34) Matsubara LS, Narikawa S, Ferreira ALA, et al. Remodelação miocárdica na sobrecarga crônica de pressão ou de volume no coração de ratos. *Arq Bras Cardiol* 2006; 86: 126-30.
- 35) Liu Z, Hilbelink DR, Crockett WB, et al. Regional changes in hemodynamics and cardiac myocyte size in rats with aortocaval fistulas.1. Developing and established hypertrophy. *Circ Res* 1991; 69: 52-8.
- 36) Huang M, LeBlanc MH, Hester RL. Evaluation of the needle technique for producing an arteriovenous fistula. *J Appl Physiol* 1994; 77: 2907-29.
- 37) Brower GL, Janicki JS. Contribution of ventricular remodeling to pathogenesis of heart failure in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H674-83.

- 38) Stefano LM, Matsubara LS, Matsubara, BB. Myocardial dysfunction with increased ventricular compliance in volume overload hypertrophy. *Eur J Heart Fail* 2006; 8: 784-89.
- 39) Guido MC, Koike MK, Frimm CC. Low coronary perfusion pressure is associated with endocardial fibrosis in a rat model of volume overload cardiac hypertrophy. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo* 2004; 59: 228-35.
- 40) Namba T, Tsutsui H, Tagawa H, et al. Regulation of fibrillar collagen gene expression, and protein accumulation in volume-overloaded cardiac hypertrophy. *Circulation* 1997; 95: 2448-54.
- 41) Weber KT, Pick R, Silver MA, et al. Fibrillar collagen and remodeling of dilated canine left ventricle. *Circulation* 1990; 82: 1387-401.
- 42) Plante E, Lachance D, Champetier S, et al. Benefits of long-term beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H1888-95.
- 43) Murakami K, Mizushige K, Noma T, et al. Perindopril Effect on Uncoupling Protein and Energy Metabolism in Failing Rat Hearts. *Hypertension* 2002; 40: 251-5.
- 44) Liu SK, Magid NR, Fox PR, et al. Fibrosis, myocyte degeneration and heart failure in chronic experimental aortic regurgitation. *Cardiology* 1998; 90: 101-9.
- 45) Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's guidelines and standards committee and the chamber quantification writing group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18: 1440-63.

- 46) Ross JJ. Adaptations of the left ventricle to chronic volume overload. *Cir Res* 1974; 35: S64-70.
- 47) Caulfield JB, Norton P, Weaver RD. Cardiac dilatation associated with collagen alterations. *Mol Cell Biochem* 1992; 118: 171-9.
- 48) Factor SM, Flomenbaum M, Zhao MJ, et al. The effects of acutely increased ventricular cavity pressure on intrinsic myocardial connective tissue. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12: 1582-9.
- 49) Ross JJ, Sonnenblick EH, Taylor RR, et al. Diastolic geometry and sarcomere lengths in the chronically dilated canine left ventricle. *Circ Res* 1971; 28: 49-61.
- 50) Spotnitz HM, Spotnitz WD, Cottrell TS, et al. Cellular basis for volume related wall thickness changes in the rat left ventricle. *J Moll Cell Cardiol* 1974; 6: 317-31.
- 51) Toischer K, Rokita AG, Unsöld B, et al. Differential cardiac remodeling in preload versus afterload. *Circ* 2010; 122: 993-1003.