



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA**



**TOLERÂNCIA AO ESFORÇO FÍSICO E FUNÇÃO CARDÍACA
EM DIFERENTES PERÍODOS PÓS-INDUÇÃO DE
ESTENOSE AÓRTICA EM RATOS**

OLGA DE CASTRO MENDES

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Cicogna
Co-orientador: Prof. Dr. Katashi Okoshi

**BOTUCATU/SP
2008**

OLGA DE CASTRO MENDES

**TOLERÂNCIA AO ESFORÇO FÍSICO E FUNÇÃO CARDÍACA
EM DIFERENTES PERÍODOS PÓS-INDUÇÃO DE
ESTENOSE AÓRTICA EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em “Fisiopatologia em Clínica Médica” da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Cicogna

Co-Orientador: Prof. Dr. Katashi Okoshi

**BOTUCATU/SP
2008**

DEDICATÓRIA

Aos meus pais (*in memoriam*), primeiros a lançarem as sementes do respeito e educação.

Ao meu marido Kufa, pelo amor, cumplicidade e respeito em todos os momentos da vida.

Ao meu filho Yuri, presente maior de Deus e minha razão de viver.

A vocês dedico este trabalho, pedindo desculpas pela ausência.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, pela dádiva da vida. Que onde quer que eu esteja, sinta Teu amor a me guiar.

A Jesus, Mestre dos Mestres, pelos ensinamentos que norteiam meus caminhos.

...Permita, Pai, que eu possa realizar as tarefas pretendidas e que, dentro das minhas possibilidades, esteja o meu crescimento como criatura infinita.

Ampara-me, Pai, em minhas dificuldades.

Lança-me a âncora da esperança para que eu possa querer continuar e buscar o meu fortalecimento íntimo na luta presente.

Que meus passos cumpram, exatamente o percurso pedido por mim e em cada momento de minha caminhada eu jamais esqueça que estás a me amparar e proteger.

Emmanuel
Psicografia de Francisco Cândido Xavier

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Cicogna, meu orientador, por acreditar que eu seria capaz, apesar de todo choro. Obrigada pela acolhida, pelos primeiros passos em fisiopatologia, pelas horas de estresse, pelas lições de vida e por me mostrar a importância da dedicação àquilo que almejamos. Admiro sua maneira de ser. Quando crescer quero ser igualzinha.

Ao Prof. Dr. Katashi Okoshi, pela co-orientação, pela realização da avaliação ecocardiográfica, pelos ensinamentos e principalmente pela calma e serenidade, exemplo muito importante em uma fase tão conturbada. “A felicidade é uma borboleta que, quando você persegue, sempre está mais longe do seu alcance. Mas que, se você se senta e fica quieto uns momentos, pode ser que pouse em seu ombro” (Nathaniel Hawthorne).

Ao meu pai Manoel, pelo amor e dedicação. A minha mãe Laura, pela vida de luta e vitórias. Principalmente pelo exemplo de que voltar a estudar após muitos anos deve ser motivo de orgulho, não de vergonha. Nunca é tarde! Sei que estão cuidando desta plantinha, onde estiverem. Obrigada pelo infinito amor.

Ao meu marido Kufa, pelas horas de estresse e por muitas vezes assumir minhas tarefas de mãe e dona de casa. Obrigada por estar comigo a cada momento. Amo você. A suprema felicidade da vida é a convicção de ser amada por aquilo que você é...ou melhor, apesar daquilo que você é...

Ao meu filho Yuri, pelo exemplo de amor e grandiosidade espiritual que nos traz cada dia. Amo você.

À minha família Marlene, Carlos, Fátima, Alessandra, Heitor, Daniela, Cláudio, Antônio, Christian e Júlio, pelo apoio e conforto da acolhida nos momentos difíceis.

Aos meus enteados Patrícia e Fábio, obrigada por permitirem compartilhar o amor do vosso pai.

Ao Prof. Dr. Mario Mateus Sugizaki, pela ajuda fundamental ao me apresentar ao Dr. Cicogna e principalmente na finalização da dissertação. O reconhecimento também por abrir caminhos ao Educador Físico na Pós-graduação da Clínica Médica. Obrigada pela confiança.

Ao Prof. Dr. Carlos Antonio Padovani, pela análise estatística e horas gastas, pacientemente, tentando fornecer subsídios para que tentássemos entender um pouquinho a estatística.

Ao Prof. Dr. Victor Keihan Rodrigues Matsudo, pelos primeiros passos na área de Ciências do Esporte. Obrigada pelos ensinamentos e cobranças.

Ao Prof. Dr. Vilmar Baldissera, pelos primeiros passos na área de Fisiologia do Exercício, por me abrir as portas do Laboratório de Fisiologia do Exercício do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCar, pelas importantes sugestões dadas no Exame de Qualificação e principalmente, pelo apoio, mais que paterno, durante meus estudos na especialização. Você foi muito importante no começo e recomeço da minha vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Edson Bregagnollo, pela importante contribuição no Exame de Qualificação.

À Prof^a. Dr^a. Marli Nabeiro, Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Silva Duarte e Prof. Ms. Edson Claro, pelo apoio e incentivo ao recomeço e pela amizade.

À Prof^a. Dr^a. Jorgeta Zogheib Milanezi, pelo crédito na retomada profissional, pelos conselhos e pela amizade.

Às amigas Juliana e Loreta, pelo ombro amigo, pelos puxões de orelha e pela grande amizade. “Não fique triste. Se você fica triste, fico triste. E eu não gosto de me ver triste...”(Letícia Thompson).

Ao amigo Papoti, por ter o mesmo brilho no olhar pela Educação Física que eu tinha no passado. Obrigada pelo auxílio neste trabalho e pelo companheirismo profissional e científico.

Ao amigo Ricardo, pela labuta diária com os animais. Você foi imprescindível para que eu pudesse realizar este trabalho.

Ao amigo Dijon, pela criação dos animais, pela realização das cirurgias de estenose aórtica e do ecocardiograma, por toda ajuda durante a execução do trabalho e pela amizade. Você foi fundamental.

Aos amigos do Laboratório de Músculo Papilar (Lab CIC), Ana Paula, André Leopoldo, André Nascimento, Loreta, Silvio e Paula, pelo carinho e convivência. Em especial ao Silvio e André Leopoldo, pelo auxílio nos cálculos estatísticos e à Paula, pela colaboração nas cirurgias. Desculpem a pouca participação no grupo. Obrigada pelo apoio, principalmente nas horas do “alagamento dos olhos”. Vocês foram muito importantes na minha caminhada.

Aos “agregados” do Lab CIC, Marcelo, Cristiane, Rosângela, Renata e Lucienne. Obrigada pelo apoio.

Aos técnicos do Laboratório Experimental da Clínica Médica José Carlos Georgette e Mário Bruno, pelos primeiros passos na experimentação animal. Obrigada pelo importantíssimo apoio. Perdoem a constante amolação.

Aos demais técnicos e funcionários do Laboratório Experimental da Clínica Médica Elenize, Sueli, Sandra, Victor, Camila, Corina, Rogério e José Aparecido, pelo apoio e amizade.

Aos amigos Prof. Dr. Claudio Alexandre Gobatto e Prof^a. Dra. Fúlvia Manchado Gobatto, por me abrirem as portas do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP - campus Rio Claro, pelas dicas e apoio, sempre que precisei. Admiro a pronta disponibilidade e alegria com que recebem aqueles que os procuram.

Ao Prof. Ms. Gustavo Gomes de Araújo, pelo auxílio nas dosagens realizadas no Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP - campus Rio Claro.

Ao técnico do Laboratório de Fisiologia do Exercício do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCar, José Carlos Lopes (Cacau), pela inestimável colaboração nas dosagens do lactato.

Aos professores da Pós-graduação, pelos ensinamentos e aos meus alunos, pela oportunidade de crescimento que me propiciam a cada aula. "Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina" (Cora Coralina).

A secretária da Pós-graduação Ana Maria Mengue e demais funcionários do Departamento de Clínica Médica, trabalhadores dos bastidores, porém, fundamentais para a construção do espetáculo. Obrigada por colaborarem.

Aos funcionários da Sessão de Pós-graduação da UNESP-Botucatu, Regina Célia Spadin, Nathanael P. Salles, Lílian Cristina B. Nunes e Janete H. Nunes, pela atenção, alegria e carinho que sempre demonstraram. O mundo precisa de palavras e atitudes positivas. Seria tão bom se todos pudessem, em vez de amaldiçoar a escuridão, acender a luz.

À Juliana, do Grupo de Apoio a Pesquisa e Selma Maria, da Seção de Aquisição e Tratamento da Informação da UNESP-Botucatu, por colaborarem no "pra ontem".

Aos amigos de perto, de longe, de ontem, de hoje e de sempre. Enfim, todos aqueles que estão do lado esquerdo do peito, Ivani, Marília, Valéria, Ana Regina, Paulo Azevedo, Claudinha e tantos outros..."Grande parte da vitalidade de uma amizade reside no respeito pelas diferenças, e não apenas em desfrutar das semelhanças" (James Fredericks).

A todos vocês, minha eterna gratidão!

*"Nenhuma mente que se abre para
uma nova idéia voltará a ter o
tamanho original"*

(Albert Einstein)

*"Dai-me Senhor, a perseverança
das ondas do mar, que fazem de cada
recoo um ponto de partida para um
novo avanço."*

(Gabriela Mistral)

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 – INTRODUÇÃO	21
2 – OBJETIVOS	26
3 – HIPÓTESES	27
4 – METODOLOGIA	28
4.1 - ANIMAIS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	28
4.2 - INDUÇÃO DE ESTENOSE AÓRTICA SUPRAVALVAR.....	29
4.3 - TESTE DE ESFORÇO FÍSICO.....	30
4.4 - AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ESFORÇO FÍSICO.....	30
4.4.1 - Determinação do limiar de lactato.....	33
4.4.2 - Determinação da velocidade de exaustão, concentração de lactato na exaustão e tempo total do teste.....	34
4.5 - AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA.....	34
4.6 - ANÁLISE MORFOLÓGICA.....	36
4.7 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁGUA TECIDUAL.....	36
4.8 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5 – RESULTADOS	38
6 – DISCUSSÃO	51
7 – CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	60

LISTA DE ABREVIATURAS

ΔD endo – porcentagem de encurtamento endocárdico

ΔD meso – porcentagem de encurtamento mesocárdico

[LAC]_{EX} – concentração de lactato na exaustão

[LAC]_{LL} – concentração de lactato no limiar

AE – átrio esquerdo

ANOVA – análise de variância

AO – aorta

ATs – átrios

DC – débito cardíaco

DDVE - diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo

DSVE - diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo

E/A – relação ondaE/onda A

EAO – estenose aórtica supravalvar

ECO – ecocardiograma

EDPP – espessura diastólica da parede posterior

EDSIV – espessura diastólica do septo intraventricular

ERelVE – espessura relativa do ventrículo esquerdo

ESPP – espessura sistólica da parede posterior

ESSIV - espessura sistólica do septo intraventricular

FC – frequência cardíaca

GC – grupo controle

GAO – grupo estenose aórtica

LL – limiar de lactato

m/min – metros por minuto

MASSA VE – massa do ventrículo esquerdo

mmol/L – milimoles por litro

Onda A - pico da velocidade do fluxo transvalvar mitral correspondente à contração atrial

Onda E - pico da velocidade do fluxo transvalvar mitral correspondente à fase de enchimento inicial

PC – peso corporal

PS – peso seco

PU – peso úmido

RC – remodelação cardíaca

seg – segundos

TDE - tempo de desaceleração da onda E

TE – teste de esforço

TRIV – tempo de relaxamento isovolumétrico do VE

TTT – tempo total do teste

VD – ventrículo direito

VE – ventrículo esquerdo

VEPP – velocidade de encurtamento da parede posterior

VEx – velocidade de exaustão

VLL – velocidade do limiar de lactato

VO₂máx – consumo máximo de oxigênio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho esquemático do protocolo experimental.....	29
Figura 2 - Esteira para ratos. Visão geral.....	31
Figura 3 - Esteira para ratos. Detalhe das raia.....	31
Figura 4 - Representação esquemática do teste incremental até exaustão.....	32
Figura 5 - Gráfico das concentrações de lactato em função do aumento de carga de um animal do GEAO. Indicação do ponto de quebra da linearidade da concentração de lactato (limiar de lactato).....	34
Figura 6 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão do peso corporal durante o período de avaliação.....	39
Figura 7 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão da porcentagem de encurtamento endocárdico (ΔD endo) durante o período de avaliação.....	44
Figura 8 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão da porcentagem de encurtamento mesocárdico (ΔD meso) durante o período de avaliação.....	44
Figura 9 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão do índice cardíaco durante o período de avaliação.....	45
Figura 10 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão da relação onda E e onda A (E/A) durante o período de avaliação.....	47
Figura 11 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão do tempo total do teste incremental em esteira em ratos nos diferentes períodos de avaliação.....	49
Figura 12 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão da concentração de lactato no limiar ($[LAC]_{LL}$) em teste incremental em esteira em ratos nos diferentes períodos de avaliação.....	49
Figura 13 – Gráfico do comportamento da média e erro padrão da concentração de lactato no momento da exaustão ($[LAC]_{EX}$) em teste incremental em esteira em ratos nos diferentes períodos de avaliação.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e desvio padrão das características gerais dos ratos segundo grupo no final do período experimental.....	38
Tabela 2 - Média e desvio padrão da relação entre o peso úmido e seco dos ratos segundo grupo no final do período experimental.....	39
Tabela 3 - Média e desvio padrão do peso e da estrutura cardíaca avaliada pelo ecocardiograma dos ratos segundo grupo e período de avaliação.....	41
Tabela 4 - Média e desvio padrão da função sistólica do ventrículo esquerdo dos ratos por ecocardiograma segundo grupo e período de avaliação.....	43
Tabela 5 - Média e desvio padrão da função diastólica do ventrículo esquerdo dos ratos por ecocardiograma segundo grupo e período de avaliação.....	46
Tabela 6 - Média e desvio padrão dos parâmetros de tolerância ao esforço dos ratos durante teste incremental em esteira segundo grupo e período de avaliação.....	48

Em razão de, em estudos que analisam a relação remodelação cardíaca e estenose aórtica supravalvar: ser importante a detecção precoce da disfunção ventricular; o método hemodinâmico ser ideal para detecção da disfunção, porém inadequado para estudos seqüenciais; a taquipnéia manifestar-se, geralmente, quando há deterioração cardíaca grave e não estar estabelecida a relação entre a capacidade funcional e a função ventricular, torna-se necessário identificar se o(s) primeiro(s) sinal(is) de intolerância ao esforço físico está(ão) relacionado(s) a disfunção ventricular. Assim, este trabalho tem como objetivos avaliar em diferentes períodos, 3, 6, 12 e 18 semanas, após indução de estenose aórtica supravalvar em ratos a: 1) função do ventrículo esquerdo em repouso e as alterações morfológicas cardíacas por meio do ecocardiograma; 2) tolerância ao esforço físico, em teste incremental em esteira; 3) relação entre a tolerância ao esforço físico e a função cardíaca determinada em repouso. Foram utilizados 37 ratos Wistar, jovens, machos divididos em dois grupos: controle operado (GC, n=13) e estenose aórtica supravalvar (GEAo, n=24). O GEAo foi submetido a cirurgia com implantação de um clipe na artéria aorta para a indução da estenose aórtica supravalvar. O GC foi submetido à mesma cirurgia, porém sem a implantação do clipe. Os animais foram mantidos com água e ração e *ad libitum*, em ambiente com temperatura controlada a 23°C e ciclo de luz invertido. Todos os procedimentos foram realizados no ciclo escuro, com o auxílio de iluminação fluorescente vermelha, cuja emissão de onda, por ser longa, não é percebida pelos animais. Dos 24 ratos do grupo estenose aórtica (GEAo), 10 morreram e dois apresentaram sinais de insuficiência cardíaca ao final do experimento, taquipnéia associada a derrame pleural, trombo em átrio esquerdo e hipertrofia de ventrículo direito, sendo excluídos do grupo. Dos 13 animais do grupo controle (GC) dois morreram antes do término do estudo. Assim, os grupos estudados foram constituídos de 11 animais no GC e 12 no GEAo. A tolerância ao esforço físico foi avaliada em teste incremental, intervalado, multiestágios, até a exaustão, realizado em uma esteira rolante para ratos. Os parâmetros utilizados para a determinação da tolerância ao esforço físico foram:

velocidade da esteira correspondente ao limiar de lactato (VLL), velocidade do estágio onde foi atingida a exaustão (VEx), tempo total do teste (TTT) e as concentrações de lactato correspondentes ao limiar de lactato ($[LAC]_{LL}$) e ao final estágio da exaustão ($[LAC]_{EX}$). O limiar de lactato foi estabelecido por inspeção visual do ponto da curva onde ocorreu quebra da linearidade em função do aumento da velocidade. A função e estrutura do coração foram avaliadas pelo ecocardiograma em repouso. No final do período, após sacrifício foram determinadas variáveis morfológicas corporais e cardíacas. A relação entre peso úmido (PU) e peso seco (PS), foi utilizada para a determinação do teor de água tecidual. Os parâmetros morfológicos e pesos úmido e seco foram analisados pelo teste t de Student ou pelo teste de Mann-Whitney. Para comparações dos grupos no processo evolutivo, utilizou-se o método de análise de variância de medidas repetidas em dois grupos independentes complementado pelo procedimento de comparação múltipla de Bonferroni. Em todos os testes fixou-se em 5% ($p < 0,05$) o nível de significância. Os dados ecocardiográficos mostraram importantes alterações estruturais cardíacas durante o processo da evolução da remodelação. Vários parâmetros, indicadores de hipertrofia como, EDPP, EDSIV e EReIV, apresentaram-se alterados a partir da 3ª semana e o ÍNDICE MASSA VE após a 6ª semana. A análise da variável EReIV indicou que a estenose aórtica supra-avalvar acarretou hipertrofia concêntrica do VE, precocemente, mantida até o final do experimento. A hipertrofia ventricular esquerda foi confirmada pela avaliação estrutural cardíaca dos ratos após o sacrifício. A análise da função sistólica do ventrículo esquerdo mostrou melhoria dos encurtamentos endocárdico e mesocárdico (ΔD endo e ΔD meso) em relação ao grupo controle, que deterioraram-se durante o processo de remodelação. Apesar da piora da função sistólica ao longo do tempo, o GEAO ainda manteve resultados superiores ao GC. O índice cardíaco, parâmetro que avalia o coração como bomba, mostrou-se igual ao GC. Estes resultados mostram que o desempenho sistólico do ventrículo esquerdo do GEAO foi superior ou igual ao GC durante todo processo de remodelamento cardíaco. A função diastólica do GEAO mostrou-se deteriorada, precocemente, em relação ao GC, desde a 3ª semana pós-indução de estenose aórtica. Neste grupo ocorreu aumento da onda A, redução da relação E/A e do tempo de desaceleração da onda E (TDE). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, em todo o período experimental, nos parâmetros da tolerância ao esforço. A ausência de

alterações na tolerância ao esforço físico nesse trabalho não foi devida à inabilidade do teste ou da falta de sensibilidade das variáveis analisadas. A fase de remodelação cardíaca e o grau de disfunção ventricular parecem ter sido os principais determinantes dos resultados observados. Em conclusão, os dados deste trabalho mostram que os animais com estenose aórtica supra-avalvular avaliados durante 18 semanas apresentam: 1) alterações morfológicas cardíacas indicativas de hipertrofia concêntrica; 2) disfunção diastólica precoce do ventrículo esquerdo; 3) melhora ou preservação da função sistólica do ventrículo esquerdo em relação ao grupo controle; 4) deterioração do desempenho sistólico durante o processo de remodelação ventricular; 5) alterações da função ventricular, não acompanhadas da diminuição da tolerância ao esforço físico.

Palavras-chave: capacidade funcional, tolerância ao esforço físico, disfunção ventricular, função cardíaca, estenose aórtica, ecocardiograma, ratos.

ABSTRACT

Considering that, in studies analyzing the relationship between cardiac remodeling and supralvalvar aortic stenosis, the early detection of ventricular dysfunction is important, the hemodynamic method is ideal to detect such dysfunction although it is inadequate for sequential studies, tachypnea is generally manifested when severe cardiac deterioration exists and that the relationship between functional capacity and ventricular function has not been established, it is necessary to identify whether the first sign(s) of exercise intolerance is(are) related to ventricular dysfunction. Hence, this study aimed at evaluating, in different periods - 3, 6, 12 and 18 weeks - after the induction of supralvalvar aortic stenosis in rats, the following aspects: 1) function of the left ventricle at rest and cardiac morphological alterations by means of an echocardiogram; 2) exercise tolerance during an incremental test on a treadmill; 3) relationship between exercise tolerance and cardiac function determined at rest. Thirty-seven young male Wistar rats were used. The animals were separated into two groups: operated control (CG, n=13) and supralvalvar aortic stenosis (GEAo, n=24). GEAo was submitted to surgery with the implantation of a clip on the aorta artery for induction of supralvalvar aortic stenosis. GC was submitted to the same type of surgery although without clip implantation. The animals were given water and chow *ad libitum* and maintained in a controlled-temperature environment at 23°C and an inverted light-dark cycle. All the procedures were performed in the dark cycle by using red fluorescent illumination, whose long wave emission is not perceived by the animals. Of the 24 rats in the GEAo ten died and two presented signs of cardiac insufficiency at the end of the experiment, tachypnea associated with pleural stroke, thrombus in the left atrium and hypertrophia in the right ventricle, thus being excluded from the group. Of the 13 animals in the GC, two died prior to completion of the study. Hence, the studied groups consisted of 11 animals in CG and 12 in GEAo. Exercise tolerance was evaluated by means of a multistage incremental test with intervals which was performed on a rolling treadmill for rats up to exhaustion. The parameters used for determination of tolerance to physical effort were: treadmill velocity corresponding to the lactate threshold (VLL), velocity of the stage in which exhaustion was reached

(VEx), total testing time (TTT) and lactate concentrations corresponding to the lactate threshold ($[LAC]_{LL}$) and to the final exhaustion stage ($[LAC]_{EX}$). The lactate threshold was established by means of visual inspection of the curve point where linearity was broken in function of velocity increase. Heart functions and structure were evaluated by an echocardiogram at rest. At the end of the period and after sacrifice, morphological and body variables were determined. The relationship between wet weight (PU) and dry weight (PS) was used to determine tissue water content. The morphological parameters and wet and dry weights were analyzed by Student's t test or by Mann-Whitney's test. In order to compare the groups as regards their developmental process, the method of analysis of variance for repeated measurements in two independent groups was used and complemented by Bonferroni's multiple comparison procedure. A level of significance of 5% ($p < 0.05$) was established for all tests. The echocardiographic data showed important cardiac structural alterations during the process of remodeling development. Various parameters indicating hypertrophy, such as EDPP, EDSIV and EReIVE, showed alterations after the 3rd week, and so did the INDICE MASSA VE after the 6th week. The analysis of variable EReIVE indicated that supralvalvar aortic stenosis caused early concentric hypertrophy of the left ventricle, which was maintained until the completion of the experiment. Left ventricular hypertrophy was confirmed by the rats' cardiac structural assessment after sacrifice. Analysis of the left ventricle's systolic function showed improvement in the endocardial and mesocardial shortenings (ΔD endo and ΔD meso) in relation to the control group, which deteriorated during the remodeling process. In spite of the worsening in systolic function over time, GEAO still maintained higher results than those of GC. The cardiac index, a parameter which evaluates the heart as a pump, was similar to that of GC. These results showed that systolic performance of the left ventricle in GEAO was higher or equal to that of GC during the cardiac remodeling process. Diastolic function in GEAO showed to early deteriorate in relation to that of GC from the 3rd week after aortic stenosis induction. In this group, an increase in A wave and a reduction in the E/A ratio as well as in the E wave deceleration time (TDE) were observed. No significant differences were observed between the groups, during the whole experimental period, for parameters of tolerance to effort. The absence of alterations in tolerance to physical effort in this study was not due to the test's inability or to lack of sensitivity of the variables analyzed. The cardiac remodeling phase and the level of ventricular

dysfunction seem to have been the major determinants for the observed results. In conclusion, the data in this study show that the animals with supra-avalvular aortic stenosis evaluated for 18 weeks presented: 1) cardiac morphological alterations indicating concentric hypertrophy; 2) early diastolic dysfunction in the left ventricle; 3) improvement or preservation of the systolic function in the left ventricle in relation to that of the control group; 4) deterioration of the systolic performance during the ventricular remodeling process; 5) alterations in ventricular function not leading to a decrease in exercise tolerance.

1 – INTRODUÇÃO

O termo remodelação cardíaca (RC) vem sendo utilizado largamente na literatura e pode ser definido como modificações de expressão gênica, moleculares, celulares ou intersticiais que se manifestam clinicamente, com alterações de tamanho, da forma e da função do coração, após uma agressão (Cohn *et al.*, 2000).

A RC é um importante mecanismo adaptativo que ocorre em resposta à sobrecarga hemodinâmica crônica e permite o coração manter suas funções básicas em vigência de aumento das condições de carga (Cicogna *et al.*, 2000; Olivetti *et al.*, 2000; Zornoff *et al.*, 2002; Gonçalves *et al.*, 2005). Entretanto, a RC constitui um importante fator de risco para o desenvolvimento de disfunção ventricular e insuficiência cardíaca (Kaplan, 2001).

Diversos modelos experimentais têm sido propostos para o estudo da RC por sobrecarga pressórica. Entre eles, destacam-se a indução de estenose de artéria renal (Okoshi *et al.*, 1997) e de aorta abdominal (Bregagnollo *et al.*, 1986; Rossi & Peres, 1992; Rodrigues *et al.*, 1992) ou torácica (Weinberg *et al.*, 1994), ou mesmo o desenvolvimento de animais geneticamente modificados, como o rato espontaneamente hipertenso (Cicogna *et al.*, 1999). No entanto, muitos desses modelos animais representam limitações para seu uso em trabalhos experimentais. Por exemplo, a indução de estenose de artéria renal ou de aorta abdominal, em ratos, além de acarretar hipertensão arterial sistêmica e hipertrofia ventricular esquerda, pode também promover importante ativação do sistema nervoso adrenérgico e do sistema renina-angiotensina-aldosterona (Hirsch *et al.*, 1991; Ratajska *et al.*, 1994; Kabour *et al.*, 1995). A intensa ativação neurohormonal está associada à ocorrência de importantes lesões cardíacas, como necrose miocárdica, peri-arterite e fibrose reparativa (Rodrigues *et al.*, 1992; Okoshi *et al.*, 1997). Desta maneira, estes modelos podem ser muito agressivos ao miocárdio e, portanto, pouco representativos de lesões que se desenvolvem, gradualmente, em humanos com sobrecarga pressórica crônica. Por outro lado, os ratos espontaneamente hipertensos desenvolvem aumento gradual da pressão arterial sistêmica a partir de um mês de idade e, aos três meses, já apresentam estabelecida hipertrofia

ventricular esquerda (Cicogna *et al.*, 1999). Entretanto, esses ratos exibem longo período de hipertrofia miocárdica estável, sem desenvolver insuficiência cardíaca, que ocorre, em geral, somente a partir de 20 meses de idade (Bing *et al.*, 1995; Cicogna *et al.*, 1997 e 1999). Portanto, embora nesse modelo as alterações sejam semelhantes às que ocorrem na cardiopatia hipertensiva humana (Bing *et al.*, 1995), há um custo muito elevado para os estudos de prevenção e tratamento de insuficiência cardíaca, porque os animais têm que ser mantidos em biotério por longo período de tempo.

Mais recentemente, o modelo de estenose aórtica supravalvar tem sido utilizado para promover o desenvolvimento gradual de hipertrofia ventricular esquerda em ratos jovens (Weinberg *et al.*, 1994; Bruckschlegel *et al.*, 1995; Litwin *et al.*, 1995; Turcani & Rupp, 1998; Condorelli *et al.*, 1999; Schunkert *et al.*, 1999). Neste modelo, admite-se que quando a constrição aórtica é realizada em ratos jovens, a sobrecarga pressórica inicialmente é leve, acentuando-se progressivamente à medida que os animais crescem, assemelhando-se, parcialmente à estenose aórtica no homem (Mestrinel, 2003). As vantagens deste modelo experimental são: o desenvolvimento gradual de hipertrofia ventricular esquerda, a ausência de severas lesões anatômicas no miocárdio e o baixo custo para manter os animais devido ao curto período necessário para o desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda e insuficiência cardíaca. Precocemente os ratos desenvolvem hipertrofia ventricular esquerda que está associada, em curto prazo, disfunção diastólica e melhora da função sistólica do coração. A partir da 20ª semana, após a indução da estenose aórtica, ocorre deterioração do desempenho sistólico do coração e desenvolvimento do quadro clínico de insuficiência cardíaca (Weinberg *et al.*, 1994; Bregagnollo *et al.*, 2001; Moreira *et al.*, 2006).

Em nosso laboratório, experimentos têm sido realizados com estenose aórtica supravalvar (EAo), com a finalidade de avaliar aspectos morfo-funcionais do coração em diferentes períodos do processo de remodelação, inclusive no momento da constatação de sinais clínicos de insuficiência cardíaca. Assim, Ribeiro *et al.* (2003) e Okoshi *et al.* (2004), utilizando o ecocardiograma (ECO), não constataram sinais de disfunção diastólica em ratos com seis e oito semanas de EAo, respectivamente. Ribeiro *et al.* (2003) detectaram disfunção diastólica após 12 semanas e sistólica após 21 semanas de EAo. Bregagnollo *et al.* (2005) mostraram, por estudo hemodinâmico, que ratos com seis semanas de EAo apresentaram

aumento significativo na pressão diastólica final do ventrículo esquerdo. Gonçalves *et al.* (2005) embora não encontrassem sinais de disfunção diastólica, verificaram aumento significativo do átrio esquerdo em ratos com seis semanas de EAo por ecocardiograma. Esse aumento atrial poderia ser sinal de disfunção diastólica não detectada pela avaliação ecocardiográfica. Carvalho *et al.* (2003) observaram, empregando técnicas de biologia molecular, alterações no fenótipo da musculatura esquelética dos ratos após 12 e 18 semanas de EAo, embora esses animais não apresentassem sinais de insuficiência cardíaca.

Os resultados dos trabalhos citados anteriormente mostram que a única metodologia que detectou precocemente disfunção ventricular na estenose aórtica supravalvar foi o estudo hemodinâmico, método invasivo e inadequado para estudos seqüenciais de longa duração. Esse fato mostra a necessidade de utilização de uma técnica mais adequada para a identificação precoce da disfunção ventricular *in vivo* durante o processo de evolução temporal da remodelação cardíaca.

O teste de esforço físico (TE) é um dos exames não invasivos mais usados para avaliar pacientes com doença cardiovascular, sendo capaz de detectar anormalidades cardíacas não observáveis no repouso. O TE impõe ao paciente estresse físico programado e personalizado, podendo avaliar a resposta clínica, hemodinâmica, eletrocardiográfica, ecocardiográfica e/ou metabólica ao esforço (Sharma *et al.*, 2001; Chalela & Moffa, 2005). O TE, como medida da capacidade funcional, pode ser um simples teste da distância percorrida em determinado tempo ou um teste incremental, com a utilização de bicicleta estacionária ou esteira ergométrica (Fewell *et al.*, 1997; Zuwallack, 2000; Chalela & Moffa, 2005).

A avaliação da capacidade funcional durante a realização de um teste de esforço físico pode servir como medida normativa da aptidão cardiorrespiratória e da capacidade aeróbica, sendo a determinação do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx) considerado o padrão ouro. No entanto, a determinação do VO_2 máx. necessita de equipamentos sofisticados, de custos elevados e técnicos especializados. Esse fato levou os pesquisadores a buscarem novas alternativas de avaliação da capacidade funcional, como o tempo de exaustão, velocidade máxima de corrida e limiar anaeróbico (Hussain *et al.*, 2001; Brum *et al.*, 2002; Bayat *et al.*, 2002; Koh *et al.*, 2003).

A alternativa mais amplamente utilizada em estudos clínicos (Wasserman & McIlroy, 1964; Wasserman, 1987; Barthélémy *et al.*, 1996; Marães *et al.*, 2003) e experimentais (Bech *et al.*, 1989 e 1990; Langfort *et al.*, 1996; Voltarelli *et al.*, 2002 e 2004; Vieira, 2004; Carvalho *et al.*, 2005) é a medida do limiar anaeróbico. Limiar anaeróbico é definido como intensidade de trabalho durante exercício incremental, acima do qual a produção de energia aeróbica é suplementada por mecanismos anaeróbicos, causando aumento no lactato sanguíneo e acidose metabólica. Pode ser medido diretamente pela concentração de lactato no sangue, denominado limiar de lactato (Wasserman, 1987). Animais de laboratório, como os ratos, apresentam comportamento do lactato similar aos humanos durante teste incremental (Pilis *et al.* 1993; Gobatto *et al.*, 2001; Voltarelli *et al.*, 2002; Bilat *et al.*, 2003). O limiar anaeróbico é utilizado como uma medida direta da carga de trabalho em que o sistema cardiovascular começa a limitar a oferta de oxigênio aos tecidos (Marães *et al.*, 2003), ocorrendo precocemente em portadores de disfunção ventricular (Serra, 1997). Em cardiopatas, também as alterações presentes na musculatura esquelética poderiam acarretar redução do metabolismo aeróbico, com aumento na produção de lactato (Sullivan *et al.*, 1990; Barthélémy *et al.*, 1996). Estas modificações na oferta de oxigênio tecidual e na musculatura esquelética poderiam contribuir para a diminuição da capacidade funcional, podendo ser detectada por meio do limiar anaeróbico (Bech *et al.*, 1989; Amaral & Michelini, 2004).

A experiência advinda do acompanhamento laboratorial dos ratos com EAo em nosso grupo tem mostrado que, baseado em sinais clínicos observáveis em repouso, é impossível se determinar precocemente a disfunção ventricular esquerda (Moreira *et al.*, 2006). O primeiro sinal clínico sugestivo, a taquipnéia, está geralmente associado a outras importantes alterações anátomo-patológicas, resultantes de grave depressão ventricular. Portanto, pesquisadores que necessitam utilizar animais com sinais precoces de disfunção cardíaca não deveriam utilizar a taquipnéia como indicativo da presença de disfunção cardíaca leve.

Em razão de, em estudos que analisam a relação remodelação cardíaca e estenose aórtica supravalvar: 1) ser importante a detecção precoce da disfunção ventricular; 2) o método hemodinâmico ser o ideal para detectar esta disfunção, porém inadequado para estudos seqüenciais; 3) a taquipnéia, sinal clínico, manifestar-se, geralmente, quando há deterioração cardíaca grave e 4) não estar

estabelecida a relação entre a capacidade funcional e a função ventricular, torna-se necessário identificar se o(s) primeiro(s) sinal(is) de intolerância ao esforço físico está(ão) relacionado(s) a disfunção ventricular.

2 – OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivos avaliar em diferentes períodos, 3, 6, 12 e 18 semanas, pós-indução de estenose aórtica supraavalvar em ratos a:

1. função do ventrículo esquerdo em repouso e as alterações morfológicas cardíacas por meio do ecocardiograma;
2. tolerância ao esforço físico, em teste incremental em esteira, estimada por meio do tempo total de esforço, das velocidades do limiar de lactato e da exaustão e das concentrações de lactato no limiar e na exaustão;
3. relação entre a tolerância ao esforço físico e a função cardíaca determinada em repouso.

3 – HIPÓTESES

Durante o processo de remodelação cardíaca pós estenose aórtica supravalvar:

- há depressão da função ventricular esquerda e acentuação das alterações morfológicas cardíacas;
- há deterioração da tolerância ao esforço físico, que precede a disfunção ventricular determinada, em repouso, por meio do ecocardiograma.

4 – METODOLOGIA

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

4.1 – ANIMAIS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Para a realização deste trabalho foram utilizados 37 ratos Wistar, jovens, machos provenientes do Biotério da Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, divididos em dois grupos: controle operado (GC, n=13) e estenose aórtica supravalvar (GEAo, n=24). O GEAo foi submetido a cirurgia com implantação de um clipe na artéria aorta para a indução da estenose aórtica supravalvar. O GC foi submetido à mesma cirurgia, porém sem a implantação do clipe. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, com cinco ratos por caixa, temperatura ambiente controlada a 23°C, ciclos de luminosidade de 12 horas e alimentados com ração padrão Purina® e água *ad libitum*.

Os animais de ambos os grupos foram avaliados 3, 6, 12 e 18 semanas após a cirurgia (Figura 1). Justifica-se a escolha destes períodos por serem intervalos razoáveis para a observação de alterações morfológicas e funcionais em ratos no modelo de estenose aórtica supravalvar. Estes períodos antecedem a instalação da insuficiência cardíaca, que ocorre, de maneira geral, a partir da 20ª semana (Monken *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 2003; Boluyt *et al.*, 2005; Moreira *et al.*, 2006).

No final do período experimental procurou-se identificar sinais de insuficiência cardíaca, sendo considerados como critérios de exclusão a presença de taquipnéia associada a um dos seguintes sinais: edema, ascite, derrame pleuro-pericárdico, trombo em átrio esquerdo e hipertrofia do ventrículo direito (Cicogna *et al.*, 1999).

Em função dos ratos terem hábitos noturnos (Refinetti, 2006) e sua maior resposta ao esforço ocorrer em sua fase ativa do ciclo circadiano (American, 2006), os animais foram submetidos ao ciclo de luz invertido, sendo o escuro das 10:00 h às 22:00 h e o claro das 22:00 h às 10:00 h. Todos os procedimentos foram

realizados no ciclo escuro, com o auxílio de iluminação fluorescente vermelha, cuja emissão de onda, por ser longa, não é percebida pelos animais (Hofstetter *et al.*, 2005). Foram respeitadas duas semanas para adaptação ao fotoperíodo (Guimarães *et al.*, 2005).

Após o período experimental de 18 semanas, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico intraperitoneal, 50 mg/kg, e sacrificados por decapitação. O tórax foi aberto, o coração removido, os átrios dissecados, a musculatura ventricular dividida em parede livre do ventrículo direito e massa muscular do ventrículo esquerdo, incluindo o septo.

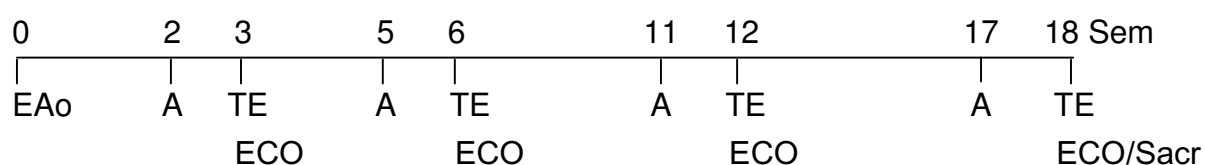


Figura 1 – Desenho esquemático do protocolo experimental. Sem: semanas; EAo: cirurgia de EAo ou simulação da cirurgia no GC; A: adaptação à esteira; TE: teste de esforço; ECO: avaliação ecocardiográfica; Sacr: sacrifício.

4.2 - INDUÇÃO DE ESTENOSE AÓRTICA SUPRAVALVAR

A estenose aórtica supravalvar foi induzida de acordo com o método previamente descrito em nosso laboratório (Carvalho *et al.*, 2003; Bregagnollo *et al.*, 2005; Gonçalves *et al.*, 2005). Os animais com três a quatro semanas de vida e pesando de 70 a 90 g, após anestesia com cloridrato de ketamina (60 mg/kg) e cloridrato de xilidino (10 mg/kg) intraperitoneal, foram submetidos à toracotomia mediana, a aorta ascendente dissecada e um clipe de prata, com 0,6 mm de diâmetro interno, colocado, aproximadamente a 3 mm da sua raiz. A parede torácica foi fechada, sendo o esterno, as camadas musculares e a pele suturados com fio *mononylon* 5.0. Durante a cirurgia, os animais receberam intraperitonealmente 1 ml de soro fisiológico aquecido e foram ventilados manualmente com pressão positiva, oxigênio a 100%. Concluído o ato cirúrgico, os ratos foram colocados em superfície aquecida até retornarem da anestesia. Os animais do GC foram submetidos à mesma cirurgia, mas sem a colocação do clipe.

4.3 - TESTE DE ESFORÇO FÍSICO

O teste de esforço físico foi realizado em uma esteira rolante para ratos construída pelo CTEC (Centro Tecnológico e Engenharia Clínica – Núcleo de Botucatu – UNESP). A esteira foi confeccionada com chapas de aço, inversor de frequência marca WEG, modelo CFW 08, contendo cinco raias individuais (Figuras 2 e 3). O protocolo do teste intervalado e multiestágios utilizado foi adaptado do descrito previamente por Carvalho *et al.* (2005). Cada animal realizava o teste isoladamente. O teste foi iniciado com aquecimento dos ratos por 5 min a uma velocidade de 5 m/min. Após 1 min de recuperação passiva, o animal foi submetido a um esforço progressivo com velocidade inicial de 6 m/min e incrementos de 3 m/min a cada 3 minutos. O protocolo foi finalizado quando o animal atingia a exaustão, determinada quando se recusava a correr mesmo sob estimulação sonora ou quando a coordenação entre as passadas se apresentava dificultada. Entre cada aumento de carga, o animal era retirado manualmente da esteira por um minuto para coleta sanguínea (Bech *et al.*, 1990). A representação esquemática do protocolo do teste é mostrada na Figura 4. Para familiarização com o protocolo experimental, os ratos foram submetidos a um período de adaptação, caminhando por 5 minutos, a uma velocidade de 5 m/min, diariamente, durante uma semana antes da realização de cada teste. O teste de esforço físico foi realizado 3, 6, 12 e 18 semanas pós-cirurgia nos grupos GC e GEAO.

4.4 - AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ESFORÇO FÍSICO

A tolerância ao esforço físico foi avaliada pelos seguintes parâmetros: velocidade da esteira correspondente ao limiar de lactato (VLL), velocidade do estágio onde foi atingida a exaustão (VEx), tempo total do teste (TTT) e as concentrações de lactato correspondentes ao limiar de lactato ($[LAC]_{LL}$) e ao final estágio da exaustão ($[LAC]_{EX}$).

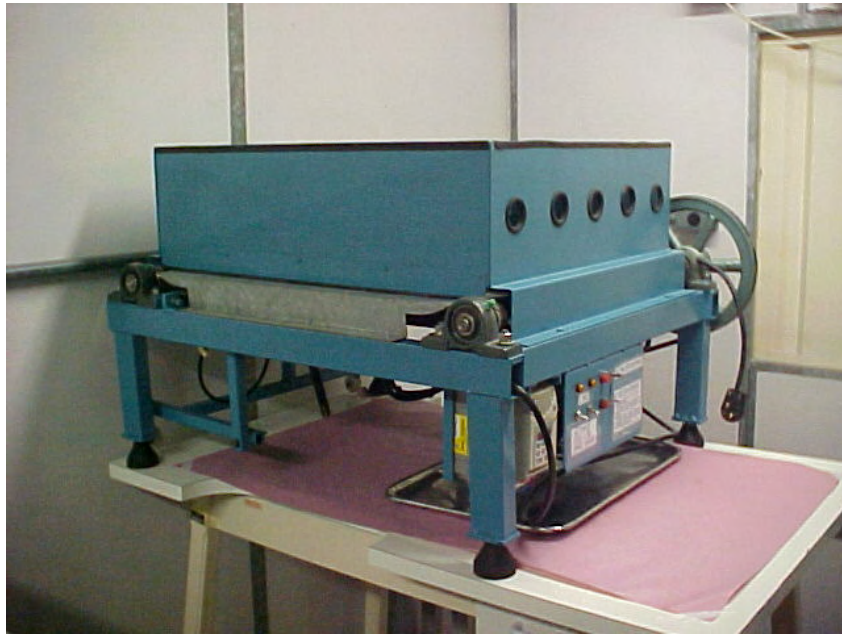


Figura 2 - Esteira para ratos. Visão geral



Figura 3 - Esteira para ratos. Detalhe das raia

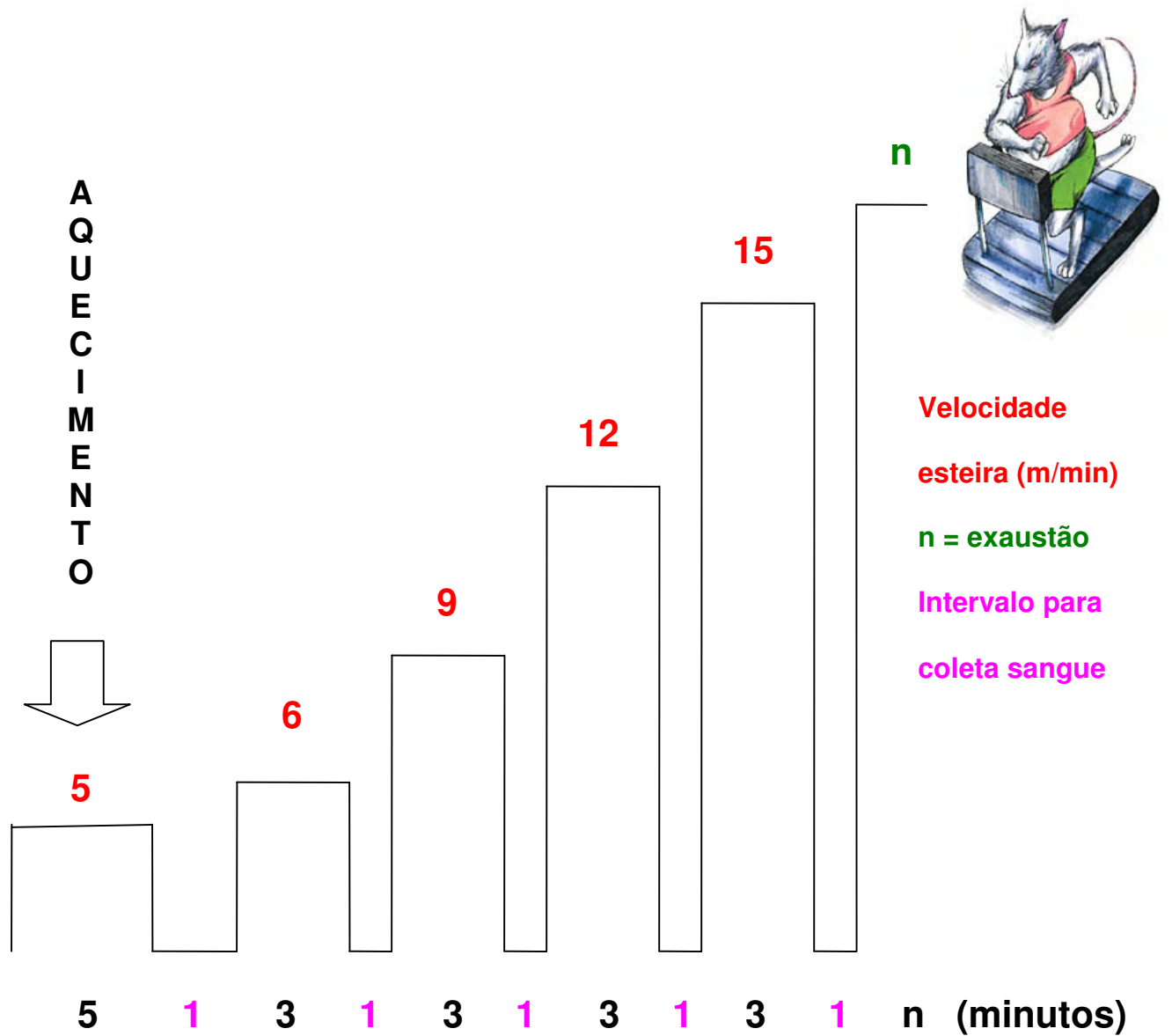


Figura 4 – Representação esquemática do teste incremental até exaustão (adaptado CARVALHO *et al.*, 2005)

4.4.1 - Determinação do limiar de lactato

O limiar de lactato foi definido como intensidade de exercício associada ao aumento substancial na concentração do lactato sanguíneo durante o teste de esforço incremental (Svedahl & Macintosh, 2003). Para a sua determinação foram coletadas amostras de 25 μ l de sangue da cauda do animal, no repouso e entre cada aumento de carga. A coleta foi realizada com o auxílio de uma lâmina de vidro, 25x75x1mm, para microscópio (*Sigma Chemical Company*[®] – USA, modelo *Techware S 8902*) e uma micro pipeta digital, 20 a 200 μ l, (*Nichiryo Co.*[®] – Japão, modelo *Nichipet NPX 200*) com ponteira descartável, trocada entre as coletas. O sangue coletado era imediatamente armazenado em tubo com tampa tipo *Eppendorf* de 1,5 ml.

Este tubo continha 50 μ l de fluoreto de sódio a 1%, composto anticoagulante e inibidor da enzima enolase, cuja finalidade era interromper a atividade glicolítica da amostra de sangue. As amostras eram mantidas refrigeradas durante o período de coleta e em seguida armazenadas em freezer, até sua utilização. A concentração de lactato foi determinada pelo método eletro-enzimático com o uso de um lactímetro, marca *Yellow Springs Instruments*[®], 1500 *Sport* – USA, pertencente ao Laboratório de Fisiologia do Exercício - Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). O aparelho era previamente calibrado segundo padrão indicado pelo fabricante.

A determinação do limiar de lactato foi feita por meio da plotagem gráfica das concentrações de lactato *versus* a velocidade dos estágios. O ponto da curva onde ocorreu quebra da linearidade em função do aumento da velocidade, estabelecido por inspeção visual, foi considerado o limiar de lactato. A velocidade correspondente a esse ponto foi considerada como a velocidade do limiar de lactato (VLL). A concentração de lactato, em milimoles por litro (mmol/L), referente a este ponto foi considerada ($[LAC]_{LL}$). A análise dos gráficos foi feita por dois avaliadores experientes, observando-se uma concordância inter-observador de 96 %. Quando ocorreu discordância entre os avaliadores a respeito do ponto do LL, considerou-se a média dos valores indicados por cada avaliador. A plotagem gráfica dos resultados de um dos animais é apresentada na Figura 5. Os resultados do VLL são apresentados em metros por minuto (m/min) e da ($[LAC]_{EX}$) em milimoles por litro (mmol/L).

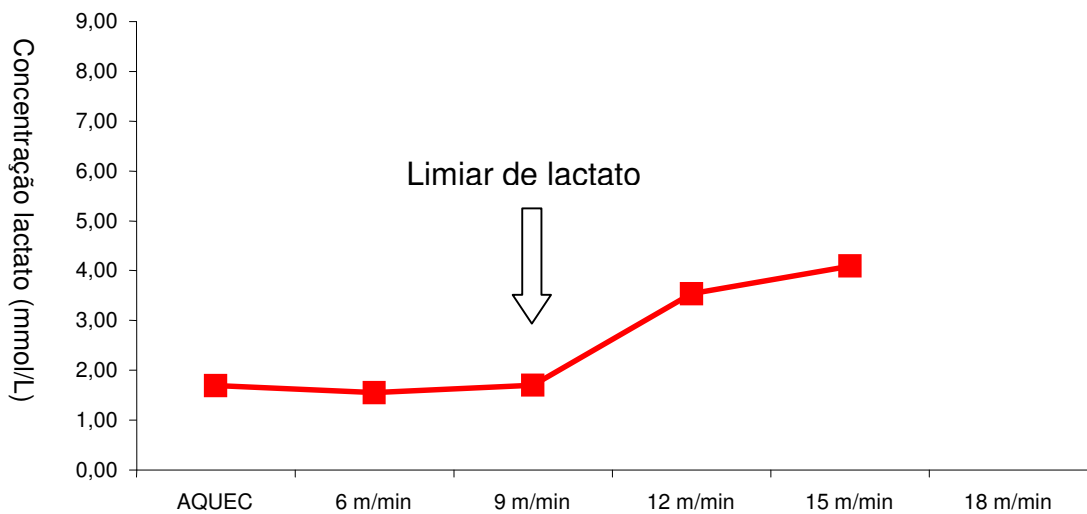


Figura 5 - Gráfico das concentrações de lactato em função do aumento de carga de um animal do GEAO. Indicação do ponto de quebra da linearidade da concentração de lactato (limiar de lactato). AQUEC: aquecimento

4.4.2 - Determinação da velocidade de exaustão, concentração de lactato na exaustão e tempo total do teste

A velocidade de exaustão (VEx) foi a velocidade do estágio, durante o teste incremental, em que o rato apresentava-se extenuado, se recusando a correr ou não mantendo suas passadas coordenadas, mesmo sob estimulação sonora. A concentração de lactato referente a este ponto foi definida como a concentração de lactato na exaustão ($[LAC]_{EX}$). O tempo total do teste (TTT) foi determinado pelo tempo entre o estágio inicial e o momento da exaustão. Os tempos dos intervalos entre os estágios não foram considerados. Os resultados do VEx e TTT são apresentados em metros por minuto (m/min) e segundos (seg), respectivamente. A $[LAC]_{EX}$ é apresentada em mmol/L.

4.5 - AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA

A função e estrutura do coração foram avaliadas pelo ecocardiograma (Paiva *et al.*, 2003; Bregagnollo *et al.*, 2006). Os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina (50 mg/kg) e cloridrato de xilidino (1 mg/kg) por via intraperitoneal. Após tricotomia da região anterior do tórax, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo para realização do ecocardiograma com o ecocardiógrafo *Philips®*, modelo HDI 5000, equipado com transdutor eletrônico de

12 MHz. As estruturas cardíacas foram medidas utilizando-se imagens em modo-M com o feixe de ultra-som orientado pela imagem bidimensional com o transdutor na posição paraesternal eixo menor. A imagem monodimensional do ventrículo esquerdo foi obtida posicionando o cursor do modo-M logo abaixo do plano da valva mitral entre os músculos papilares (Litwin *et al.*, 1995). As imagens da aorta (AO) e do átrio esquerdo (AE) também foram obtidas na posição paraesternal eixo menor com o cursor do modo-M posicionado ao nível da valva aórtica. O registro da imagem monodimensional foi realizado por meio da impressora modelo UP-895MD da *Sony Co.*® Posteriormente, as estruturas cardíacas foram medidas manualmente com o auxílio de um paquímetro em, pelo menos, cinco ciclos cardíacos consecutivos. O diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE) e a espessura diastólica da parede posterior do VE (EDPP) e do septo intraventricular (EDSIV) foram medidos no momento correspondente ao diâmetro máximo da cavidade. O diâmetro sistólico do VE (DSVE) e a espessura sistólica da parede posterior do VE (ESPP) e septo intraventricular (ESSIV) foram medidos no momento correspondente ao diâmetro mínimo da cavidade.

A MASSA VE foi calculada aplicando-se a seguinte fórmula (Pawlush *et al.*, 1993): $[(DDVE + EDPP + EDSIV)^3 - DDVE^3] \times 1,04$, onde 1,04 representa a densidade específica do miocárdio. O índice de massa do VE foi obtido normalizando-se a massa do VE pelo peso corporal (MASSA VE/PC). Para a obtenção da espessura relativa da parede do VE (ERelVE), o valor da espessura diastólica da parede posterior foi dividida pelo valor do diâmetro diastólico do VE (EDPP/DDVE).

A função sistólica do VE foi avaliada calculando-se a porcentagem de encurtamento do endocárdio, ΔD endo $([(DDVE - DSVE) / DDVE \times 100])$, porcentagem de encurtamento mesocárdico, ΔD meso $(\{[(DDVE + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} EDSIV) - (DSVE + \frac{1}{2} ESPP + \frac{1}{2} ESSIV)] / (DDVE + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} EDSIV)\})$, a velocidade de encurtamento da parede posterior do VE, VEPP (tangente máxima do movimento sistólico da parede posterior) e pelo cálculo do débito cardíaco (DC). Este último calculado utilizando a seguinte fórmula: $[(DDVE^3 - DSVE^3) \times \text{frequência cardíaca}]$. O ÍNDICE CARDÍACO foi determinado pelo cálculo da relação do débito cardíaco com o peso corpora (DC/PC).

No estudo da função diastólica do VE foram medidos os picos das velocidades do fluxo transvalvar mitral correspondentes as fases de enchimento inicial (onda E) e tardia, esta última conseqüente à contração atrial (onda A). Foram também calculados a relação onda E e onda A (E/A) e os tempos de desaceleração da onda E (TDE) e de relaxamento isovolumétrico do VE (TRIV).

Para a obtenção dos fluxos relacionados à função diastólica, o transdutor, operando em 5MHz, foi posicionado na região correspondente a ponta do coração na imagem denominada quatro câmaras. O TRIV foi obtido na imagem denominada cinco câmaras. As medidas de velocidade e tempo dos fluxos transvalvar mitral foram realizadas no monitor do ecocardiógrafo.

O ecocardiograma foi realizado 3, 6, 12 e 18 semanas após a realização do ato cirúrgico, dois dias após a realização do teste de esteira.

4.6 - ANÁLISE MORFOLÓGICA

As variáveis morfológicas para caracterizar os animais foram: peso corporal final (PC), peso do ventrículo esquerdo (VE), relação entre peso do VE e peso corporal final (VE/PC), peso do ventrículo direito (VD), relação entre o peso do VD e o peso corporal final (VD/PC) e peso total dos átrios (ATs) e relação entre o peso do ATs e o peso corporal final (ATs/PC).

4.7 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁGUA TECIDUAL

O teor de água tecidual, determinado pelas relações entre peso úmido (PU) e peso seco (PS), foi avaliado nos ventrículos esquerdo (VE) e direito (VD), átrios (ATs) e fragmentos de fígado e pulmão. A determinação do PU e PS foi realizada em balança analítica Gehara®, modelo BG 200, carga máxima 210 g e divisão de 0,001 g. A pesagem foi realizada depois da retirada do excesso do líquido aderente aos tecidos e a segunda, após mantê-los em estufa para esterilização marca Kamp®, regulada para 70°C por 48h para desidratação. A seguir, realizou-se o cálculo da relação PU/PS.

4.8 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos são apresentados por meio de medidas de posição e variabilidade, de acordo com a característica de distribuição dos dados.

Os parâmetros morfológicos e pesos úmido e seco foram analisados pelo teste t de Student, quando a variável mostrou-se aderente à distribuição normal de probabilidade e, pelo teste de Mann-Whitney quando esta característica estava ausente. Para comparações dos grupos no processo evolutivo, utilizou-se o método de análise de variância de medidas repetidas em dois grupos independentes complementado pelo procedimento de comparação múltipla de Bonferroni. Para as variáveis velocidade de exaustão (VEx), velocidade do limiar de lactato (VLL) e onda A, o procedimento estatístico considerou a técnica não paramétrica e para as outras variáveis, a técnica paramétrica (Zar, 1999). Em todos os testes fixou-se em 5% ($p < 0,05$) o nível de significância. Os gráficos apresentam os resultados em média e erro padrão ou mediana e semi-amplitude total. Os cálculos estatísticos foram realizados com o auxílio do pacote estatístico *SigmaStat 3.5 for Windows version* (Copyright® 2006, Systat Software Inc.).

5 – RESULTADOS

Dos 24 ratos do grupo estenose aórtica (GEAo), 10 morreram e dois apresentaram sinais de insuficiência cardíaca ao final do experimento, taquipnéia associada a derrame pleural, trombo em átrio esquerdo e hipertrofia de ventrículo direito, sendo excluídos do grupo. Dos 13 animais do grupo controle (GC) dois morreram antes do término do estudo. Assim, os grupos estudados foram constituídos de 11 animais no GC e 12 no GEAo.

O peso inicial dos ratos que finalizaram o estudo não diferiu, sendo 82 ± 5 g para o GC e 85 ± 5 g para o GEAo.

As características gerais dos animais ao final do experimento estão expostas na Tabela 1. O peso do ventrículo esquerdo e átrio total e as relações VE/PC, VD/PC e ATs/PC foram significativamente aumentados no GEAo.

Tabela 1 - Média e desvio padrão das características gerais dos ratos segundo grupo no final do período experimental

VARIÁVEL	GRUPO	
	GC (n=11)	GEAo (n=12)
PC (g)	492±69	453±52
VE (g)	0,86±0,13	1,18±0,22*
VD (g)	0,30±0,07	0,33±0,06
ATs (g)	0,10±0,02	0,17±0,05*
VE/PC (mg/g)	1,76±0,11	2,69±0,47*
VD/PC (mg/g)	0,60±0,09	0,73±0,15*
ATs/PC (mg/g)	0,20±0,03	0,39±0,04*

PC: peso corporal; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; ATs: átrios; n: número de animais. Teste t de Student para amostras independentes; * $p < 0,05$ em relação ao GC.

Não houve alteração significativa nas relações entre peso úmido e peso seco dos ventrículos esquerdo e direito, átrio total e fragmentos de fígado e pulmão (Tabela 2).

Tabela 2 - Média e desvio padrão da relação entre o peso úmido e seco dos ratos segundo grupo no final do período experimental

VARIÁVEL	GRUPO	
	GC (n=11)	GEAo (n=12)
VE	4,03±0,24	4,13±0,15
VD	4,05±0,47	4,36±0,41
ATs	4,53±0,50	4,84±0,73
FÍGADO*	3,14±0,72	3,23±0,44
PULMÃO	4,50±0,21	4,47±0,09

VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; ATs: átrios; n: número de animais. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos; teste t de Student para amostras independentes; * mediana±semi-amplitude, teste de Mann-Whitney; p<0,05.

A evolução do peso corporal dos animais é apresentada na Figura 6, onde é possível observar um peso superior para o GC somente na semana 12.

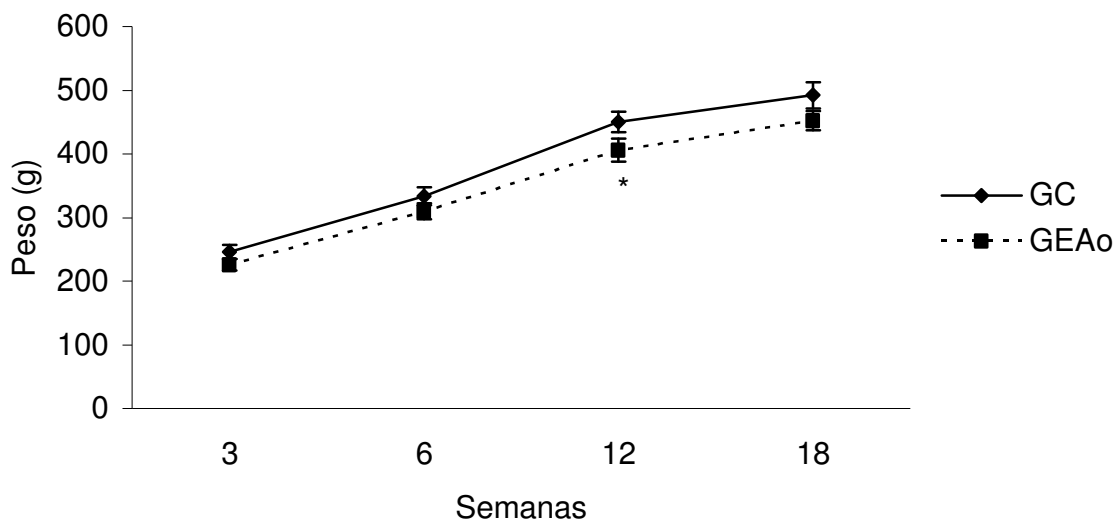


Figura 6 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão do peso corporal durante o período de avaliação. * *versus* GC. ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; p<0,05

A Tabela 3 apresenta a avaliação estrutural dos corações dos ratos determinada pelo ecocardiograma durante diferentes fases do processo evolutivo da remodelação cardíaca. O índice de massa do VE diminuiu nos animais do GC entre

a 6^a e 12^a semana, não se apresentando alterado no GEAO. O GEAO apresentou aumento significativo nesse índice em relação ao GC nos momentos 6, 12 e 18. A relação DDVE/PC, diminuiu significativamente em ambos os grupos entre a 3^a, 6^a e 12^a semanas. Não houve diferença entre os grupos nos diferentes períodos avaliados na relação DDVE/PC. O diâmetro sistólico do VE (DSVE) aumentou nas semanas 6 e 12 em relação a 3^a semana, no GC. Nos animais do GEAO, o DSVE aumentou significativamente nas 6^a, 12^a e 18^a semanas em relação a 3^a semana, não sendo diferente entre a 6^a e 12^a semanas. Na comparação entre grupos, o DSVE se apresentou significativamente diminuído em todos os períodos avaliados nos animais com estenose aórtica.

Tabela 3 - Média e desvio padrão do peso e da estrutura cardíaca avaliada pelo ecocardiograma dos ratos segundo grupo e período de avaliação

VARIÁVEL	GRUPO	PERÍODO DE AVALIAÇÃO (semanas)			
		3	6	12	18
INDICE MASSA VE (g/kg)	GC	3,02±0,26aB	2,62±0,36aAB	2,25±0,32aA	2,14±0,32aA
	GEAo	3,46±0,51aA	3,29±0,66bA	3,26±0,58bA	3,01±0,96bA
DDVE/PC (mm/kg)	GC	31,27±3,64aC	25,33±3,27aB	19,34±2,05aA	17,51±2,32aA
	GEAo	30,80±5,18aC	24,93±3,01aB	19,99±2,64aA	17,42±2,80aA
DSVE (mm)	GC	3,67±0,39bA	4,32±0,47bB	4,27±0,45bB	4,20±0,55bAB
	GEAo	2,38±0,64aA	2,98±0,43aB	3,20±0,48aBC	3,50±0,99aC
EDPP (mm)	GC	1,42±0,11aA	1,42±0,11aA	1,52±0,07aA	1,59±0,10aA
	GEAo	1,68±0,26bA	1,77±0,18bA	2,04±0,20bB	2,12±0,34bB
EDSIV (mm)	GC	1,46±0,11aA	1,46±0,11aA	1,56±0,08aA	1,60±0,08aA
	GEAo	1,70±0,26bA	1,79±0,18bA	2,04±0,21bB	2,12±0,34bB
ERelVE	GC	0,19±0,02aA	0,17±0,01aA	0,18±0,01aA	0,19±0,02aA
	GEAo	0,25±0,06bB	0,23±0,04bA	0,26±0,03bAB	0,28±0,06bB
AE (mm)	GC	5,08±0,76aA	5,60±0,62aA	5,76±0,57aA	5,78±0,73aA
	GEAo	5,41±0,47aA	6,22±0,42bB	6,43±0,64bB	6,43±0,91bB
AE/PC (mm/kg)	GC	20,86±2,52aC	16,95±2,29aB	13,08±2,76aA	11,83±2,65aA
	GEAo	24,22±2,73bC	20,40±2,92bB	16,07±2,11bA	14,43±2,95bA
AE/AO	GC	1,57±0,20aA	1,57±0,19aA	1,53±0,19aA	1,42±0,18aA
	GEAo	1,70±0,24aA	1,71±0,17aA	1,69±0,21aA	1,66±0,30bA

PC: peso corporal; DDVE e DSVE: diâmetros diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo; EDPP: espessura diastólica da parede posterior; ERelVE: espessura relativa do ventrículo esquerdo; EDSIV: espessura diastólica do septo intraventricular; AO: diâmetro da aorta; AE: diâmetro do átrio esquerdo. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa para comparação de grupos fixado o momento; letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa para comparação de momentos dentro do grupo; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; $p < 0,05$.

A espessura diastólica da parede posterior (EDPP) e do septo intraventricular (EDSIV), apresentaram comportamento semelhante em ambos os grupos durante todo o período experimental. EDPP e EDSIV apresentaram-se aumentados nos momentos 12 e 18 em relação aos momentos 3 e 6, nos animais do GEAO. Além disso, esses parâmetros mostraram-se superiores no GEAO em todos os momentos em relação aos animais do GC. A espessura relativa do VE não se alterou entre os períodos no GC. Entretanto, houve diferença significativa entre as semanas 6 e 18 no GEAO. Em todos os momentos, o GEAO apresentou ErelVE superior ao GC. Não houve variação do átrio esquerdo no GC em todos os momentos. No GEAO o átrio esquerdo foi maior a partir da semana 6, não sofrendo posterior variação. O átrio esquerdo apresenta valores mais elevados no GEAO do que no GC a partir da 6ª semana. A relação AE/PC diminuiu entre a 3ª, 6ª e 12ª semanas em ambos os grupos. Esta relação foi maior no GEAO que o GC em todos os momentos estudados. Não houve variação na relação AE/AO entre os diferentes momentos em ambos os grupos. O grupo GEAO apresentou aumento significativo do AE/AO na 12ª semana.

A frequência cardíaca e os parâmetros da avaliação funcional sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo dos ratos por ecocardiograma são descritos nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 - Média e desvio padrão da função sistólica do ventrículo esquerdo dos ratos por ecocardiograma segundo grupo e período de avaliação

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

FC: frequência cardíaca; VE: ventrículo esquerdo; Δ D endo: porcentagem de encurtamento endocárdico; Δ D meso: porcentagem de encurtamento mesocárdico; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior; DC: débito cardíaco; IND CARD: índice cardíaco, determinado pela relação DC/PC. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa para comparação de grupos fixado o momento; letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa para comparação de momentos dentro do grupo; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; $p < 0,05$.

A frequência cardíaca não diferiu entre grupos e momentos. Não houve uma diferença no Δ D endocárdico e mesocárdico em função do tempo no grupo controle. No GE Ao a Δ D endo diferiu entre a 3^a, 12^a e 18^a semanas. A Δ D meso no GE Ao foi diferente entre a 3^a e 18^a semanas. As Δ D endo e meso foi maior no GE Ao em todos os momentos, com exceção da 18^a semana em que o Δ D meso foi igual em ambos os grupos (Figuras 7 e 8).

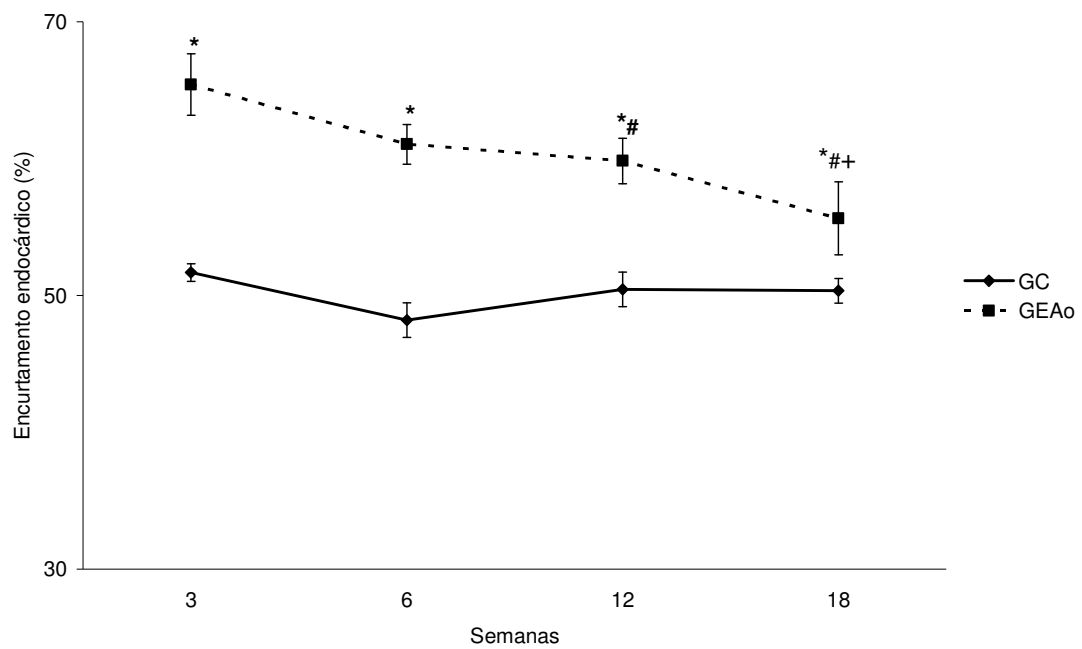


Figura 7 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão da porcentagem de encurtamento endocárdico (ΔD endo) durante o período de avaliação. * *versus* GC; # *versus* semana 3; + *versus* semana 6; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; $p < 0,05$

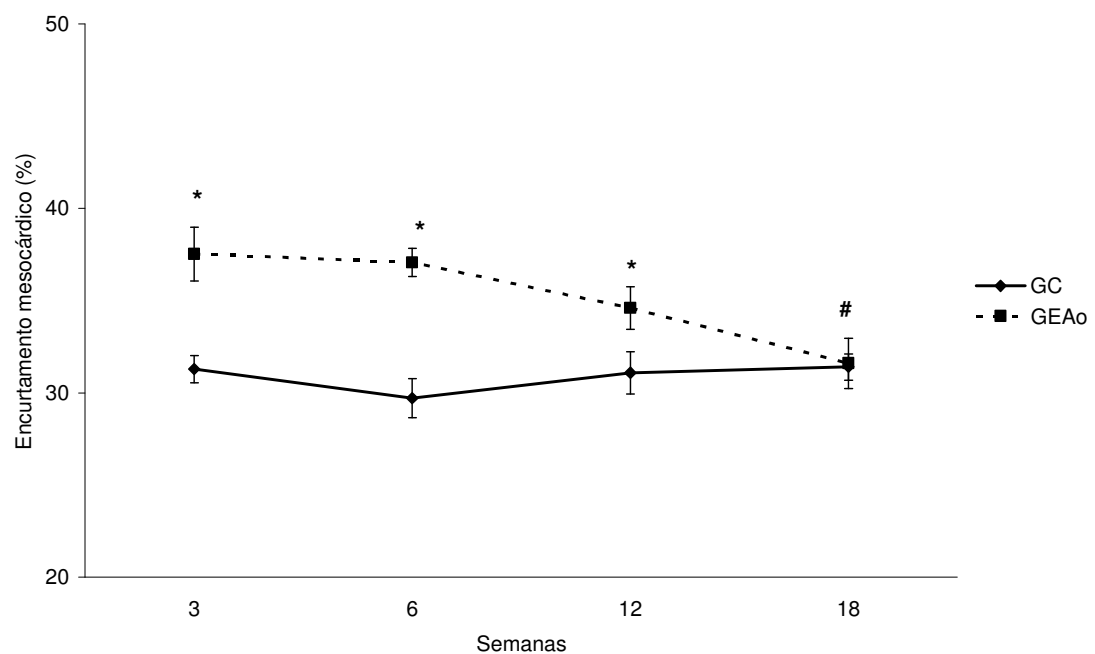


Figura 8 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão da porcentagem de encurtamento mesocárdico (ΔD meso) durante o período de avaliação. * *versus* GC; # *versus* semana 3 e 6; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; $p < 0,05$

A velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP) quando avaliada intra-grupo, mostrou-se significativamente maior na 18ª semana em relação às semanas 3 e 6, no GC e não alterada no GEAO. Houve significativa redução do VEPP nos animais do GEAO na 18ª semana em relação aos animais controle. O débito cardíaco foi significativamente aumentado nas semanas 12 e 18 em relação à semana 3 nos animais do GC e entre as semanas 3 e 6 no GEAO. Houve diferença significativa no débito cardíaco entre grupos somente no último momento avaliado, semana 18. Observou-se uma queda no índice cardíaco na semana 12 e 18 em relação às semanas anteriores, em ambos os grupos (Figura 9).

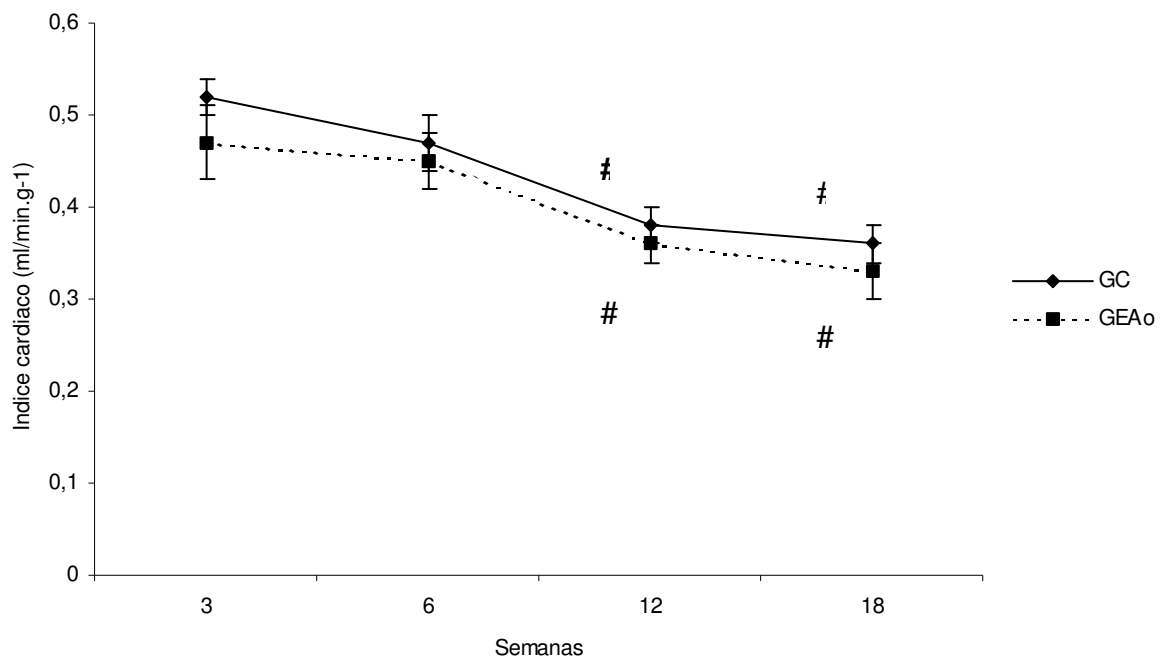


Figura 9 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão do índice cardíaco durante o período de avaliação. # *versus* semanas 3 e 6; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; $p < 0,05$

Tabela 5 - Média e desvio padrão da função diastólica do ventrículo esquerdo dos ratos por ecocardiograma segundo grupo e período de avaliação

VARIÁVEL	GRUPO	PERÍODO DE AVALIAÇÃO (semanas)			
		3	6	12	18
Onda E (cm/s)	GC (n=11)	90,36±8,31aA	93,00±12,45aA	87,91±13,07aA	79,36±9,87aA
	GEAo (n=12)	96,41±16,25aA	103,00±16,64aA	89,58±12,07aA	88,92±26,69aA
Onda A* (cm/s)	GC (n=10)	49,00±7,50aA	51,00±7,00aA	52,50±9,50aA	51,50±24,50aA
	GEAo (n=11)	72,00±19,50bA	73,00±41,00bA	70,00±17,00bA	88,00±43,50aA
E/A	GC (n=10)	1,82±0,29bB	1,76±0,16bAB	1,74±0,25bAB	1,43±0,36bA
	GEAo (n=11)	1,37±0,25aA	1,32±0,30aA	1,28±0,25aA	1,09±0,54aA
TRIV (ms)	GC (n=10)	21,00±3,83aA	22,50±3,78aA	21,70±5,60aA	23,40±4,43aA
	GEAo (n=12)	18,67±4,71aA	18,33±5,63aA	24,50±6,11aAB	26,00±11,14aB
TDE (ms)	GC (n=10)	51,44±10,88bA	51,11±8,02aA	59,10±6,86bA	50,57±,70bA
	GEAo (n=06)	43,74±7,37aAB	48,00±5,02aB	47,83±10,36aAB	35,60±7,82aA

E/A: razão entre picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral; TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico do VE; TDE: tempo de desaceleração da onda E mitral. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa para comparação de grupos fixado o momento; letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa para comparação de momentos dentro do grupo; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; * mediana e semi-amplitude total, teste de Friedman entre momentos e Mann-Whitney entre grupos; $p < 0,05$.

As ondas E e A não apresentaram alterações nos diferentes períodos de avaliação, nos grupos controle e EAo. Enquanto a onda E foi igual nos dois grupos, a onda A foi significativamente maior no GE Ao do que no GC nas 3^a, 6^a e 12^a semanas. A relação E/A apresentou-se significativamente elevada no GC na semana 3 quando comparada à semana 18. No GE Ao não houve diferença entre os momentos. A relação E/A mostrou-se superior no GC nos diferentes momentos avaliados (Figura 10). O tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) foi o mesmo para o GC em todos os momentos. No GE Ao foi semelhante nas 12^a e 18^a semanas; esta última, diferiu das semanas 3 e 6. Não houve diferença no TRIV entre os

grupos em nenhum momento avaliado. O tempo de desaceleração da onda E (TDE) não foi alterado nos diferentes momentos no GC. No grupo GE Ao o TDE apresentou-se diminuído significativamente na semana 18 em relação a semana 6. O TDE se apresentou diminuído no GE Ao nos momentos 3, 12 e 18 em relação aos animais do GC.

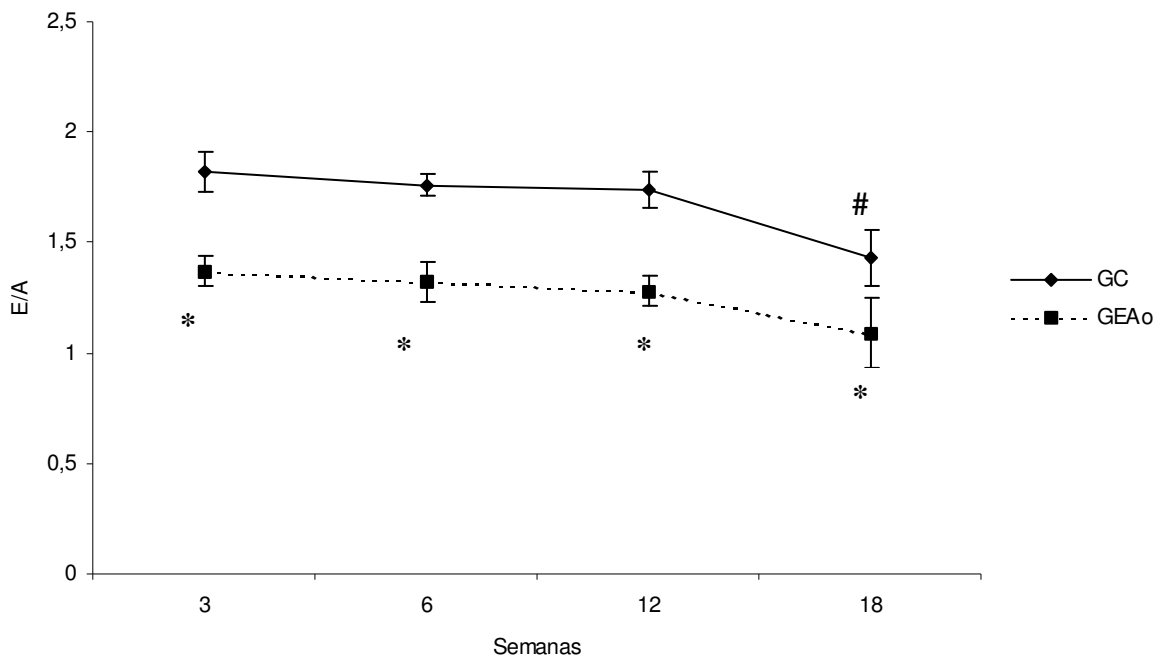


Figura 10 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão da relação onda E e onda A (E/A) durante o período de avaliação. GC: grupo controle (n=10); GE Ao: grupo estenose aórtica (n=11). * *versus* GC; # *versus* semana 3; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; $p < 0,05$

Os resultados da avaliação da tolerância ao esforço estão apresentados na Tabela 6. Não se observou diferença significativa na velocidade de exaustão (VEx) durante o período de acompanhamento em ambos os grupos e nem entre os grupos. Ao consideramos o tempo total de realização do teste (TTT), não houve diferenças entre os momentos ou entre grupos (Figura 11). A velocidade do limiar de lactato (VLL) não se apresentou diferenciada entre momentos quando fixados os grupos e entre grupos. A concentração de lactato na velocidade do limiar de lactato ($[LAC]_{LL}$) não foi diferente entre os momentos avaliados no GC, apresentando-se elevada somente na semana 3 no GE Ao (Figura 12). A $[LAC]_{LL}$ não diferiu entre os

grupos durante todo o período experimental. A concentração de lactato no momento da exaustão ($[LAC]_{EX}$) não foi diferente entre momentos ou grupos (Figura 13).

Tabela 6 - Média e desvio padrão dos parâmetros de tolerância ao esforço dos ratos durante teste incremental em esteira segundo grupo e período de avaliação

VARIÁVEL	GRUPO	PERÍODO DE AVALIAÇÃO (semanas)			
		3	6	12	18
VEx* (m/min)	GC	15,0±3,0aA	15,0±3,0aA	15,0±3,0aA	15,0±3,0aA
	GEAo	15,0±3,0aA	15,0±1,5aA	13,5±3,0aA	15,0±4,5aA
TTT (seg)	GC	657±120aA	680±151aA	674±148aA	694±132aA
	GEAo	612±120aA	580±107aA	582±114aA	609±116aA
VLL* (m/min)	GC	9,0±1,5aA	9,0±4,5aA	9,0±4,5aA	12,0±4,5aA
	GEAo	9,0±3,0aA	9,0±3,0aA	9,0±3,0aA	9,0±4,5aA
$[LAC]_{LL}$ (mmol/L)	GC	1,85±0,54aA	1,59±0,34aA	1,50±0,33aA	1,71±0,44aA
	GEAo	2,15±0,95aB	1,43±0,38aA	1,35±0,21aA	1,50±0,37aA
$[LAC]_{EX}$ (mmol/L)	GC	3,48±0,73aA	3,74±1,63aA	3,33±0,89aA	3,70±1,37aA
	GEAo	3,68±0,70aA	4,27±1,51aA	3,37±0,84aA	3,89±1,56aA

VEx: velocidade do estágio de exaustão; TTT: tempo total do teste; VLL: velocidade do limiar de lactato; $[LAC]_{LL}$: concentração de lactato na velocidade do limiar de lactato; $[LAC]_{EX}$: concentração de lactato na exaustão. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa para comparação de grupos fixado o momento; letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa para comparação de momentos dentro do grupo; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; * mediana±semi-amplitude; teste de Friedman entre momentos e Mann-Whitney entre grupos; $p < 0,05$.

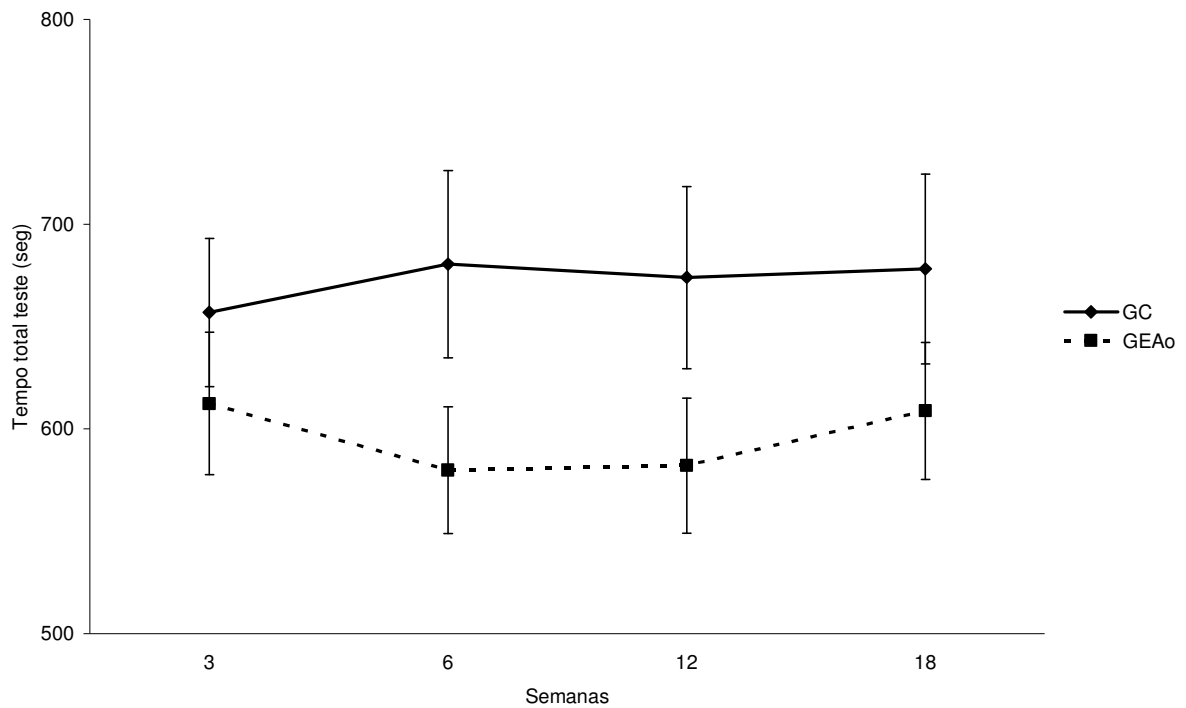


Figura 11 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão do tempo total do teste incremental em esteira em ratos nos diferentes períodos de avaliação. ANOVA complementada com o teste de Bonferroni

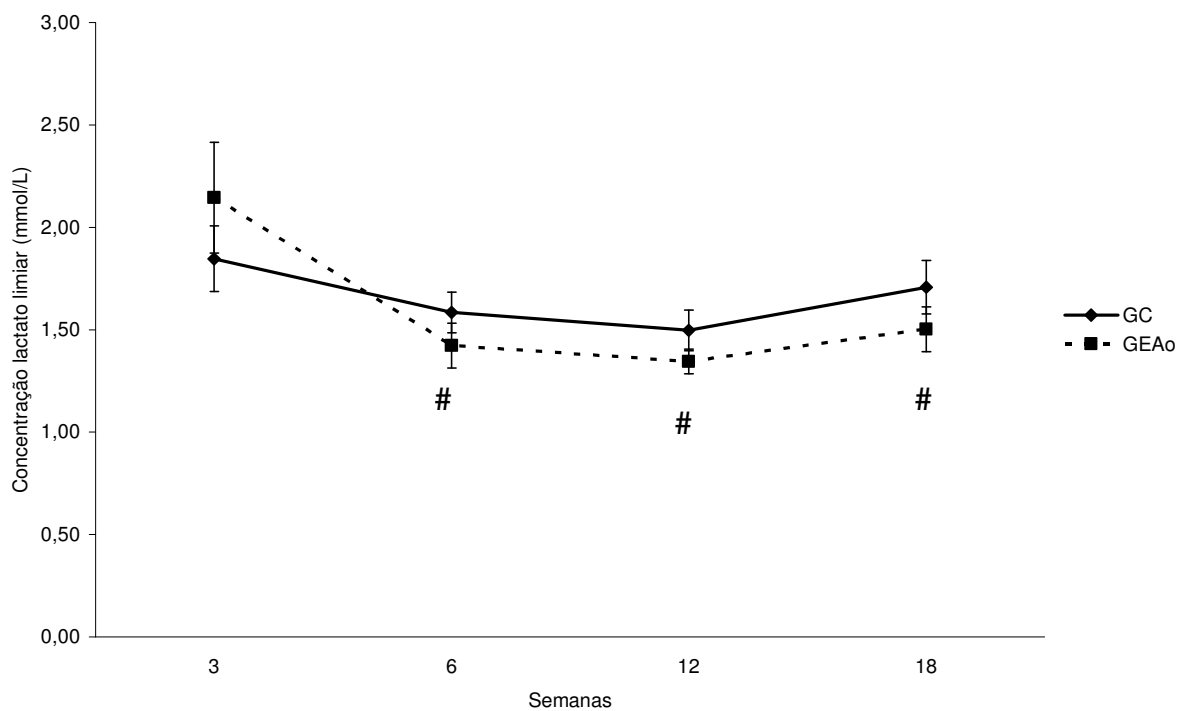


Figura 12 - Gráfico do comportamento da média e erro padrão da concentração de lactato no limiar ($[LAC]_{LL}$) em teste incremental em esteira em ratos nos diferentes períodos de avaliação. # versus semana 3; ANOVA complementada com o teste de Bonferroni; $p < 0,05$

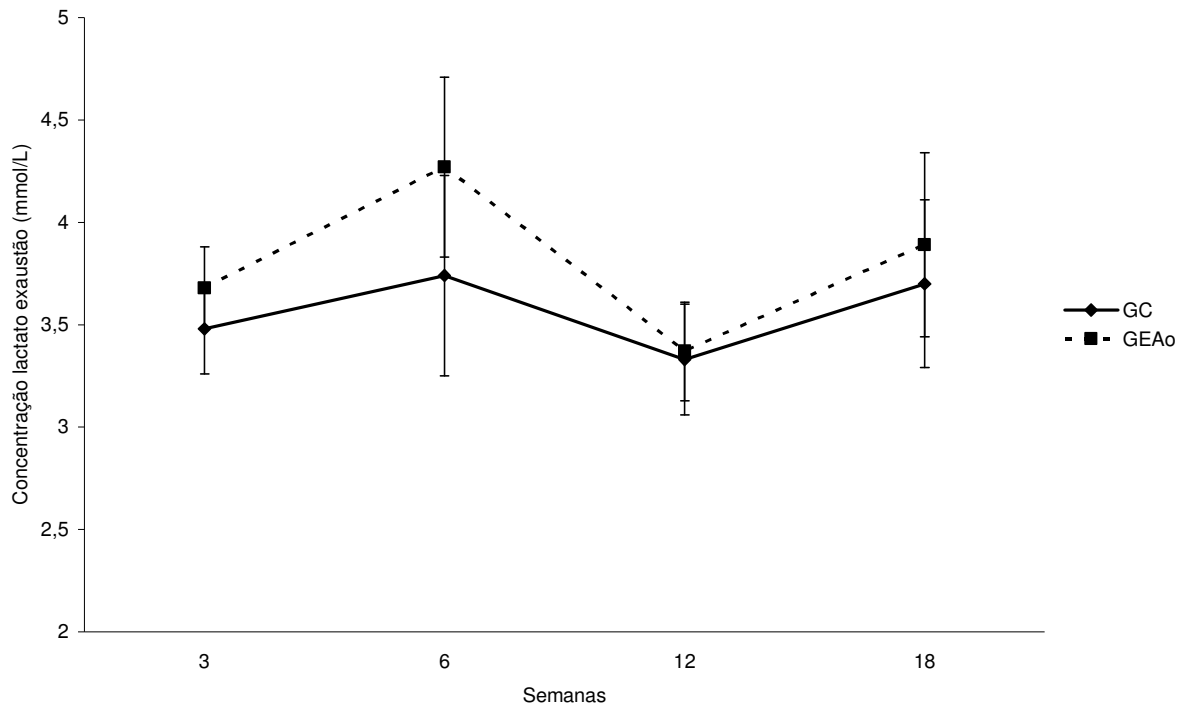


Figura 13 – Gráfico do comportamento da média e erro padrão da concentração de lactato no momento da exaustão ($[LAC]_{EX}$) em teste incremental em esteira em ratos nos diferentes períodos de avaliação. ANOVA complementada com o teste de Bonferroni

Neste estudo foi avaliada a tolerância ao esforço físico e a função cardíaca durante o processo de remodelação cardíaca em ratos submetidos à estenose aórtica supravalvar. O resultado do experimento mostra que a mortalidade no GE Ao durante o período observacional foi de 41,6%, enquanto que no grupo controle (GC) foi de 15,4%. As mortes no GE Ao ocorreram em todos os períodos, sendo quatro animais até a 3ª semana, dois entre a 3ª e 6ª semanas e quatro após a semana 6. No GC as duas mortes ocorreram entre as 6ª e 12ª semanas de observação. Autores têm verificado, neste modelo experimental, que a maior mortalidade ocorre entre 6 e 21 semanas (Feldman *et al.*, 1993; Weinberg *et al.*, 1994). A mortalidade deste estudo está de acordo com outros trabalhos que, utilizando o mesmo modelo, observaram taxas de mortalidade de 30 a 49% (Feldman *et al.*, 1993; Weinberg *et al.*, 1994; Litwin *et al.*, 1995; Mestrinel, 2003; Bregagnollo *et al.*, 2005). Apesar das causas das mortes não terem sido identificadas neste trabalho, os prováveis mecanismos podem ser: disfunção ventricular esquerda progressiva, arritmias e isquemia subendocárdica (Mestrinel, 2003).

Ao final do período de avaliação, dos 14 animais do GE Ao, dois (14,28%) apresentaram sinais de insuficiência cardíaca, taquipnéia, derrame pleural, trombo em átrio esquerdo e hipertrofia de ventrículo direito, sendo excluídos deste experimento.

A remodelação cardíaca que ocorre frente a uma agressão, por exemplo, a estenose aórtica supravalvar, pode acarretar disfunção ventricular. O principal critério para o diagnóstico dessa disfunção, em estudos experimentais, tem sido o nível da pressão final diastólica do VE, avaliado por método hemodinâmico (Sjaastad *et al.*, 2000). Entretanto, para sua determinação é necessário canular uma das artérias carótidas, fato que prejudica os estudos longitudinais. Além disso, a cateterização do ventrículo esquerdo pode causar danos à valva aórtica ou afetar significativamente a performance cardíaca (Sjaastad *et al.*, 2000).

O ecocardiograma representa uma alternativa para o estudo da função ventricular e pode oferecer importantes informações sobre desempenho cardíaco em roedores (Sjaastad *et al.*, 2000). Ele permite avaliar: 1) a morfologia e função do coração (Litwin *et al.*, 1995; Guazzi *et al.*, 2001; Bayat *et al.*, 2002; Paiva *et al.*, 2003; Bregagnollo *et al.*, 2006 e 2007); 2) a evolução da disfunção cardíaca causada por diferentes tipos de agressão (Sjaastad *et al.*, 2000; Cantor *et al.*, 2005) e 3) os efeitos de diferentes intervenções sobre o coração (Satoh *et al.*, 2003; Bregagnollo *et al.*, 2005). É um método versátil, seguro, indolor, não invasivo e importante para análises seriais (Ono *et al.*, 2002). É um processo que causa menos alterações fisiológicas cardíacas do que técnicas invasivas, como a hemodinâmica (Tanaka *et al.*, 1996). É amplamente aceito e utilizado para a determinação da massa do ventrículo esquerdo, embora possa superestimar os valores determinados pós-sacrifício (Cantor *et al.*, 2005).

Os dados ecocardiográficos neste estudo mostraram importantes alterações estruturais cardíacas durante o processo da evolução da remodelação. Vários parâmetros, indicadores de hipertrofia como, EDPP, EDSIV e EReIV, apresentaram-se alterados a partir da 3ª semana e o ÍNDICE MASSA VE após a 6ª semana. A análise da variável EReIV indicou que a estenose aórtica supra-avalvar acarretou, precocemente, hipertrofia concêntrica do VE, mantida até o final do experimento. Esta remodelação ventricular foi confirmada pela avaliação estrutural cardíaca dos ratos após o sacrifício (Tabela 1).

O desenvolvimento da hipertrofia ventricular esquerda, neste experimento, foi uma resposta adaptativa à elevação da pressão ventricular, desde que o aumento da espessura da parede e diminuição da cavidade pode normalizar o estresse parietal e, conseqüentemente, a função ventricular. A hipertrofia concêntrica é decorrente do aumento do diâmetro dos miócitos com pouca ou nenhuma modificação no comprimento celular (Grossman *et al.*, 1975 e 1980; Rakusan, 1998). Concomitantemente observam-se, modificações nas proporções dos componentes intersticiais do miocárdio, incluindo acúmulo de colágeno na musculatura ventricular (Buccino *et al.*, 1969; Weber *et al.*, 1989). O estímulo para esta remodelação cardíaca ocorre por fatores mecânicos e bioquímicos que agem nos receptores, canais iônicos e integrinas presentes na membrana sarcolemal, sinalizadores bioquímicos citosólicos que desencadeiam aumentada síntese de

proteínas e alterações na expressão gênica (Cicogna *et al.*, 2000; Okoshi *et al.*, 2004).

Os dados estruturais cardíacos deste trabalho, determinados por ecocardiograma ou pós-sacrifício, estão de acordo com inúmeros trabalhos que detectaram hipertrofia de ventrículo esquerdo em diferentes fases da remodelação cardíaca pós-indução de estenose aórtica supravalvar (Weinberg *et al.*, 1994; Litwin *et al.*, 1995; Ribeiro *et al.*, 2003; Okoshi *et al.*, 2004; Gonçalves *et al.*, 2005). Dados ecocardiográficos da literatura relativos ao DSVE são discordantes dos nossos achados, uma vez que não observaram alterações dessa variável no GEAO, quando comparado ao GC, após seis semanas de indução de EAo (Gonçalves *et al.*, 2005; Bregagnollo *et al.*, 2007). Além da hipertrofia ventricular esquerda, os resultados mostram que os ratos do GEAO, no momento do sacrifício, apresentavam uma hipertrofia do ventrículo direito avaliada pela relação VD/PC. Desde que nesse experimento, o diagnóstico de insuficiência cardíaca foi feito pela associação de dois sinais clínico-morfológicos, descritos anteriormente, o encontro, isolado, do aumento nessa relação, não significa que os ratos do GEAO estariam com insuficiência cardíaca. Entretanto, o aumento dos átrios e sua relação com o peso corporal mostram que os ratos, no momento do sacrifício, apresentavam disfunção ventricular esquerda.

A análise da função sistólica do ventrículo esquerdo mostrou melhoria dos encurtamentos endocárdico e mesocárdico (ΔD endo e ΔD meso), em relação ao grupo controle, que deterioraram-se durante o processo de remodelação (Figuras 7 e 8). Apesar da piora da função sistólica ao longo do tempo, o GEAO ainda manteve resultados superiores ao GC. O índice cardíaco, parâmetro que avalia o coração como bomba, mostrou-se igual ao GC (Figura 9). Os resultados mostram que o desempenho sistólico do ventrículo esquerdo do GEAO foi superior ou igual ao GC durante todo processo de remodelamento cardíaco.

Não foram encontrados trabalhos que avaliaram a função sistólica sequencialmente nos mesmos períodos analisados nesse experimento, 3, 6, 12 e 18 semanas. O resultado observado na 6^a semana se assemelha aos de Litwin *et al.* (1995), Ribeiro *et al.* (2003), Gonçalves *et al.* (2005) e Bregagnollo *et al.* (2005 e 2007) que verificaram melhoria da função sistólica neste período. Okoshi *et al.* (2004) também constataram aumento do desempenho sistólico após oito semanas de indução de estenose aórtica em ratos.

A melhoria da função sistólica no GEAo em relação ao GC, deve estar relacionada ao desenvolvimento da hipertrofia concêntrica, normalização da tensão sistólica e manutenção dos limites fisiológicos do consumo de oxigênio das fibras miocárdicas. A perda progressiva da função sistólica pode estar relacionada ao remodelamento geométrico adverso da cavidade, a alterações da composição do miocárdio, ao comprometimento progressivo da contratilidade ou a combinação destes fatores (Boluyt *et al.*, 1994; Cicogna *et al.*, 2000; Boluyt *et al.*, 2005; Bregagnollo *et al.*, 2007).

Ao contrário da função sistólica, o desempenho diastólico do GEAo mostrou-se deteriorado, precocemente, em relação ao GC, desde a 3ª semana pós-indução de estenose aórtica. Neste grupo ocorreu aumento da onda A, redução da relação E/A e do tempo de desaceleração da onda E (TDE).

Os resultados, em relação a E/A, diferem de Gonçalves *et al.* (2005) que não observaram alteração nesta relação em ratos com seis semanas de EAo. Também discordam de Litwin *et al.* (1995), Ribeiro *et al.* (2003) e Bregagnollo *et al.* (2005 e 2007) que verificaram, respectivamente, aumento da relação E/A após 12 e 18, 12 ou 21 semanas de EAo. Essa discrepância de resultados pode ser devido a dificuldades técnicas na obtenção de boas imagens para análise do efeito Doppler e a alta frequência cardíaca destes animais que funde as ondas E e A dificultando a mensuração da função diastólica (Pritchett *et al.*, 2003; Gelape *et al.*, 2005).

Apesar da inconsistência dos resultados em relação à função diastólica determinada pela E/A, o diâmetro do átrio esquerdo, nos trabalhos de Ribeiro *et al.* (2003) e Gonçalves *et al.* (2005), mostrou-se significativamente aumentado após seis semanas de EAo. Esses dados estão de acordo com os observados neste trabalho, em que se constatou aumento do átrio esquerdo, isoladamente ou normalizado pelo peso corporal, após a 6ª semana. Esta alteração no átrio esquerdo reflete disfunção diastólica de ventrículo esquerdo, desde que a função sistólica mostrou-se melhorada em relação ao GC.

O estudo da função diastólica do VE é de grande importância, tendo em vista que as alterações no enchimento desta cavidade podem anteceder a disfunção sistólica (Jessup & Brozena, 2003). Atualmente, a forma mais viável e factível de avaliação da função diastólica é a análise das velocidades do fluxo transmitral, durante a fase inicial do enchimento diastólico do ventrículo esquerdo, representado pela onda E, e do enchimento ventricular durante a contração atrial, expressa pela

onda A. Igualmente, pode-se obter valores referentes à relação E/A, o tempo de desaceleração da onda E e o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) (Soares *et al.*, 2005). A observação de valores menores de onda E e da relação E/A, quando comparados com o grupo controle, sugerem a presença de disfunção diastólica (Mady *et al.*, 1997). Outra forma de determinação da severidade da disfunção diastólica é a avaliação do átrio esquerdo pela ecocardiografia (Sousa, 2006). Durante a diástole ventricular, o átrio esquerdo é exposto diretamente às pressões intraventriculares através da valva mitral aberta. As eventuais elevações de pressões de enchimento ventricular acarretam aumento do volume e da pressão atrial (Jessup & Brozena, 2003) e conseqüente remodelamento atrial.

A piora da função diastólica observada nesse estudo pode estar relacionada a alterações das propriedades elásticas e a distúrbios no manejo do cálcio intracelular. Estudos experimentais têm associado o aumento da rigidez miocárdica na EAO à elevação da deposição das fibras colágenas (Jalil *et al.*, 1989; Boluyt *et al.*, 2005). As alterações das proteínas relativas a recaptura de cálcio intracelular, principalmente a bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático, também têm sido relacionadas com a disfunção diastólica na EAO (Boluyt *et al.*, 2005).

Enquanto os dados ecocardiográficos demonstraram disfunção diastólica a partir da 3ª semana e função sistólica preservada ou melhorada, o teste de esforço físico não detectou qualquer alteração da capacidade funcional durante o período avaliado. Esse fato pode ser decorrente de: 1) protocolo não adequado; 2) parâmetros não sensíveis para determinar a alterações da capacidade funcional e 3) grau de disfunção ventricular.

O protocolo do teste de esforço incremental proposto no presente trabalho foi considerado adequado pelos seguintes motivos: i) metodologia semelhante foi utilizada em outros estudos experimentais (Bayat *et al.*, 2002; Koh *et al.*, 2003; Carvalho *et al.*, 2005); ii) possibilitou impor aos animais estresse físico programado e individualizado; iii) o aumento progressivo da carga acarretou quebra da linearidade na curva de concentração de lactato, permitindo a determinação do limiar de lactato; iiiii) não ocorreram mortes durante a realização dos testes ou nos períodos imediatamente posteriores, indicando, que mesmo sendo um teste máximo, pode se utilizado no modelo de EAO experimental.

Em relação ao item 2, consideramos que os parâmetros utilizados neste estudo para avaliar a tolerância ao esforço físico, velocidade de exaustão (VEx),

tempo total do teste (TTT), velocidade do limiar de lactato (VLL), concentrações de lactato no limiar ($[LAC]_{LL}$) e na exaustão ($[LAC]_{EX}$) foram adequados pelas seguintes razões: i) vários trabalhos experimentais utilizaram a VLL e/ou a VEx em ratos normais (Pilis *et al.*; 1993; Morris *et al.*, 1993; Langfort *et al.*, 1996; Carvalho *et al.*, 2005; Manchado *et al.*, 2005; Manchado & Gobatto, 2006; Contarteze *et al.*, 2007), com estenose aórtica abdominal (Morris *et al.*, 1993) e com infarto do miocárdio (Bech *et al.*, 1989 e 1990); ii) o TTT também foi empregado na avaliação da capacidade funcional de ratos infartados (Koh *et al.*, 2003; Rolim *et al.*, 2006). Em pacientes com estenose aórtica assintomáticos foi considerado um ótimo preditor do aparecimento de sinais de insuficiência cardíaca (Das *et al.*, 2005); iii) a $[LAC]_{LL}$ e a $[LAC]_{EX}$ têm sido utilizadas em estudos experimentais e em seres humanos como marcador de intensidade de trabalho físico (Pilis *et al.*, 1993; Langfort *et al.*, 1996; Gobatto *et al.*, 2001; Billat *et al.*, 2003; Manchado *et al.*, 2005; Manchado & Gobatto, 2006; Contarteze *et al.*, 2007).

Os resultados observados neste trabalho, como referido anteriormente, mostraram que todos os parâmetros utilizados para avaliar a tolerância ao esforço físico não mostraram diferenças significativas entre os grupos controle e estenose aórtica em todas as fases estudadas. O TTT foi o único parâmetro que mostrou forte tendência em estar diminuído nos animais com EAo ($0,05 < p < 0,10$).

Não foram encontrados trabalhos que usaram metodologia semelhante ao utilizado neste experimento. Outros autores como, Morris *et al.*, (1993), avaliando ratos com oito semanas após indução de estenose aórtica abdominal, não observaram diferença na duração, intensidade e consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) durante teste em esteira, quando comparado ao grupo controle. Bech *et al.* (1989), utilizando ratos 1, 3, 7, 9 e 13 semanas após infarto do miocárdio observaram redução da capacidade funcional, avaliada pelo limiar de lactato, a partir da primeira semana, que manteve-se por todo período estudado; esses resultados foram observados em ratos com grandes áreas infartadas. Langfort *et al.* (1996), em ratos com elevação de adrenalina circulante por 6 e 12 horas, verificaram menor duração do teste, maior concentração de lactato, no limiar e na exaustão, e menor velocidade do limiar de lactato do que nos ratos normais. Estudo de Pfeifer *et al.* (2001) observou diminuição do tempo de teste e das enzimas oxidativas do gastrocnêmio em ratos com infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca, sem, no entanto, encontrar correlação entre as variáveis. Guazzi *et al.* (2001) verificaram em

ratos hipertensos redução da capacidade funcional, avaliada pelo tempo de exaustão, entre a 9ª e 12ª semanas. Bayat *et al.* (2002), avaliando camundongos, 12 e 18 semanas após grande infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca, observaram que o tempo total de teste e a carga de trabalho de exaustão diferiram significativamente do grupo controle, nos dois períodos estudados. Koh *et al.* (2003) verificaram em ratos infartados que o tempo de exaustão, medido em diferentes períodos, diferiu do controle na 12ª semana. Rolim *et al.* (2006) avaliando ratos com insuficiência cardíaca, também por infarto do miocárdio, observaram um tempo de exaustão menor no grupo infartado. Os resultados citados acima, nos levam a concluir que as variáveis utilizadas neste trabalho permitem a detecção de alterações na capacidade funcional, principalmente quando há disfunção ventricular grave.

Em relação ao item 3, a ausência de alterações do teste de esforço no grupo de animais com EAo poderia estar relacionada com o grau de disfunção do ventrículo esquerdo. Os resultados desse estudo mostram que, embora houvesse deterioração da função sistólica no GEAO durante o processo de remodelação (Figuras 7 e 8), ela manteve-se igual ou superior ao GC. Ao contrário da função sistólica, o desempenho diastólico do GEAO mostrou-se deteriorado, precocemente, em relação ao GC, desde a 3ª semana pós-indução de estenose aórtica. Como referido anteriormente, em outros estudos da literatura, o teste de esforço detectou diminuição da capacidade funcional na maioria dos animais com disfunção ventricular grave e insuficiência cardíaca (Bech *et al.* 1989; Morris *et al.*, 1993; Koh *et al.*, 2003; Rolim *et al.*, 2006).

Os mecanismos responsáveis por limitar a capacidade de exercício não têm sido completamente esclarecidos. Alguns dos possíveis fatores seriam inadequado fluxo para a musculatura esquelética, secundária à disfunção sistólica e/ou diastólica e alterações no metabolismo da musculatura periférica (Cuocolo *et al.*, 1990; Levy *et al.*, 1996; Sumimoto *et al.*, 1999; Guazzi *et al.*, 2001; Ventura-Clapier *et al.*, 2002; Ritchie & Delbridge, 2006). Desde que não ocorreu alteração na resposta ao esforço físico durante o teste incremental, os fatores citados não estavam presentes, ou não foram de magnitude suficiente, nos ratos com estenose aórtica supra-avalvar deste estudo. A disfunção diastólica observada nestes animais possivelmente não apresentou considerável grandeza para prejudicar a função sistólica durante o teste de esforço incremental. Essa idéia encontra apoio em

trabalho que mostrou que a intolerância ao esforço ocorre quando a disfunção diastólica pode acarretar prejuízo da função sistólica (Guazzi *et al.*, 2001).

Embora alterações na musculatura periférica possam limitar a capacidade de exercício, inicialmente, adaptações sistêmicas poderiam habilitar o músculo esquelético a extrair mais oxigênio (Tanabe *et al.*, 2002). Este mecanismo, observado em ratos com estenose aórtica abdominal e infarto do miocárdio, compensaria uma possível redução na função cardíaca (Morris *et al.*, 1993; Rolim *et al.*, 2006), mantendo a resposta ao esforço inalterada. Esse fato poderia ter ocorrido nesse experimento, o que explicaria a preservação da tolerância ao esforço, mesmo em presença de disfunção diastólica.

Assim, podemos inferir que a ausência de alterações na tolerância ao esforço físico nesse trabalho não ocorreu em razão da inabilidade do teste ou da falta de sensibilidade das variáveis analisadas. A fase de remodelação cardíaca em que os animais se encontravam parece ter sido o principal determinante dos resultados observados. A realização de novos trabalhos, com ampliação do tempo de observação dos animais e estudo dos mecanismos que poderiam interferir na relação remodelação cardíaca/tolerância ao esforço torna-se necessária para melhor esclarecimento do tema em questão.

7 – CONCLUSÃO

Em conclusão, os dados deste trabalho mostram que os animais com estenose aórtica supralvar avaliados durante 18 semanas apresentam: 1) alterações morfológicas cardíacas indicativas de hipertrofia concêntrica; 2) disfunção diastólica precoce do ventrículo esquerdo; 3) melhoria ou preservação da função sistólica do ventrículo esquerdo em relação ao grupo controle; 4) deterioração do desempenho sistólico durante o processo de remodelação ventricular; 5) alterações da função ventricular, não acompanhadas da diminuição da tolerância ao esforço físico.

REFERÊNCIAS*

American Physiological Society. Resource Book for the Design of Animal - Exercise Protocols. 2006. [acesso em 10 outubro de 2005]. Disponível em: <http://www.the-aps.org/pa/resources/additional/exercise/book.pdf>

Amaral SL, Michelini LC. Treinamento físico na insuficiência cardíaca: ajustes na musculatura esquelética. *Rev Soc Cardiol do Estado de São Paulo*. 2004;14:11-20.

Barthélémy JC, Roche F, Gazpoz JM, Geysant A, Minini P, Antoniadis A, *et al*. Maximal blood lactate level acts as a major discriminant variable in exercise testing for coronary artery disease detection in men. *Circulation*. 1996;93:246-52.

Bayat H, Swaney JS, Ander NA, Dalton N, Kennedy BP, Hammond HK, *et al*. Progressive heart failure after myocardial infarction in mice. *Basic Res Cardiol*. 2002;97:206-13.

Bech OM, Kahr O, Diamant B, Steiness E. Time course of functional deterioration after coronary artery ligation in rats. *Cardiovasc Res*. 1989;8:649-54.

Bech OM, Sorensen JD, Jensen MK, Diamant B, Steiness E. Effects of long-term Coenzyme Q₁₀ and Captopril treatment on survival and functional capacity in rats with experimentally induced heart infarction. *J Pharm Exp Ther*. 1990;255:346-50.

Billat VL, Sirvent P, Py G, Koralsztein JP, Mercier J. The concept of maximal lactate steady state - a bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Med* 2003;33:407-426.

* International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journal: sample references. [homepage on the internet]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine; 2003 [last updated 2003 July 09; cited 2005 Jun 01]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

National Library of Medicine. List of journal indexed in Index Medicus. Washington, 2003. 204 p.

Boluyt MO, O'Neil L, Meredith AL, Bing OHL, Brooks WW, Conrad CH *et al.* Alterations in cardiac gene expression during the transition from stable hypertrophy to heart failure: marked upregulation of genes encoding extracellular matrix proteins. *Circ Research*. 1994;75:23-32.

Boluyt MO, Robinson KG, Meredith AL, Sem S, Lakatta EG, Crow MT, *et al.* Heart failure after long-term supra-avalvular aortic constriction in rats. *Am J Hypertens*. 2005;18:202-12.

Bregagnollo EA, Rodrigues MAM, Montenegro MR, Tucci PJF. Evolução temporal de parâmetros estruturais e funcionais da hipertrofia cardíaca desencadeada em ratos Wistar pela constrição da aorta abdominal. *Arq Bras Cardiol*. 1986;46:9-17.

Bregagnollo EA, Okoshi K, Okoshi MP, Padovani CR, Cicogna AC. Efeitos do lisinopril sobre as características da hipertrofia ventricular esquerda na vigência de sobrecarga pressórica persistente. *Rev Soc Cardiol do Estado de São Paulo*. 2001; 11:32.

Bregagnollo EA, Okoshi K, Bregagnollo IF, Okoshi MP, Padovani CR, Cicogna AC. Effects of the prolonged inhibition of the angiotensin-converting enzyme on the morphological and functional characteristics of left ventricular hypertrophy in rats with persistent pressure overload. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84:225-32.

Bregagnollo EA, Zornoff LAM, Okoshi K, Sugizaki M, Mestrinel MA, Padovani CR, *et al.* Myocardial contractile dysfunction contributes to the development of heart failure in rats with aortic stenosis. *Int J Cardiol*. 2006;113:188-93.

Bregagnollo EA, Mestrinel MA, Okoshi K, Carvalho FC, Bregagnollo IF, Padovani CR, *et al.* Papel relativo da remodelação geométrica do ventrículo esquerdo, morfológica e funcional do miocárdio na transição da hipertrofia compensada para a falência cardíaca em ratos com estenose aórtica supra-avalvular. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88:225-33.

Bruckschlegel G, Holmer SR, Jandeleit K, Grimm D, Muders F, Kromer EP, *et al.* Blockade of the renin-angiotensin system in cardiac pressure-overload hypertrophy in rats. *Hypertension*. 1995;25:250-9.

Brum PC, Kosek J, Patterson A, Bernstein D, Kobilka B. Abnormal cardiac function associated with sympathetic nervous system hyperactivity in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283:H1838-H1845.

Buccino RA, Haris S, Spann JF. Response of myocardial tissue to development of experimental hypertrophy. *Am J Physiol.* 1969;216:425-8.

Cantor EJJ, Babick AP, VasANJI Z, Dhalla NS, Netticadan T. A comparative serial echocardiographic analysis of cardiac structure and function in rats subjected to pressure or volume overload. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;38:777-86.

Carvalho JF, Masuda MO, Pompeu FAMS. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. *Comp Biochem Physiol.* 2005;140:409-13.

Carvalho RF, Cicogna AC, Campos GER, Assis JMF, Padovani CR, Okoshi MP, *et al.* Myosin heavy chain expression and atrophy in rat skeletal muscle during transition from cardiac hypertrophy to heart failure. *Int J Exp Path.* 2003;84:201-6.

Chalela WA, Moffa PJ. Teste ergométrico. In: Negrão CE, Barreto ACP, editores. *Cardiologia do Exercício – do atleta ao cardiopata.* São Paulo: Barueri; 2005:92-126.

Cicogna AC, Robinson KG, Conrad CH, Squire R, Okoshi MP, Bing OHL. Participação do estado contrátil e do relaxamento miocárdico na disfunção ventricular durante a transição hipertrofia-falência cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 1997; 69:381-4.

Cicogna AC, Robinson KG, Conrad CH, Singh K, Squire R, Okoshi M, *et al.* Direct effects of colchicine on myocardial function. *Studies in hypertrophied and failing spontaneously hypertensive rats.* *Hypertension.* 1999;33:60-5.

Cicogna AC, Okoshi MP, Okoshi K. História natural da remodelação miocárdica: da agressão aos sintomas. *Rev Soc Cardiol do Estado de São Paulo.* 2000;10:8-16.

Cohn JN, Ferrarri R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35:562-82.

Condorelli G, Morisco C, Stassi G, Notte A, Farina F, Sgaramella G, *et al.* Increased cardiomyocyte apoptosis and changes in proapoptotic and antiapoptotic genes bax and bcl-2 during left ventricular adaptations to chronic pressure overload in the rat. *Circulation.* 1999;99:3071-8.

Contarteze RVL, Machado FB, Gobatto CA, Mello MAR. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. *Comp Biochem Physiol*. 2007; in press. [acesso em 2 janeiro de 2008]. Disponível em: www.elsevier.com/locate/cbpa

Cuocolo A, Sax FL, Brush JE, Maron BJ, Bacharach SL, Bonow RO. Left ventricular hypertrophy and impaired diastolic filling in essential hypertension: diastolic mechanism for systolic dysfunction during exercise. *Circulation*. 1991;81:978-86.

Das P, Rimington H, Chambers J. Exercise testing to stratify risk in aortic stenosis. *Eur Heart J*. 2005;26:1309-1313.

Feldman A, Weinberg ED, Ray P, Lorell BH. Selective change in gene expression during compensated hypertrophy and the transition to cardiac descompensation in rats with chronic aortic banding. *Circ Res*. 1993;73:184-192.

Fewell JG, Osinska H, Levitsky R, Sfyris WNG, Bahrehmand F, Robbins J. A treadmill exercise regimen for identifying cardiovascular phenotypes in transgenic mice. *Heart Circ Physiol*. 1997;42:H1595-H1605.

Gelape CL, Sanches MD, Torres RM, Couto CA, Paixão PC, Melo JRC. Análise ecocardiográfica da função diastólica do ventrículo esquerdo após infarto do miocárdio em ratos. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2005;20:63-8.

Gobatto CA, Mello MA, Sibuya CY, Azevedo JR, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol*. 2001;A130:21-27.

Gonçalves G, Zornoff LAM, Ribeiro HB, Okoshi MP, Cordaro FRS, Okoshi K, *et al*. O bloqueio do sistema renina-angiotensina atenua a remodelação cardíaca de ratos submetidos a estenose aórtica. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84:304-308.

Grossman W, Jones D, McLaurin L. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest*. 1975;56:56-64.

Grossman W. Cardiac hypertrophy: useful adaptation or a pathologic process? *Am J Med*. 1980;69:576-84.

Guazzi M, Brenner DA, Apstein CS, Saupe KW. Exercise intolerance in rats with hypertensive heart disease is associated with impaired diastolic relaxation. *Hypertension*, 2001;37:204-208.

Guimarães RM, Andersen ML, D'Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJF, *et al.* Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo. 2004.

Hirsch AT, Talsnec CE, Schunkert H, Paul M, Dzau VT. Tissue specific activation of cardiac angiotensin converting enzyme in experimental heart failure. *Circ Res* 1991;69:475-82.

Hofstetter JR, Hofstetter AR, Hughes AM, Mayeda AR. Intermittent long-wavelength red light increases the period of daily locomotor activity in mice. *J Circadian Rhythms*. 2005;3:1-8.

Hussain SO, Barbato JC, Koch LG, Metting PJ, Britton LG. Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;281:R1787-91.

Jalil JE, Christian WD, Janick JS, Pick R, Shroff SG, Weber KT. Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res*.1989;64:1041-50.

Jessup M, Brozena S. Heart failure. *New England J Med*. 2003;348:2007-18.

Kabour A, Henegar JR, Devineni VR, Janicki JS. Prevention of angiotensin II induced myocyte necrosis and coronary vascular damage by lisinopril and losartan in the rat. *Cardiovasc Res*. 1995;29:543-8.

Kaplan NM. Systemic hypertension: mechanisms and diagnosis. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P. eds. *Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia: Saunders Company; 2001. p. 941-71.

Koh SG, Brenner DA, Korzick DH, Tickerhoof M, Apstein CS, Saupe KW. Exercise intolerance during post-MI heart failure in rats: prevention with supplemental dietary propionyl-L-carnitine. *Cardiov. Drugs Ther*. 2003;17:7-14.

Langfort J, Zarzeczny R, Pilis W, Kaciuba-Uścitko H, Naza K, Porta S. Effect of sustained hyperadrenalinemia on exercise performance and lactate threshold in rats. *Comp Biochem Physiol.* 1996;114A:51-5.

Levy LB, Avkran M, Ferrari R, Hearse Dj. Impaired skeletal muscle fatigue resistance in rats with pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol.* 1996;28: 183-95.

Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell HB, Aurigemma GP, Douglas PS, *et al.* Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure overload hypertrophy chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation.* 1995;91:2642-54.

Mady C, Salemi VMC, Ianni BM, Ramires FJA, Arteaga E. Capacidade funcional máxima, fração de ejeção e classe funcional na cardiomiopatia chagásica. Existe relação entre estes índices? *Arq Bras Cardiol.* 2005;84:152-55.

Manchado FB, Gobatto CA, Contarteze RVL, Papoti M, Mello MAR. Maximal lactate steady state in running rats. *J Exerc. Physiol.* 2005;8:29–35.

Manchado FB, Gobatto CA. Máxima fase estável de lactato é ergômetro-dependente em modelo experimental utilizando ratos. *Rev Bras Med Esporte.* 2006;12:259-262.

Marães VRFS, Teixeira LCA, Catai AM, Milan LA, Rojas FAR, Oliveira L, *et al.* Determinação e validação do limiar de anaerobiose a partir de métodos de análise da frequência cardíaca e de sua variabilidade. *Rev Soc Cardiol do Estado de São Paulo.* 2003;4:1-16.

Mestrinel MA. Avaliação morfológica, bioquímica e funcional do remodelamento cardíaco desencadeado por sobrecarga pressórica em ratos com e sem insuficiência cardíaca congestiva. [dissertação]. Botucatu: Faculdade Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2003.

Momken I, Kahapip J, Bahi L, Badoual T, Hittinger I, Ventura-Clapier R, Veksler V. Does angiotensin-converting enzyme inhibition improve the energetic status cardiac and skeletal muscles in heart failure induced by aortic stenosis in rats? *J Mol Cell Cardiol.* 2003;33:399-407.

Moreira VO, Castro AVB, Yaegaschi MY, Cicogna AC, Okoshi MP, Pereira CA, *et al.* Critérios ecocardiográficos para definição de graus de disfunção ventricular em ratos portadores de estenose aórtica. *Arq Bras Cardiol.* 2006;86:432-8.

Morris GS, Fitzsimons DP, Baldwin KM, Barbard RJ. Exercise capacity of rats remains unaffected by a chronic pressure overload. *Cardiov Res.* 1993;27:1346-9.

Okoshi MP, Matsubara LS, Franco M, Cicogna AC, Matsubara BB. Myocyte necrosis is the basis for fibrosis in renovascular hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30:1135-44.

Okoshi K, Ribeiro HB, Okoshi MP, Matsubara BB, Gonçalves G, Barros R, *et al.* Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy. *Jpn Heart J.* 2004;45:647-56.

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

Ono K, Masuyama T, Yamamoto K, Doi R, Sakata Y, Nishikawa N, *et al.* Echo Doppler assessment of left ventricular function in rats with hypertensive hypertrophy. *J Am Soc Echcardiogr.* 2002; 15:109-17.

Paiva SAR, Zornoff LAM, Okoshi MP, Okoshi K, Matsubara LS, Matsubara BB, *et al.* Ventricular remodeling induced by retinoic acid supplementation in adult rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;284: H2242-6.

Pawlush DG, Moore RL, Musch TI, Davidson WRI. Echocardiographic evaluation of size, function and mass of normal and hypertrophied rat ventricles. *J Appl Physiol.* 1993;74:2598-2605.

Pfeifer PC, Musch TI, Mcallister. Skeletal muscle oxidative capacity and exercise tolerance in rats with heart failure. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:542-8.

Pilis W, Zarzeczny R, Langfort J, Kaciuba-Uścięko H, Nazar C, Wojtyna J. Anaerobic Threshold in rats. *Comp Biochem Physiol.* 1993;106A:285-289.

Pritchett AM, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Rodeheffer RJ, Bailey KR, Redfield MM. Left atrial volume as an index of left atrial size: a population-based study. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(6):1036-43.

Rakusan K. Left ventricular hypertrophy alterations in myocyte number, size, shape and structure. In: Scheridan DJ, editor. Left ventricular hypertrophy. London: Churchill Livingstone, 1998:23-28.

Ratajska A, Campbell SE, Sun Y, Weber KT. Angiotensin II-associated cardiac myocyte necrosis: role of adrenal catecholamines. *Cardiov Res.* 1994; 28:684-90.

Refinetti R. Variability of diurnality in laboratory rodents. *J Comp Physiol.* 2006; 192:701-14.

Ribeiro HB, Okoshi K, Cicogna AC, Bregagnollo EA, Rodrigues MAM, Padovani CR, *et al.* Estudo evolutivo da morfologia e função cardíaca em ratos submetidos a estenose aórtica supravalvar. *Arq Bras Cardiol.* 2003;81:562-8.

Ritchie RH, Delbridge LMD. Cardiac hypertrophy, substrate utilization and metabolic remodeling: cause or effect? *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006;33:15-66.

Rodrigues MAM, Bregagnollo EA, Montenegro MR, Tucci PJF. Coronary vascular and myocardial lesions due to experimental constriction of the abdominal aorta. *Int J Cardiol.* 1992; 35:253-7.

Rolim NPL, Mattos KC, Brum PC, Baldo MVC, Middlekauff HR, Negrão CE. The decreased oxygen uptake during progressive exercise in ischemia-induced heart failure is due to reduced cardiac output rate. *Braz Med Biol Res.* 2006;39:297-304.

Rossi MA, Peres LC. Effect of captopril on the prevention and regression of myocardial cell hypertrophy and interstitial fibrosis in pressure overload cardiac hypertrophy. *Am Heart J.* 1992;124:700-9.

Sato S, Ueda Y, Suematsu N, Oyama J, Kadokami T, Sugano M, *et al.* Beneficial effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on sarcoplasmic reticulum function in the failing heart of the Dahl rat. *Circ J.* 2003; 67:705-11.

Schunkert H, Orzechowski HD, Bocker W, Meier R, Riegger GAJ, Paul M. The cardiac endothelin system in established pressure overload left ventricular hypertrophy. *J Mol Med.* 1999;77:623-30.

Serra S. Considerações sobre ergoespirometria. *Arq Bras Cardiol.* 1997;68:301-304.

Sharma S, Firoozi S, McKenna WJ. Value of exercise testing in assessing clinical state and prognosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiol Rev.* 2001;9:70-6.

Sjaastad I, Sejersted OM, Ilebekk A. Echocardiographic criteria for detection of postinfarction congestive heart failure in rats. *J Appl Physiol.* 2000;89:1445-54.

Soares EC, Larsson MHMA, Daniel AGT, Fantazzini MM, Yamaki FL, Pereira RC. Índices ecodopplercardiográficos de função diastólica de gatos saudáveis não sedados. *Ciência Rural.* 2005;35:1357-62.

Sousa ACS. Volume atrial esquerdo como índice da função diastólica. *Arq Bras Cardiol.* 2006;87:e27-e33.

Sullivan MJ, Green HJ, Cobb FR. Skeletal muscle biochemistry and histology in ambulatory patients with long-term heart failure. *Circulation.* 1990;81:518-27.

Sumimoto T, Jikuhara T, Hattori T, Yuasa F, Kaida M, Hikosaka M, *et al.* Importance of left ventricular diastolic function on maintenance of exercise capacity in patients with systolic dysfunction after anterior myocardial infarction. *Am Heart J.* 1997;133:87-93.

Svedal K, MacIntosh BR. Anaerobic threshold: the concept and methods of measurement. *Can J Appl Physiol.* 2003;28:299-323.

Tanabe Y, Nakagawa I, Ito E, Suzuki K. Hemodynamic basis of the reduced oxygen uptake relative to work rate during incremental exercise in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2002;83:57-62.

Tanaka N, Dalton N, Mao L, Rockman HA, Peterson KL, Gottshall KR, *et al.* Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. *Circulation.* 1996;94:1109-17.

Thom T, Haase N, Rosamond W, Howard VJ, Rumsfeld J, Manolio T, *et al.* Heart disease and stroke statistics--2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation.* 2006;113:e85-151.

Turcani M, Rupp H. Development of pressure overload induced cardiac hypertrophy is unaffected by long-term treatment with losartan. *Mol Cell Biochem.* 1998;188:225-33.

Ventura-Clapier R, De Sousa E, Veksler V. Metabolic myopathy in heart failure. *News Physiol Sci.* 2002;17:191-6.

Vieira WHB. Efeitos do laser de baixa intensidade em 780 nm sobre a performance muscular aeróbia de ratos em treinamento físico em esteira. [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal; 2004.

Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res.* 2002;35:1389-94.

Voltarelli FA, Mello MAR, Gobatto CA. Glicogênio muscular e limiar anaeróbio em ratos durante a natação. *Motriz.* 2004;10:25-30.

Wasserman K, McIlroy M. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *Am J Cardiol.* 1964;14:844-852.

Wasserman K. Determinants and detection of anaerobic threshold and consequences of exercise above it. *Circulation.* 1987;76:VI 29-39.

Weber KT, Pick R, Jalil JE, Janicki JS, Carroll EP. Patterns of myocardial fibrosis. *J Mol Cell Cardiol.* 1989;21:121-31.

Weinberg EO, Schoen FJ, George D, Kagaya Y, Douglas PS, Litwin SE, *et al.* Angiotensin-converting enzyme inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure with pressure overload hypertrophy due ascending aortic stenosis. *Circulation.* 1994;90:1410-22.

Zar JH. *Biostatistical analysis.* 4th ed. Prentice-Hall: New York, 1995.

Zornoff LAM, Cicogna AC, Paiva SAR, Spadaro J. Remodelamento e seu impacto na progressão da disfunção ventricular. *Rev Soc Cardiol do Estado de São Paulo.* 2002;12:371-8.

Zuwallack RL. Outcome measures for pulmonary rehabilitation. Chapter 15. In: Donner CF, Decramer M. *Pulmonary rehabilitation.* *Eur Respir Mon.* 2000;5:177-200.