

**ESTABILIDADE TEMPORAL DO REGISTRO DO
ELETROCARDIOGRAMA EM RATOS COM INFARTO DO
MIOCÁRDIO**

Enildo Broetto Pimentel

Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas
(Fisiologia Cardiovascular)

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória-ES, maio de 2006

ENILDO BROETTO PIMENTEL

**ESTABILIDADE TEMPORAL DO REGISTRO DO
ELETROCARDIOGRAMA EM RATOS COM INFARTO DO
MIOCÁRDIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro Biomédico da Universidade Federal do Espírito Santo, para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

ORIENTADOR

Prof. Dr. José Geraldo Mill

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória-ES, 19 de maio de 2006

Pimentel, Enildo Broetto, 1963

XII, 75, p., 29,7 cm (UFES, M. SC., Ciências Fisiológicas,
2006)

Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do
Espírito Santo, PPGCF, Centro Biomédico.

ESTABILIDADE TEMPORAL DO REGISTRO DO ELETROCARDIOGRAMA EM RATOS COM INFARTO DO MIOCÁRDIO

Enildo Broetto Pimentel

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Aprovada em 19/05/2006.

Prof. Dr. José Geraldo Mill – Orientador, UFES.

Prof. Dr. Dalton Valentin Vassallo, UFES.

Prof. Dr. José Hamilton Matheus Nascimento, UFRJ.

Coordenador do PPGCF: _____

Prof. Dr. José Geraldo Mill

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, maio de 2006

Dedico esta tese à minha esposa Ana,
meus filhos Leandro e Laís pelo carinho e
compreensão por todos estes anos.

Agradecimentos

A Deus, meu pai, sem ele nada seria possível. Seu amor é maior que tudo.

A Nossa Senhora, minha intercessora nos momentos mais difíceis de minha vida.

Aos meus pais Geraldo Da Ross Pimentel e Júlia Broetto Pimentel, por estar sempre ao lado dos filhos com grande dedicação e eternos conselheiros.

A minha esposa Ana e filhos Leandro e Lais que foram de grande importância para que tudo isso fosse possível.

Ao Prof. Dr José Geraldo Mill por ter me aceito como orientando. Meu muito obrigado pela paciência, compreensão e apoio naquelas horas em que pensei desistir. Tenho toda a certeza que a realização deste trabalho não seria possível ser realizado sem a sua orientação.

Ao Prof. Dr Roberto Sá Cunha pela confiança depositado à minha pessoa ter me recebido primeiramente como seu orientando.

A Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Cicilini por todos os seus ensinamentos. Minha eterna gratidão.

A todos os demais Professores do departamento de que sempre me apoiaram e torceram pelo o meu sucesso. Meu muito obrigado!

Ao meu amigo Fonseca, grande incentivador. Meu muito obrigado!

A Prof^a Dr^a. Éster Nakamura Palácios pelo seu incentivo. Meu muito obrigado!

A Prof^a Dr^a. Cláudia Mendes Leite, pelo carinho e compreensão. Meu muito obrigado!

Aos colegas da Pós-Graduação em geral aos colegas do laboratório Christine, Marcela, Daniel, Pedro, pelo companheirismo.

Aos colegas Edison, Erly, Elias, Nino, Amarildo, Sônia, Neuza, Flávio e a todos aqueles que conviveram e ajudaram na realização deste trabalho.

A todas aquelas pessoas que não citei mais estiveram sempre ao meu lado. Meu muito obrigado!

E que Deus abençoe a todos vocês.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	15
1.1. Infarto Experimental	16
1.2. Reparação e Remodelamento Cardíaco	17
1.3. Regulação Neurohumoral	19
1.4. Angiotensina	20
1.5. Intervenção Terapêutica	22
1.6. Eletrocardiograma	23
2. OBJETIVOS	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1. Animais Experimentais	28
3.2. Protocolo Experimental	28
3.2.1. Curso Temporal das Alterações Eletrocardiográficas	28
3.2.2. Precocidade das Alterações Eletrocardiográficas no infarto	29
3.2.3. Determinação de Alterações no Eletrocardiograma Após Intervenção no Remodelamento.....	30
3.3. Produção de Infarto do Miocárdio	31
3.4. Registro do Eletrocardiograma	31
3.5. Medidas Hemodinâmicas	32
3.6. Medidas Morfológicas	33
3.6.1. Peso das Câmaras Ventriculares	33
3.6.2. Determinação do Tamanho do Infarto	34

3.7. Análise Estatística	35
4. RESULTADOS	38
4.1. Mortalidade	38
4.2. Onda Q como Preditor de Infarto	38
4.3. Estabilidade do ECG no Processo de Cicatrização do Infarto	42
4.4. Alterações Precoces do Eletrocardiograma em Ratos com Ligadura da Artéria Coronária.....	46
4.5. Correlação entre a amplitude de Onda Q e a Extensão do Infarto	51
4.6. Alterações Eletrocardiográficas em Ratos Infartados e Tratados com Captopril	52
5. DISCUSSÃO	58
6. CONCLUSÃO	63
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

Lista de Tabelas

Página

Tabela 1: Presença da Onda Q em D1 e Cicatriz de Infarto	41
Tabela 2: Dados de peso corporal e coração (primeiro protocolo)	43
Tabela 3: Parâmetros eletrocardiográficos (primeiro protocolo)	44
Tabela 4: Parâmetros eletrocardiográficos (segundo protocolo)	49
Tabela 5: Dados de peso corporal e coração (terceiro protocolo)	53
Tabela 6: Medida de pressão arterial e da pressão de ventrículo esquerdo (terceiro protocolo)	54
Tabela 7: Medida de pressão de ventrículo direito (terceiro protocolo)	55

Lista de Figuras

Página

Figura 1: Demonstra como foram obtidos os valores de leitura do ECG.....	36
Figura 2: Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF no plano frontal Zero, 3 e 30 dias em ratos Controles, Falso operados e Infarto (Primeiro protocolo)	39
Figura 3: Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF no plano frontal Zero, 3 e 30 dias em ratos Positivo, Falso negativo e Falso Positivo (Primeiro protocolo)	40
Figura 4: Amplitude de onda R e Q em D1 (Primeiro protocolo)	45
Figura 5: Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF em animais Falso operados (Segundo protocolo)	47
Figura 6: Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF em animais Com presença de onda Q na primeira hora após LAC (Segundo protocolo).....	48
Figura 7: Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF em animais Com presença de onda Q na terceira hora após LAC (Segundo protocolo).....	50
Figura 8: Correlação entre tamanho da área de infarto e amplitude da onda Q em D1 (Segundo protocolo)	51
Figura 9: Ângulo do vetor elétrico médio do complexo QRS no ECG (Terceiro protocolo)	56

Lista de Abreviaturas e/ou Siglas

Ang II - Angiotensina II

ANOVA - Análise de Variância

AT1 - Receptores para Angiotensina II

CAP - Captopril

CO - Controle

ECA - Enzima Conversora de Angiotensina

ECG - Eletrocardiograma

FO - Falso Operado

FOcap - Falso Operado + Captopril

IC - Insuficiência Cardíaca

IECA - Inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina

IM - Infarto do Miocárdio

IMcap - Infarto do Miocárdio + Captopril

LAC - Ligadura da Artéria Coronária

MMPs - Metaloproteinases

NE - Norepinefrina ou Noradrenalina

SRAA - Sistema renina Angiotensina Aldosterona

TFT - Trifeniltetrazólio

VD - Ventrículo direito

VE - Ventrículo esquerdo

RESUMO

A doença cardiovascular em geral está associada a alterações nas propriedades elétricas do coração, e o eletrocardiograma é utilizado como instrumento de auxílio no diagnóstico destas alterações. No homem, como no rato, podem ocorrer infarto extenso e transmural envolvendo a parede anterior do ventrículo esquerdo. A hipertrofia e fibrose são duas condições que ocorrem simultaneamente no miocárdio durante o remodelamento, facilitando a dilatação ventricular. O uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina reduz a hipertrofia e o grau de remodelamento após infarto ao mesmo tempo reduz a sobrecarga hemodinâmica. Todas as evidências direcionam os estudos para a determinação da extensão do infarto, visto que existe uma forte correlação entre o tamanho do infarto e o tempo de sobrevivência. O objetivo desse estudo foi avaliar as alterações eletrocardiográficas no rato submetido à ligadura da artéria coronária esquerda, quanto à presença e a extensão do infarto do miocárdio. Neste estudo foram usados 213 ratos Wistar, divididos em três protocolos experimentais para avaliar o curso temporal das alterações eletrocardiográficas no infarto, a precocidade das alterações eletrocardiográficas, determinar as alterações no eletrocardiograma após intervenção no remodelamento cardíaco e determinar a extensão do infarto. O estudo revelou que a presença da onda Q em D1 identifica os animais com infarto do miocárdio (sensibilidade e especificidade de 89%). Além do aparecimento da onda Q também se observa diminuição da amplitude da onda R em D1 determinando deslocamento do eixo médio de ativação ventricular para a direita. É observada uma correlação significativa ($r = 0,76$; $p < 0,05$) entre o tamanho do infarto e a amplitude da onda Q em D1 vinte e quatro horas após infarto do miocárdio. Os animais com infartos do miocárdio tratados com captopril não apresentaram alteração importante do ÂQRS. Concluímos que o eletrocardiograma possui estabilidade de registro, a presença da onda Q em D1 e a alteração do ÂQRS para a direita permite identificar os animais com infarto do miocárdio, existe correlação entre a amplitude da onda Q em D1 e o tamanho do infarto e o tratamento com captopril não altera o eletrocardiograma.

ABSTRACT

The cardiovascular disease in general is associated with alterations in the electrical properties of the hearts, and the electrocardiogram is used as instrument that assists in the diagnosis these alterations. As in the man and in the rat it can occur extensive and transmural infarcts involving the anterior wall of the left ventricle. The hypertrophy and fibrosis are two conditions that occur simultaneously in the myocardial during the remodeling process facilitating the ventricular dilatation. The use of Angiotensin converting enzyme inhibitor reduces hypertrophy and cardiac remodeling after infarct and, at the same time, it reduces the hemodynamic overload. All the evidences direct the studies for the determination of the infarct area because exists a strong correlation between the live of the infarct and the survival time. The objective of this study was to evaluate the electrocardiographic alterations in the rat submitted to the left coronary artery ligation due to the presence and the area of myocardial infarction. In this study 213 Wistar rats had been used divided in three experimental protocols to evaluate the time course of the electrocardiographic alterations during the Infarct and the early appearing of the electrocardiographic alterations, to determine the electrocardiographic alterations after the intervention in the cardiac remodeling and the size of infarcted area. The study revealed that the presence of Q wave in D1 identifies the infarcted animals (Sensibility and specificity of the 89%). Beside the appearance of Q wave it was observed a decrease of the R wave amplitude in D1. This fact determines displacement of the medium ventricular axis towards the right. Is observed a significant correlation ($r = 0,76$; $p < 0,05$) between the size of the infarcted area and the Q wave amplitude registered 24 hours after infarction do myocardial. In the infarcted animals treated with captopril alteration of the QRS axis did not occur. It concluded o electrocardiogram was stabile of the register, is the Q wave presence in D1 and the right deviation of the QRS axis allows identifying the animals that present myocardial infarction, exist correlation between the Q wave amplitude and the size of infarcted area previous to the scar formation and the treatment with o captopril not modifying the electrocardiogram.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular em geral está associada a alterações na propriedade elétrica do coração (Dhingra et al., 2005) em que o eletrocardiograma é utilizado como instrumento que auxilia no diagnóstico das cardiomiopatias.

O eletrocardiograma (ECG) produzido em 1902 por Willen Einthoven, lembrado nestes mais de 100 anos por Rosen (Rosen, 2002), avança no tempo e é até hoje utilizado. O ECG, além de ser muito utilizado no diagnóstico de doenças cardiovasculares no homem (Sosnowski et al., 2005), é também de grande valia nos estudos experimentais em animais (Lombard, 1959; Normann et al., 1960; Santos & Masuda, 1960; Bonilha et al., 2005).

Outros experimentos com animais o antecederam, mas foi em 1960 que se realizou o primeiro experimento utilizando o ECG em ratos infartados. O estudo teve como objetivo detectar e avaliar as mudanças elétricas no coração infartado (Normann et al., 1960). Mais estudos vieram a seguir usando o modelo de infarto experimental, um dos mais usados para avaliar as propriedades de utilização do ECG para detectar e quantificar a extensão do infarto do miocárdio (Santos e Masuda, 1991; Tao et al., 2004; Bonilha et al., 2005).

A doença isquêmica do coração representa a maior causa de morbidade e mortalidade na população mundial, sendo que no Brasil o infarto do miocárdio contribui com 33% das mortes por doenças cardiovasculares. (DATASUS, 2000).

No homem, como no rato, podem ocorrer infartos extensos e transmural envolvendo a parede anterior do ventrículo esquerdo (VE) (Mill et al., 1990; O'Connor et al., 1997). A morte celular ocasionada pelo infarto do miocárdio (IM) leva a uma deficiência quantitativa de cardiomiócitos e ao remodelamento progressivo do ventrículo esquerdo (VE), podendo desenvolver a insuficiência cardíaca (IC) (Li et al., 1993).

O desenvolvimento da IC após IM é lento e é precedido por uma fase assintomática em que ocorrem alterações de formato, tamanho e propriedades do coração (Mitchell et al., 1992). Essa combinação representa um aumento de carga para

INTRODUÇÃO

o miocárdio não infartado, ocasionando uma relação desfavorável entre o tamanho da câmara ventricular e o volume de parede (Raya et al., 1988; Udeson & Kanstam, 2002).

A natureza e o grau destas mudanças estão associados à extensão do IM (Fletcher et al., 1981) e muito vêm sendo realizado na intenção de possibilitar a intervenção nesse processo, sobretudo do ponto de vista de melhorar o débito sistólico e, em última análise, a função cardíaca em geral (Mill et al., 1997).

As intervenções clínicas atuais empregadas para minimizar o devastante efeito do infarto do miocárdio vão desde intervenções coronarianas percutâneas agudas até a administração de drogas como β -bloqueadores (Fung et al., 2003; Everly et al., 2004), inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) (Swedberg et al., 1990; Kenchaiah et al., 2004) e os estudos para o uso da terapia celular (Reinecke et al., 1999).

1.1. Infarto Experimental

Estudos experimentais em cães (Vander Heide et al., 1995) coelhos (Ytrehus et al., 1995), camundongos (Imamura et al., 2002) e ratos (Raya et al., 1988), têm auxiliado no entendimento dos mecanismos e na aplicabilidade de intervenções que possam proteger ou minimizar os processos degenerativos da doença isquêmica do coração.

O coração tende a manter um débito adequado, a fim de suprir as necessidades metabólicas do organismo. No entanto, a manutenção do próprio tecido cardíaco é feita pela circulação coronariana. A circulação coronária é capaz de se adaptar rapidamente às necessidades metabólicas do coração, quando a ele é imposto uma sobrecarga de trabalho (Liddle & Hardmam, 1971). Essa adaptação é regulada pela ação neurohumoral, com mudanças da frequência cardíaca (cronotropismo) e da pressão de propulsão (inotropismo) (Adamson, 1994).

A isquemia do coração de ratos é realizada através de uma oclusão completa da artéria coronária, cessando totalmente o fluxo sanguíneo (Fletcher et al., 1981). Isso leva a uma seqüência de eventos hemodinâmicos, metabólicos, estruturais com a

INTRODUÇÃO

evolução do processo de morte celular e necrose do miocárdio (Pfeffer & Pfeffer, 1979). Porém, o desempenho do coração infartado não dependerá unicamente das características contráteis do miocárdio sobrevivente, mas também das propriedades do tecido fibroso que se forma na área de necrose (Pfeffer & Pfeffer, 1979; Homer et al., 1994). Ambos são fenômenos tempo dependentes (Pfeffer & Pfeffer, 1979; Homer et al., 1994). A partir desse momento a pressão sistólica desenvolvida pelo coração será inversamente relacionada à área de tecido cicatrizado com baixo desempenho devido a dilatação ventricular (Mill et al., 1990). O processo de remodelamento não é suficiente para reverter à insuficiência induzida pelo infarto (Mill et al., 1990).

A ligação da artéria coronária esquerda em ratos produz infartos de tamanho variados, A disfunção ventricular esquerda está correlacionada à extensão da área infartada (Pfeffer et al., 1979), à redução da sobrevida e ao aumento progressivo do risco relativo de morte (Pfeffer et al., 1985).

Em ratos com grandes áreas de infarto também observa -se hipertrofia no ventrículo direito (VD), que está associada à severa disfunção do VE. Por sua vez, a disfunção do VE evidencia -se pela marcada elevação na pressão diastólica final do VE, que é precedida de redução na pressão arterial sistêmica. Já em área de infarto média, com nenhuma hipertrofia de VD, há pequena relação com a pressão arterial sistólica e com o aumento na pressão diastólica final do VE (Fletcher et al., 1981; Pfeffer et al., 1991; Meggs et al., 1993).

1.2. Reparação e Remodelamento Cardíaco

O processo de fibrose que se forma no IM visa substituir com tecido cicatricial a área do miocárdio sujeita à gradual reabsorção de células necrosadas (Pfeffer & Braunwald, 1990; Pfeffer et al., 1991). Esse processo está associado à reação inflamatória que, quando persistente, é responsável pelo processo de reparação e cicatrização da área de infarto (Deten et al., 2003).

A isquemia prolongada do miocárdio causa morte dos miócitos e perda progressiva de miocárdio. A presença de remodelamento cardíaco parece participar da

INTRODUÇÃO

deterioração da função ventricular (Mill et al., 1990). A perda de miócitos pode ocorrer por dois mecanismos: a necrose e a apoptose ou morte celular programada. Na necrose ocorrem alterações de membrana e do volume celular com perda precoce da estrutura celular e processo inflamatório adjacente (Sulpice et al., 1994). No apoptose ocorre degradação nuclear, o que não ocorre na necrose, apresentando pouca reação inflamatória e a perda estrutural da célula se faz mais tardiamente (Takemura et al., 1998).

Existem evidências, porém, de que o apoptose está diretamente ligado a reperfusão. No entanto, constatada -se a presença de células apoptóticas nas regiões adjacentes do tecido necrosado (Veinot et al., 1997; Saraste et al., 1997).

A necrose é, em geral, uma forma de morte rápida da célula (Sulpice et al., 1993). As mudanças observadas em nível celular incluem desnaturação e coagulação de proteínas citoplasmáticas e destruição de organelas celulares (Ide et al., 2001; Ciulla et al., 2004). A apoptose, entretanto, parece envolver um processo dependente de uma fonte de energia na qual o processo é geneticamente controlado (Sam et al., 1989).

O IM é associado com o desenvolvimento de uma zona de necrose a qual afeta o papel do VE (Deten, 2001). Uma alta infiltração inflamatória na parede ventricular é observada. Portanto, esse processo leva à perda de miócitos cardíacos na área de formação do processo de cicatrização. Por isso, os organismos lançam mãos do processo de reparação, procurando manter a integridade da estrutura do VE. Uma série de respostas celulares envolvendo sinalização célula-célula serve para regular a reparação tecidual (Deten, 2001). Inicialmente, células inflamatórias são recrutadas e invadem a área de infarto, peptídeos regulatórios são ativados e ocorre formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese) e fibroblastos (Weber et al., 1995; Deten, 2001; Delcarye & Swynghedauw, 2002; Ciulla et al., 2004).

O processo inflamatório inicial de cicatrização é resultante da formação de tecido granular, seguido pela fibrinogênese e formação de tecido cicatricial. No caso de infarto transmural, todo coração está envolvido no processo de reparação, mesmo não sendo necessária à formação de tecido fibroso nas áreas remotas ao IM fazendo que o processo de remodelamento envolva também o miocárdio não infartado. (Josephson et al., 1991; Deten, 2001).

INTRODUÇÃO

Hipertrofia e fibroses são duas condições que ocorrem simultaneamente no miocárdio, durante o remodelamento, facilitando a dilatação ventricular. Há aumento no volume de colágeno no miocárdio sobrevivente o qual depende do grau de sobrecarga hemodinâmica e da regulação neurohumoral (Levine et al., 1982; Goldsmith et al., 1983). O uso de β -bloqueadores, inibidores da ECA e de receptores AT_1 (receptores da angiotensina), reduz o grau de remodelamento após infarto ao mesmo tempo em que reduz a sobrecarga hemodinâmica (Ocaranza et al., 2002; Weber et al., 1995; Delcayre & Swynghedauw, 2002; Mill et al., 2003).

Os miócitos representam 30% do número total de células do miocárdio, sendo as outras células, as da musculatura lisa vascular, as células endoteliais e os fibroblastos, entre outras. Circundando e integrando toda essas estruturas, encontra-se, uma complexa e organizada rede de colágeno (Weber et al., 1995). As principais funções dessa rede seriam regular e resistir às deformações patológicas, mantendo o alinhamento das fibras cardíacas (Weber et al., 1995; Deten, 2001). Entretanto, é bem documentado que há um acúmulo de colágeno (fibrose) em situações patológicas como a do IM (Deten, 2001; Mill et al., 2003) A fibrose está associada à deterioração da função ventricular (Mill et al., 2003). Normalmente, as fibras de colágeno são firmemente justapostas com fortes ligações químicas, o que as torna resistentes à degradação causada pelas metaloproteinases (MMPs) (Cleutjens, 1995; Spinale et al., 1999; Deten et al., 2001).

1.3. Regulação Neurohumoral

Uma série de estudos realizados em pacientes (Franciosa et al., 1972) e em ratos (Mill et al., 1990), tem demonstrado que o IM leva ao desenvolvimento de disfunção ventricular esquerda. É conhecido que um grande número de mecanismos contribui para o remodelamento cardíaco, no qual o sistema neurohumoral participa.

Atribui-se a ativação neurohumoral um mecanismo de vasoconstrição inapropriada, o que é observado em pacientes com IC, por um aumento nos níveis de noradrenalina (NE) plasmática e um notável, mas variável, aumento na atividade da

INTRODUÇÃO

renina plasmática (Levine et al., 1982; Goldsmith et al., 1983). Visto que potentes hormônios vasoconstritores estão aumentados nessa síndrome, é atrativo postular que a estimulação hormonal leva a vasoconstrição e a uma futura deficiência na função ventricular. (Cohn., 1991).

Indiretamente, a angiotensina II (Ang II) pode ter um efeito inotrópico positivo, via indução de outros neuro-hormônios, semelhante à NE, como demonstrado pelo aumento da atividade do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA) em ratos que tiveram injúria de miocárdio mediante infusão de isoproterenol (Grimm et al., 1999).

A disfunção persistente do miocárdio resulta na diminuição da pressão de perfusão de órgãos vitais, ativando mecanismos reflexos neurogênicos e humorais compensatórios, úteis na regulação em longo prazo, o que leva ao aumento de pressão arterial, à retenção de fluidos e eletrólitos, e ao remodelamento do VE. Com o tempo, forma-se um ciclo vicioso que leva à progressão da IC (Monarchini, 1998).

O aumento nos níveis das catecolaminas, juntamente com os níveis de renina e Ang II ocorre em relação à severidade da IC, e são considerados preditores independentes de mortalidade (Cohn et al., 1984; Spinale, 1985; Swedberg et al., 1990).

1.4. Angiotensina

A Ang II é o principal hormônio peptídico do SRAA, tendo um importante papel na fisiopatologia da doença cardiovascular, incluindo a aterosclerose e IM (Resende et al., 2002), além de apresentar ação mitogênica (Viedt et al., 2000). A Ang II exerce efeitos hipertróficos e hiperplásicos pela ativação de receptores AT1 (Johnston et al., 1990; Sladek., 1996). O estudo inicial sobre o papel da Ang II é focalizado na sua ação vasoconstrictora. Entretanto, sua ação em células do músculo liso vascular e cardiomiócitos estão associadas com a contração pela mobilização do Cálcio (Ca^{2+}) intracelular. A Ang II ativa a fosfolipase C, resultando na produção de inositol trifosfato (IP_3) e diacilglicerol, o que induz a mobilização de Ca^{2+} e a ativação de proteína quinase C respectivamente (Murphy et al., 1991).

INTRODUÇÃO

Por sua vez o estresse mecânico por estiramento pode estimular a secreção de Ang II por miócitos cardíacos, levando à hipertrofia através estimulação de receptores AT1 (Yamazaki et al., 1995).

A adaptação funcional e morfológica em nível celular é acompanhada pelo aumento de receptores AT1, o qual pode implicar na modulação da resposta de crescimento celular em tecido viável após IM (Meggs et al., 1993).

A concentração da ECA é significativamente aumentada em todas as câmaras cardíacas no IM e, particularmente, no tecido cicatricial (Johnston et al., 1990; Mill et al., 1997). A atividade da ECA no tecido cicatricial aumenta a concentração de Ang II na borda da área de infarto, sendo que esse aumento contribui para a formação de fibrose e hipertrofia de miócitos viáveis do VE após IM (Busatto et al., 1997). Outros estudos, portanto, demonstram que a atividade da ECA nos ventrículos é bem mais evidente após IM, porém a cicatriz fibrosa apresenta atividade da ECA maior do que no tecido viável remanescente ao IM (Mill et al., 1997).

A presença de ECA no tecido cicatricial do VE pode estar associada com a presença de macrófagos e de fibroblastos. Ambos têm demonstrado apresentar atividade da ECA (Johnston et al., 1990). O pequeno aumento da ECA em fases mais precoces de evolução do infarto deve decorrer do aumento local de macrófagos, que participam da reabsorção do tecido necrosado. Ao fim do período de reabsorção aumenta a presença local de miofibroblastos que também expressam a ECA em grande quantidade (Busatto et al., 1997).

Um outro fator relevante é a possível interação das ações da atividade do sistema nervoso simpático e liberação de catecolaminas, proveniente da atividade da Ang II. O aumento na concentração de Ang II pode representar um importante mecanismo regulador do aumento da atividade simpática. A ativação de receptores AT2 resulta em aumento dos níveis de NE circulantes (Clemson et al., 1994). Estudos sugerem que a Ang II parece produzir necrose independentemente dos efeitos resultantes da atividade simpática ou facilitada pela liberação de catecolaminas (Tan et al., 1991).

1.5. Intervenção Terapêutica

O captopril (1- [(2S)-3- mercapto-2-metil propionyl]-L-proline) é um inibidor da ECA (IECA) que reduz a resistência periférica e a pressão arterial (Sypniewski, et al., 1996). A intervenção terapêutica em humanos com IECA produz efeitos positivos na reversão do processo de remodelamento, resultados esses que são comparáveis com os resultados obtidos com os β -bloqueadores (Takahashi et al., 2004; Pilote et al., 2005). O tratamento de ratos com IM e tratados com IECA foram associados com a prevenção do processo de remodelamento cardíaco (Pfeffer et al., 1992). O trabalho inicial de Pfeffer e colaboradores em 1992 utilizando também, modelo de IM em ratos correlaciona a extensão do infarto com o grau de remodelamento ventricular (Pfeffer et al., 1992). Esses investigadores demonstraram que o uso de IECA como o captopril, iniciado logo após o IM, atenua o processo de remodelamento cardíaco e mostram ainda, que o tratamento por longo prazo com IECA efetivamente previne a hipertrofia cardíaca na presença de hipertensão ou IM (Pfeffer et al., 1992). O IECA não apenas tem seu efeito em nível sistêmico, mas age localmente reduzindo a formação de Ang II, aumenta o acúmulo de cininas (Bradicinina) e atenua a atividade simpática (Linz et al., 1995)

Estudos realizados no laboratório têm confirmado os efeitos hipertróficos da Ang II, e que o tratamento de ratos infartado com captopril reduz a hipertrofia de VD (Mill et al., 1997). Outro achado importante é que o captopril reduz o peso da área de cicatriz (Mill et al., 1997).

1.6. Eletrocardiograma

Einthoven desenvolveu o eletrocardiograma (ECG) há 100 anos atrás e a técnica continua a ter grande utilidade para identificar área de necrose no coração do homem e de rato (Mill et al., 1990; Rosen, 2002).

A eletrocardiografia é uma técnica simples e não invasiva com ampla aplicabilidade experimental no diagnóstico de arritmias (Mulay e Quadri, 2004), hipertrofia (Sosnowski et al., 2005), isquemia e IM (Zeymer et al., 2005).

A interpretação do ECG permanece muito empírica e é importante estabelecer o mecanismo relacionado entre o processo celular e o ECG, (Gima & Rudy, 2002). Em condições fisiológicas normais, a heterogeneidade do potencial de ação no miocárdio e sua correspondente corrente iônica determinam as ondas ou deflexões do ECG na ativação (despolarização) e na recuperação (repolarização) (Gima& Rudy, 2002).

Estudos mostram que a massa ventricular pode ser avaliada pela voltagem do complexo QRS (ativação ventricular) (Dhinga et al., 2005). É possível também que o aumento na amplitude do QRS pelo aumento da massa ventricular possa ser resultado de processos patológicos como a hipertensão e o IM. Já, o prolongamento do QRS pode ser resultado da dilatação ventricular, com concomitante aumento no tempo de condução do potencial elétrico cardíaco (Sosnowski et al., 2005 e Dhinga et al., 2005).

O rato tem sido um bom modelo para estudo do processo de remodelamento e alguns aspectos fisiopatológicos de insuficiência cardíaca desenvolvida após IM (Pfeffer et al., 1985; Bech et al., 1989).

Os valores dos componentes do ECG em ratos normais diferem principalmente na voltagem e na duração dos seus eventos. O ECG normal no rato assemelha-se ao do homem com exceção das variáveis temporais. Entretanto, certas diferenças importantes necessitam ser apontadas. As deflexões P, Q, R, S e T são semelhantes no homem e no rato. No rato é característica a ausência do segmento ST e a onda T que normalmente é positiva e acompanha em direção contínua a onda S (Sambhi et al 1959). Em condições normais a onda Q é ausente ou rudimentar em D₁ e ocasionalmente uma onda Q é vista em aVL. A onda R está presente em todas as derivações e S é observada em quase todas as derivações (Sambhi et al., 1959).

INTRODUÇÃO

O ECG em ratos pode ser amplamente estudado pela facilidade de se ter uma população homogênea tanto em condições normais como no IM experimental.

Estudo realizado por Normann et al (1961) observou em ratos a presença de onda Q patológica em D₁ 2 horas após a ligação da artéria coronária esquerda, um sinal que permaneceu constante até o sétimo dia. A onda Q patológica no ECG é considerada um indicativo da presença de necrose do miocárdio em ratos (Bonilha et al., 2005).

A orientação anatômica do coração situa-se na direção ântero-posterior e da direita para a esquerda (Sambhi et al., 1959) e a orientação do vetor médio do eixo elétrico do QRS no plano frontal varia de 30 a 60 graus (Lombard, 1952).

A diferença na massa ventricular de VE e VD e a posição do coração em ratos normais são responsáveis pela orientação espacial do QRS no plano frontal (Sambhi et al., 1959). O peso corporal também pode interferir na orientação espacial do complexo QRS tanto no plano horizontal como no plano frontal (Sambhi et al., 1959; Bonilha et al., 2005). Os ratos normais e com IM diferem na disposição espacial do complexo QRS. O ângulo do QRS está predominantemente posicionado entre +90 e +270 graus (Bonilha et al., 2005).

Todas as evidências direcionam os estudos para a determinação da extensão do infarto, visto que existe uma forte correlação entre o tamanho do infarto e o tempo de sobrevida (Pfeffer et al., 1985).

OBJETIVOS

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar as alterações eletrocardiográficas nos ratos submetidos à ligadura da artéria coronária esquerda, quanto à presença e o tamanho de infarto do miocárdio.

Objetivos Específicos

1. Verificar quais as alterações e a estabilidade temporal do registro eletrocardiográfico em ratos, após ligadura da artéria coronária esquerda.
2. Determinar a sensibilidade e especificidade do eletrocardiograma como preditor de infarto do miocárdio na presença de onda Q em D₁.
3. Correlacionar a amplitude da onda Q em D₁ com o tamanho da área enfartada, em ratos com infarto agudo do miocárdio.
4. Verificar a estabilidade do eletrocardiograma no processo de remodelamento ventricular após infarto do miocárdio.

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais Experimentais

Neste estudo foram usados ratos albinos machos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, provenientes do Biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes). Ao longo do estudo, foram usados 213 animais, com dois a três meses de idade quando incluídos em um dos protocolos experimentais. O peso corporal inicial dos animais situou-se entre 170 e 220 g. Durante todo o período experimental os animais tiveram livre acesso à água de beber e ração para roedores.

3.2. Protocolos Experimentais

Visando atender aos objetivos gerais e específicos estabelecidos no estudo, foram desenvolvidos três protocolos experimentais descritos a seguir.

3.2.1. Curso Temporal das Alterações Eletrocardiográficas no Infarto

A ligadura da artéria coronária esquerda ou de seus ramos determina profundas alterações estruturais do ventrículo, incluindo perda de tecido contrátil, o qual é substituído por tecido fibroso, acompanhado de hipertrofia do miocárdio remanescente dos ventrículos direito e esquerdo, dilatação da câmara ventricular esquerda, crescimento das câmaras atriais, notadamente do átrio esquerdo, dentre outras. Tais alterações são usualmente englobadas sob a denominação de “remodelamento cardíaco” ou “remodelamento ventricular”. Desta forma, um dos objetivos a ser atingido com este protocolo era verificar a estabilidade das alterações eletrocardiográficas produzidas ao longo do processo de remodelamento.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste protocolo foram utilizados 129 animais, os quais foram divididos em 3 grupos: Controle (CO, n = 14), onde os animais não foram submetidos a qualquer tipo de intervenção cirúrgica; Falso Operado (FO, n = 27), onde os animais foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico para a produção do infarto do miocárdio, exceto que o fio que foi passado em torno dos vasos coronarianos não foi amarrado e, finalmente, o grupo Infarto do Miocárdio (IM, n = 88) onde o infarto do miocárdio foi produzido de acordo com a técnica descrita adiante. Nestes animais foi feito o registro do ECG imediatamente antes da realização da cirurgia (considerado o dia 0) e aos 3, 7, 15 e 30 dias após. De acordo com a evolução do processo de cicatriz e remodelamento ventricular após infarto pode-se dizer que o registro obtido aos 3 dias coincide com a fase sub-aguda do infarto e o de 30 dias à fase crônica do infarto (Fishbein et al., 1978, Mill et al., 1990).

3.2.2. Precocidade das Alterações Eletrocardiográficas no Infarto

Estudos anteriores de eletrocardiografia em ratos com infarto já demonstraram a validade do aparecimento da onda Q em D1 como indicador de presença de infarto após ligadura coronária (Santos & Masuda., 1991). Neste protocolo procuramos determinar quão precoce é o aparecimento da onda Q após a ligadura coronariana e se a amplitude de Q se relaciona com o tamanho do infarto.

Para isso foram usados 16 ratos, sendo 4 FO e 12 submetidos à ligadura coronariana para produção de infarto. O ECG foi registrado antes da cirurgia e, sob idênticas condições, 1, 3, 6, 12 e 24 horas após o procedimento cirúrgico. A extensão do infarto neste protocolo foi determinada pelo uso da técnica de coloração vital com o tri-feniltetrazólio (TFT), a qual será descrita adiante.

3.2.3. Determinação de Alterações no Eletrocardiograma após Intervenção no Remodelamento Cardíaco

O remodelamento cardíaco pode ser alterado pelo uso crônico de uma série de drogas que interferem na hipertrofia do miocárdio remanescente e na progressão da dilatação ventricular. Classicamente os inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA) são as drogas mais utilizadas para esta finalidade, tanto em animais de laboratório como em humanos. Para a realização deste protocolo foi feito o tratamento crônico dos animais com captopril (Cap) tendo em vista a larga experiência com o uso deste iECA no remodelamento ventricular após infarto em ratos.

Foram utilizados 68 ratos divididos em um grupo de animais sem tratamento e outro grupo de animais tratados. Permaneceram sem tratamento um grupo de animais FO (n = 7) e um grupo de animais com IM (n= 12). Um grupo de animais falso operado (FO_{Cap}, n = 8) e outro com ligadura coronária (IM_{Cap}, n = 21) passou a receber tratamento com captopril adicionado à água de beber imediatamente após a realização da cirurgia. Após 30 dias de tratamento, foram analisados os parâmetros eletrocardiográficos, hemodinâmicos e morfológicos de todos os animais do grupo FO_{Cap} e da metade dos animais do grupo IM_{Cap}. O restante deste grupo teve o tratamento interrompido e os registros foram obtidos após 60 dias da cirurgia de ligadura coronariana. O quinto grupo deste protocolo (IM_{Cap60}, n = 20) permaneceu inicialmente sem tratamento. Uma parte destes animais foi estudada após 30 dias de cirurgia. A outra começou a ser tratada com captopril após 30 dias de infarto, isto é, o tratamento foi iniciado após o remodelamento ventricular já estar completo (Pfeffer et al., 1979; Mill et al., 1990). Neste grupo, os registros eletrocardiográficos, hemodinâmicos e morfológicos foram obtidos aos 60 dias de evolução do infarto. O captopril (Imafar) foi adicionado à água de beber na concentração de 1 g/l, sendo que a solução contendo a droga era trocada diariamente.

3. 3. Produção de Infarto do Miocárdio

O infarto do miocárdio (IM) foi produzido de acordo com técnica padronizada no laboratório (Mill et al., 1990). Resumidamente, a indução da anestesia geral era feita em câmara fechada com Halotano (Cristália) e mantida em ambiente aberto com éter etílico anestésico (Reagen) durante a realização da cirurgia. Os animais foram submetidos à toracotomia no 4^o espaço intercostal esquerdo. Através da abertura, o coração era exteriorizado e a artéria coronária descendente anterior esquerda era ligada logo abaixo da borda do átrio esquerdo, usando fio de mononylon 6.0 montado em agulha não traumática (Medical Line). Após a ligadura o tórax era imediatamente fechado com sutura em bolsa previamente preparada. A grande maioria dos animais recuperava a respiração espontaneamente logo após o fechamento da caixa torácica. Uns poucos animais necessitavam de ventilação mecânica feita com máscara de borracha aplicada diretamente sobre os orifícios nasais. Esta era interrompida assim que os animais recuperavam os movimentos respiratórios espontâneos.

Os animais FO foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos. Nestes o fio de mononylon foi apenas transpassado pelo músculo cardíaco, sem fazer a ligadura da artéria coronária.

3.4. Registro do Eletrocardiograma

Todos os registros do eletrocardiograma (ECG) foram realizados sob anestesia com éter etílico (Reagen). Os animais eram colocados em decúbito dorsal em uma mesa cirúrgica confeccionada em madeira. Os membros anteriores eram fixados com fita adesiva em ângulo de 90^o em relação ao tórax sem que fossem excessivamente tracionados. Os membros posteriores eram deixados sem fixação ou eram fixados a partir de sua posição natural adotada pelo animal neste tipo de decúbito e sob anestesia. Os eletrodos do aparelho de ECG foram adaptados a agulhas de metal (BD, 25 x 7), as quais eram introduzidas no espaço subcutâneo dos membros anteriores e posteriores. Os eletrodos foram introduzidos segundo a padronização preconizada no

MATERIAIS E MÉTODOS

triângulo de Einthoven (terra inserido na pata posterior direita), visando obter as derivações eletrocardiográficas bipolares (D1, D2 e D3) e unipolares (aVR, aVL e aVF) do plano frontal. O sinal eletrocardiográfico era pré-amplificado e visualizado em tela de osciloscópio (Ecafix TC 50) e registrado em papel termossensível (Funbec RG 300), com resposta linear entre DC e 0,5 KHz, com velocidade de 100 mm/s e ganho de 20 mm/mV. A calibração do registrador era feita através de onda quadrada de 1 mV gerada no próprio pré-amplificador. Os ajustes de capacitância do registrador eram feitos antes da obtenção do ECG de cada animal. O amortecimento do transiente capacitivo era feito até o ponto necessário para que a forma das ondas do ECG visualizadas no osciloscópio e no registrador terem o padrão o mais semelhante possível, notadamente em relação à amplitude do complexo QRS.

Em cada registro de ECG os seguintes parâmetros eram obtidos: frequência cardíaca (pelo intervalo RR), duração do intervalo P-R (início da onda P ao início do QRS), duração do QRS, presença ou não da onda Q em D1 e, no caso de estar presente, sua amplitude, a amplitude total do complexo QRS (soma das ondas R e S) nas 6 derivações do plano frontal e o eixo médio de ativação ventricular (calculado pelo ângulo médio do vetor QRS e dado pela soma vetorial das amplitudes do complexo QRS em D1 e aVF). As medidas foram obtidas nos registros originais com paquímetro com precisão de 0,1 mm. Considerando as condições de registro e de leitura, a precisão alcançada nas leituras é de cerca de 5 ms e 50 μ V.

As principais medidas obtidas nos registros do eletrocardiograma são mostradas na figura 1.

3.5. Medidas Hemodinâmicas

A hemodinâmica foi feita nos animais inseridos no protocolo 2.2.3 tendo sido realizadas sob anestesia com quetamina (90 mg/Kg, Critália) e xilazina (10 mg/Kg, Bayer). Após a anestesia os animais eram colocados em decúbito dorsal na mesa cirúrgica. Uma incisão era feita na região mediana do pescoço para acesso à veia jugular externa e carótida comum direitas. Inicialmente um cateter (PE 50) preenchido

MATERIAIS E MÉTODOS

com solução salina heparinizada (50 U/ml – Ariston Heparina Sódica) era introduzido na veia jugular e avançado até a cavidade ventricular direita, visando obter registros da curva pressórica. O cateter era conectado a um transdutor de pressão (TSD 104) o qual era acoplado a um sistema de aquisição de dados (Acq Knowledge III – MP100 WSW BIOPAC Systems, Inc, USA) e, com isso, obter as medidas da pressão diastólica final, pressão máxima e derivada máxima de pressão (dP/dt_{Max}) desenvolvidas na sístole. Após estabilização dos registros, os valores de cada animal eram anotados em função da média observada para um período de registro de 15 minutos. Os registros das pressões ventriculares foram obtidos através de um cateter de polietileno (PE 50). O acesso à cavidade do ventrículo direito foi feito via veia jugular superior e o acesso à cavidade do ventrículo esquerdo foi feito via artéria carótida direita. Antes de inserir o cateter no ventrículo esquerdo foi obtido os registros da pressão arterial sistólica e diastólica. A pressão arterial média era obtida eletronicamente. Do ventrículo direito e esquerdo foram obtidos os valores da pressão diastólica final, pressão máxima desenvolvida e dP/dt_{Max} durante a sístole.

3.6. Medidas Morfológicas

3.6.1. Peso das Câmaras Ventriculares

Os animais eram anestesiados com éter, pesados, e tinham seccionados os vasos do pescoço. O coração era imediatamente retirado e perfundido pelo coto aórtico com solução de Krebs-Henseleit por cerca de 2 minutos, tempo suficiente para remover todo o sangue contido nas cavidades e na árvore coronariana. Em seguida, os átrios eram separados dos ventrículos por secção do anel atrioventricular. A parede livre do ventrículo direito era dissecada com tesoura de ponta fina. As duas câmaras ventriculares eram rapidamente secadas em papel de filtro e pesadas para determinação do peso úmido, o qual podia ser corrigido para o peso corporal medido antes do animal ser sacrificado.

3.6.2. Determinação do Tamanho do Infarto

Nos ratos sacrificados com duas ou mais semanas de ligadura coronariana, a presença de infarto pode ser facilmente constatada pela presença da cicatriz fibrosa que, nesse modelo animal, ocupa a porção ântero-lateral do ventrículo esquerdo. Assim, o infarto do miocárdio foi considerado presente, quando a presença de cicatriz transmural pudesse ser facilmente identificada à vista desarmada após a abertura do ventrículo esquerdo ao longo do septo interventricular. No infarto crônico a cicatriz era cuidadosamente ressecada do músculo ventricular remanescente através de visualização em lupa com aumento de cerca de 4 vezes. Após a ressecção e remoção do excesso de água com papel de filtro, era feita a pesagem dos dois fragmentos para a determinação do peso úmido. Os fragmentos eram então colocados sobre uma folha de papel milimetrado para obtenção do contorno das duas peças: o tecido cicatricial e o músculo ventricular remanescente. O tamanho da área infartada foi considerado igual à área ocupada pela cicatriz, a qual pode ser expressa em valores absolutos (mm^2) ou em valores relativos (% da área total do ventrículo esquerdo).

Nos infartos analisados na fase aguda a extensão do infarto era feita com a utilização da técnica do trifeniltetrazólio (TFT). O coração era retirado e lavado como descrito acima. O ventrículo direito era ressecado e o ventrículo esquerdo era seccionado transversalmente de modo a se obter quatro cortes: basal, médio-superior, médio-inferior e apical. Os cortes eram rapidamente mergulhados em solução de TFT (Sigma) a 1% preparada em tampão fosfato (pH = 7,4) e mantidos em banho-maria a 37°C. As regiões viáveis do músculo cardíaco foram dadas pela geração local de NADP-H₂ que adquirem rapidamente uma coloração vermelho-tijolo, enquanto a região com infarto adquire coloração de branco-perolácea. Após a coloração (5-10 minutos) os fragmentos eram visualizados em lupa (aumento de cerca de 4 X) para separação dos segmentos de tecido com diferentes coloração. Esses fragmentos eram pesados e a extensão do infarto, dada em termos absolutos (mg) ou relativos (fração da massa do ventrículo esquerdo infartada) (Vivaldi et al., 1985).

3.7. Análise Estatística

Os dados referentes a variáveis contínuas foram dados como média \pm erro padrão da média (epm). A comparação de duas médias foi feita pelo teste t de Student e a comparação de mais de duas médias foi feita por análise de variância (Anova) de uma via, seguida do teste t protegido de Bonferroni. As variáveis descontínuas foram expressas como percentagens e seus respectivos intervalos de confiança para 95% (IC_{95%}). O grau de correlação entre duas variáveis contínuas foi calculado pelo coeficiente r de Pearson. A significância estatística foi estabelecida para $P < 0.05$.

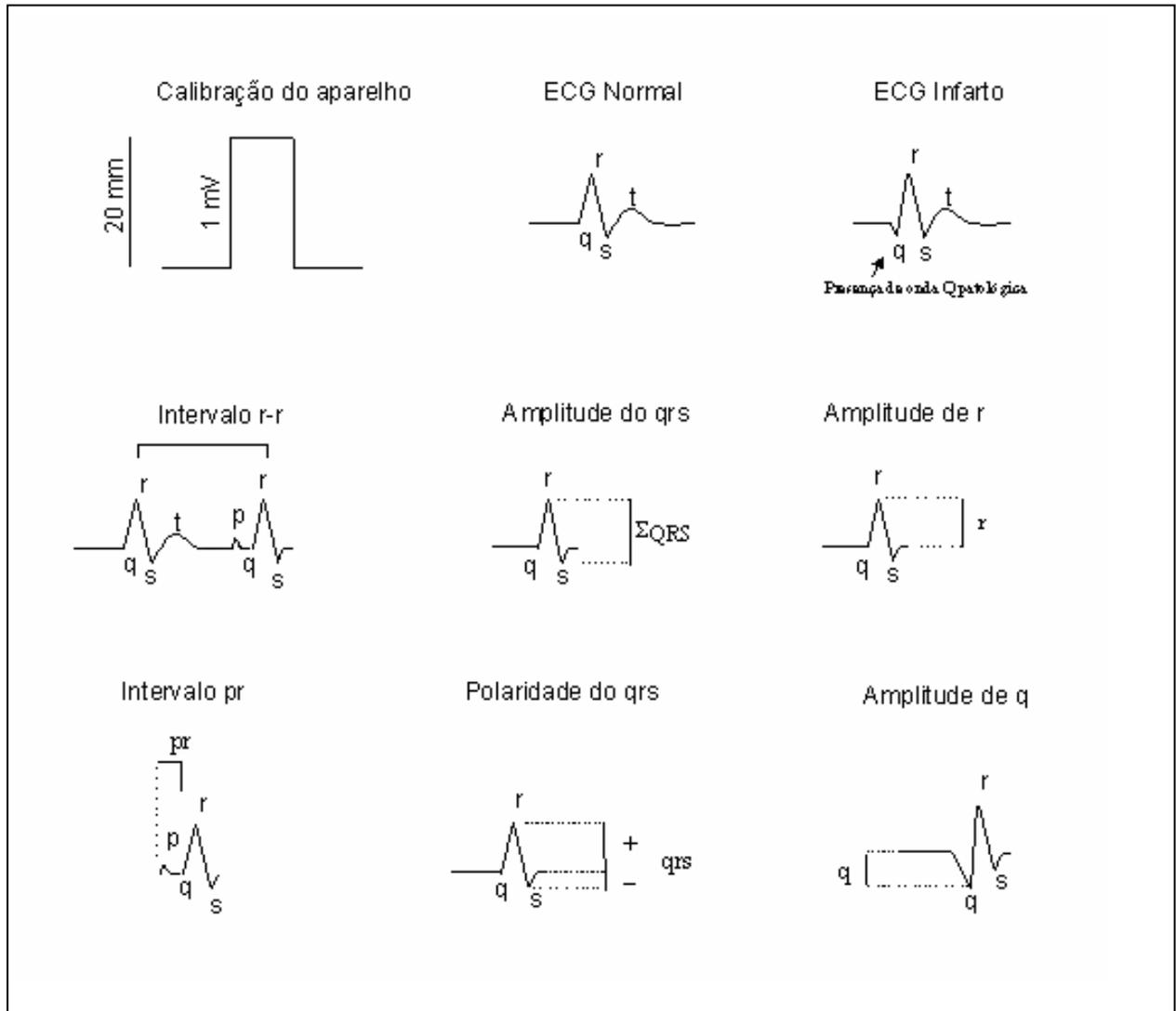


Figura 1. Demonstra como foram obtidos os valores de leitura do ECG no rato. Calibração do aparelho, traçado ECG normal, presença de onda Q patológica encontrado nos ratos com infarto, intervalo RR, utilizado para calcular a FC, amplitude do complexo QRS pela somatória das ondas positivas e negativas, amplitude da onda R, intervalo PR, polaridade do complexo QRS pela diferença entre as ondas positivas e negativas e amplitude da onda Q. Os valores são apresentados em mV.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Mortalidade

Foram utilizados neste estudo 213 ratos divididos em três grandes grupos, denominados controle (CO = 21), falso operado (FO = 47) e com ligadura da artéria coronária LAC (IM = 145). Dois animais FO morreram no decorrer do estudo. Dos 145 animais submetidos a LAC 27 morreram (19%), sendo que 21 imediatamente após a cirurgia e outros 6 animais até 2 dias após a ligadura.

4.2. Onda Q como Preditor de Infarto

A ausência da onda Q no registro eletrocardiográfico é uma condição normal no rato. Portanto, a presença da onda Q indica uma condição patológica cardíaca, como pode ser visto nos animais experimentais com LAC (Figura 2).

A quase totalidade dos animais teve registros eletrocardiográficos seguindo os padrões mostrados na Figura 2. Entretanto, um dos animais do grupo FO apresentava uma nítida onda Q em D1 no registro de 30 dias, como mostra a Figura 3, apesar de não apresentar nenhuma evidência de cicatriz de infarto na autópsia. Esse animal, portanto, constitui um falso positivo. Essa condição não foi observada entre os demais animais do grupo FO.

A onda Q pode então ser utilizada como um indicador da presença de IM. Para determinar a sensibilidade e especificidade da presença de onda Q em D1 como preditor da presença de infarto, utilizamos um grupo de 88 animais submetidos a LAC. Destes, 69 (79%) sobreviveram e foram mantidos por 30 dias antes de serem sacrificados. A partir dos registros eletrocardiográficos desses animais, constatamos que 8 não apresentavam onda Q e também não apresentavam cicatriz de infarto.

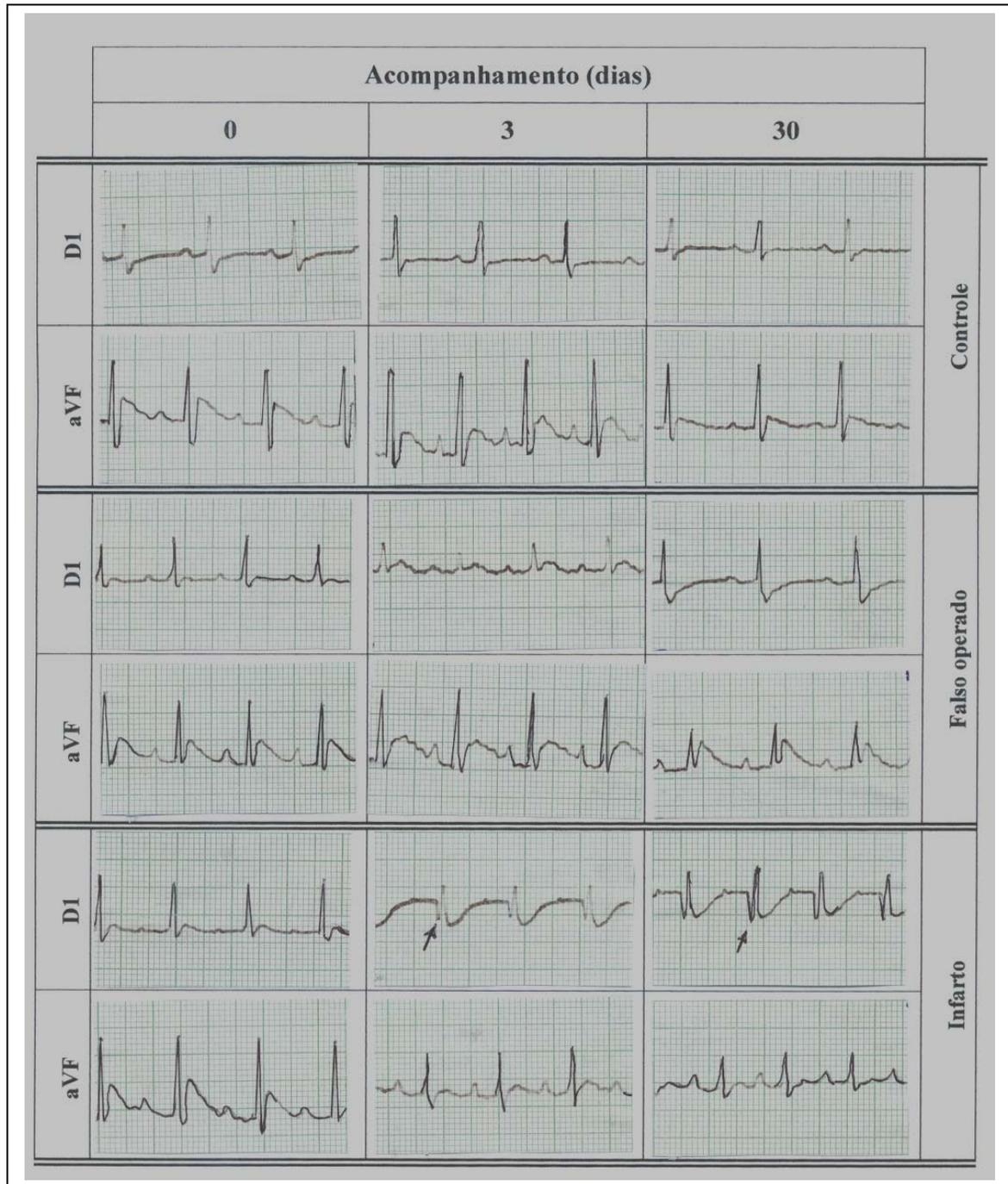


Figura 2. Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF na condição controle na condição controle (dia 0) e aos 3 e 30 dias de seguimento. As setas indicam a presença da onda Q na derivação D1. O animal Controle não sofreu qualquer intervenção cirúrgica. O animal Falso Operado foi submetido ao processo cirúrgico mas o fio em todo da coronária não foi amarrado. O animal Infarto sofreu a ligadura coronariana e apresentava cicatriz de infarto após ser sacrificado.

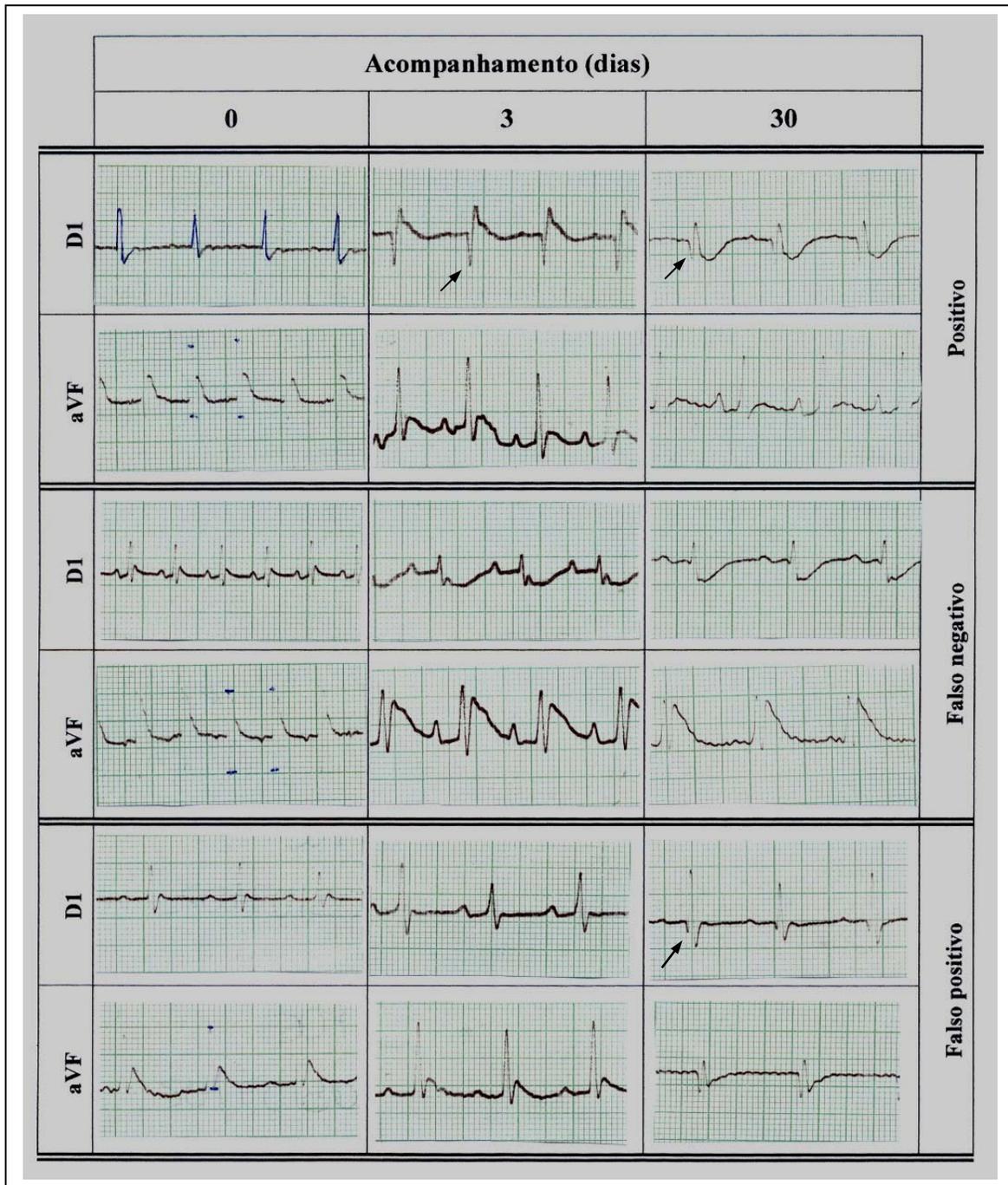


Figura 3. Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF na condição controle (dia 0) e aos 3 e 30 dias de seguimento. As setas indicam a presença da onda Q na derivação D1. O registro superior (Positivo) mostra do ECG de um animal com onda Q e área de cicatriz. O Falso negativo indica um animal que não apresentava onda Q, mas tinha cicatriz de infarto. O Falso Positivo apresentava onda Q em D1 e não apresentava área de cicatriz.

RESULTADOS

A presença de tecido cicatrizado de fácil identificação visual e localizado na região antero-lateral do VE foi constatada em 61 (88%) dos animais. Desses animais a onda Q foi observada em 54 (88%), constituindo os verdadeiro positivos. Nos outros 7 (11%) não foi observada a presença da onda Q aos 30 dias, apesar de terem tecido cicatrizado, constituindo o grupo de falso-negativos. A visualização desses números pode ser mais bem analisada na tabela 1.

Tabela 1. Presença da onda Q em D1 e Cicatriz de Infarto em animais sacrificados após 30 dias da LAC.

	Cicatriz de Infarto			
		Presente	Ausente	Total
Onda Q em D1	Presente	54	1	55
	Ausente	7	8	15
	Total	61	9	70

A partir destes dados pode-se determinar a sensibilidade e especificidade da presença de onda Q em D1 como indicador da presença de IM nos animais com LAC. Assim, podemos inferir que a sensibilidade da onda Q em D1 foi de 89% ($CI_{95} = 81\% - 97\%$). A especificidade, por outro lado, foi de 89%, mostrando um excelente balanceamento entre os dois valores. Pode-se também concluir, que o valor preditivo positivo do sinal eletrocardiograma no rato com LAC é de 98% e o valor preditivo negativo é de 53%.

4.3. Estabilidade do ECG no Processo de Cicatrização do Infarto

A figura 2 apresenta os registros eletrocardiográficos nas derivações D1 e aVF em um rato não submetido a qualquer procedimento cirúrgico (Controle), um animal submetido à cirurgia fictícia (Falso Operado) e outro submetido à ligadura coronariana. Observa-se que os registros são similares nos três animais antes de qualquer procedimento cirúrgico. No animal submetido à ligadura coronariana, observa-se o aparecimento da onda Q patológica em D1 já aos 3 dias após a ligadura coronariana, onda essa que se mantém com características praticamente constantes nos registros obtidos no mesmo animal, sob idênticas condições, 7, 15 e 30 dias após o infarto. Além do aparecimento da onda Q também se observa diminuição da amplitude da onda R em D1 determinando deslocamento do eixo médio de ativação ventricular para a direita. Os demais elementos colhidos no ECG, como a frequência cardíaca e duração do intervalo PR permanecem constantes ao longo do processo de cicatrização.

Um resumo dos dados obtidos nos animais incluídos neste protocolo é apresentado a seguir. A Tabela 2 mostra os dados morfológicos e a Tabela 3 os parâmetros eletrocardiográficos. Só foram incluídos nas tabelas os dados dos animais submetidos à ligadura coronariana que, ao final do protocolo (30 dias), apresentavam cicatriz de infarto transmural.

Observa-se que a cirurgia fictícia não produz nenhuma alteração significativa dos pesos ventriculares. O infarto, por sua vez determina significativo aumento dos pesos absoluto e relativo do ventrículo direito, caracterizando a disfunção ventricular esquerda desenvolvida por esses animais. O peso total e relativo do ventrículo foi similar nos três grupos. Isso se deve ao fato de que a cicatriz do infarto, por ser mais fina, tem um volume menor do que o músculo cardíaco perdido por necrose. O peso da cicatriz correspondeu a, aproximadamente 28% do peso total do ventrículo esquerdo. A área da cicatriz, entretanto, ocupou uma fração maior do ventrículo esquerdo. Na grande maioria dos animais a cicatriz ocupava entre 35 e 50% da superfície endocárdica do ventrículo esquerdo.

RESULTADOS

Tabela 2. Peso corporal e dos ventrículos de ratos Controles (CO), Falso-operados (FO) e com Infarto do Miocárdio (IM).

Grupos	CO	FO	IM
N	10	16	20
PC (g)	304 ± 17	291 ± 7	299 ± 12
VE (mg)	630 ± 36	650 ± 24	640 ± 36
VE/PC (mg/g)	2,06 ± 0,06	2,19 ± 0,12	2,20 ± 0,05
VD (mg)	176 ± 20	182 ± 18	332 ± 15 *
VD/PC (mg/g)	0,59 ± 0,03	0,53 ± 0,03	0,72 ± 0,04 *
Cicatriz (mg)	---	---	176 ± 10
Cicatriz (mm)	---	---	137 ± 8
Cicatriz (%)	---	---	46 ± 8

Os resultados foram obtidos 30 dias após a LAC e são apresentados como média ± EPM. N = número de animais; PC = peso corporal, VE = ventrículo esquerdo; VD = ventrículo direito. (*) p < 0,05 vs CO (ANOVA, seguida de teste-t Boferroni)

Observa-se que, dentre os parâmetros analisados na tabela 3, a principal modificação é o deslocamento do eixo médio de ativação ventricular para a direita. Os demais eixos não foram analisados pela baixa amplitude da onda P e pela dificuldade de se determinar o exato início e fim da onda T no eletrocardiograma do rato. Analisamos ainda a estabilidade desse deslocamento. Em 20 animais com IM, em 8 o ÂQRS foi o mesmo aos 3 e 30 dias. Em 8 houve deslocamento adicional para a direita ao longo do processo de cicatrização e nos outros 4 houve maior deslocamento para a direita no início do processo de cicatrização seguida de rotação do eixo para a esquerda nos registros subseqüentes. De regra geral esses deslocamentos foram de pequena magnitude (da ordem de 30°) razão pela qual, ao se analisar os dados do grupo em conjunto, tem-se o eixo elétrico praticamente constante ao longo do processo de cicatrização do infarto (Tabela 3). Em apenas um animal, cujo eixo apresentou valor de

RESULTADOS

+30° no 3° dia após a ligadura, observamos um deslocamento grande do eixo para a direita, pois aos 30 dias o ÂQRS estava em +100°.

Tabela 3. Parâmetros eletrocardiográficos de ratos Controles (CO), Falso-Operados (FO) e com Infarto do Miocárdio (IM) ao longo do processo de cicatrização.

Dias	0	3	7	15	30	
CO (n=10)	FC (bpm)	397 ± 14	415 ± 15	371 ± 9	385 ± 10	408 ± 38
	PR (ms)	54 ± 1,9	52 ± 2,0	53 ± 2,5	51 ± 2	52 ± 1,4
	ÂQRS (°)	+61 ± 2	+66 ± 3	+63 ± 3	+65 ± 2	+64 ± 2
FO (n=16)	FC (bpm)	397 ± 14	415 ± 15	371 ± 9	385 ± 10	408 ± 39
	PR (ms)	57 ± 1	53 ± 2	58 ± 2	52 ± 1	55 ± 2
	ÂQRS (°)	+55 ± 2	+64 ± 6	+64 ± 4	+65 ± 4	+61 ± 3
IM (n=20)	FC (bpm)	426 ± 7	434 ± 8	425 ± 7	403 ± 7	400 ± 6
	PR (ms)	56 ± 1	50 ± 1	53 ± 2	54 ± 2	58 ± 2
	ÂQRS (°)	+60 ± 3	+97 ± 5*	+97 ± 3*	+101 ± 4*	+96 ± 5*

Os resultados estão apresentados como média ± EPM. (n) = número de animais; FC = frequência cardíaca; PR = Intervalo PR; ÂQRS = ângulo do eixo elétrico médio do complexo QRS. (*) p < 0,05 comparado ao tempo zero dentro de cada grupo (ANOVA seguida do teste t de Bonferroni)

RESULTADOS

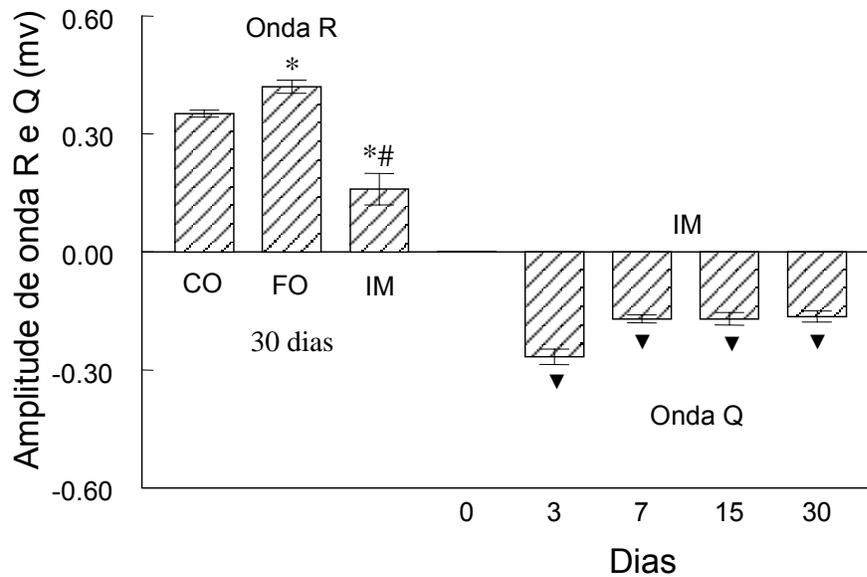


Figura 4. Amplitude de onda R (onda positiva) e Q (onda negativa) em D_1 . Os valores estão apresentados como média e EPM, as diferenças entre grupos, (*) $p < 0,05$ vs CO, (#) $p < 0,05$ vs FO e no grupo (▼) $p < 0,05$ comparado ao tempo zero antes da LAC. Grupos: Controle (CO), Falso Operado (FO) e Infarto (IM).

A Figura 4 mostra a evolução da amplitude da onda R e da onda Q nos animais controle, falso-operado e com infarto ao longo do processo de cicatrização. No grupo FO foi observado aumento significativo em relação ao grupo CO na amplitude da onda R. No grupo com infarto, entretanto, há queda brusca de R aos 3 dias, concomitante com o aparecimento da onda Q, já em sua amplitude máxima. As amplitudes de Q e R não mais se modificam ao longo da cicatrização.

4.4. Alterações Precoces do Eletrocardiograma em Ratos com Ligadura da Artéria Coronária

A Figura 5 mostra os registros eletrocardiográficos D1 a aVF antes da cirurgia e ao longo das primeiras 24 horas após a ligadura fictícia da artéria coronária. A exemplo do que já havia sido visto anteriormente (figuras 2 e 3) não há aparecimento de onda Q nesses animais. Nesse caso específico houve rotação do ÂQRS em cerca de 30° para a esquerda. Os demais parâmetros eletrocardiográficos, incluindo o sentido elétrico da onda T (melhor visualizado em aVF, nesse caso) permaneceram praticamente constantes.

Nos animais submetidos a LAC, a primeira alteração observada está na presença de onda Q em D1 já nas primeiras horas após a LAC. Dos 8 animais incluídos neste protocolo, 2 apresentaram a onda Q já no registro realizado uma hora após a ligadura (figura 6), enquanto que os outros 6 apresentaram a onda Q no registro de 3 horas após a LAC (figura 7). O enorme supradesnivelamento de ST é bem visível em D1 em todos os animais com ligadura coronariana. Este tende a diminuir com a evolução do processo de infarto e praticamente desaparece no registro de 24 horas, onde a inversão da onda T já pode ser observada. É interessante notar ainda a estabilidade da onda P e do intervalo PR (figuras 6 e 7).

Observa-se aumento gradual da amplitude da onda Q nos animais com LCA ao longo das primeiras horas de evolução do infarto (figuras 6 e 7). Esse aumento, a julgar pelos resultados obtidos no protocolo anterior (figura 4), parece atingir a amplitude máxima aos 3 dias, tendendo a sofrer pequena queda e estabilização a partir deste momento.



Figura 5. Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF antes do procedimento cirúrgico (tempo 0) e após 1, 3, 6, 12 e 24 horas de realização de falsa ligadura coronariana.

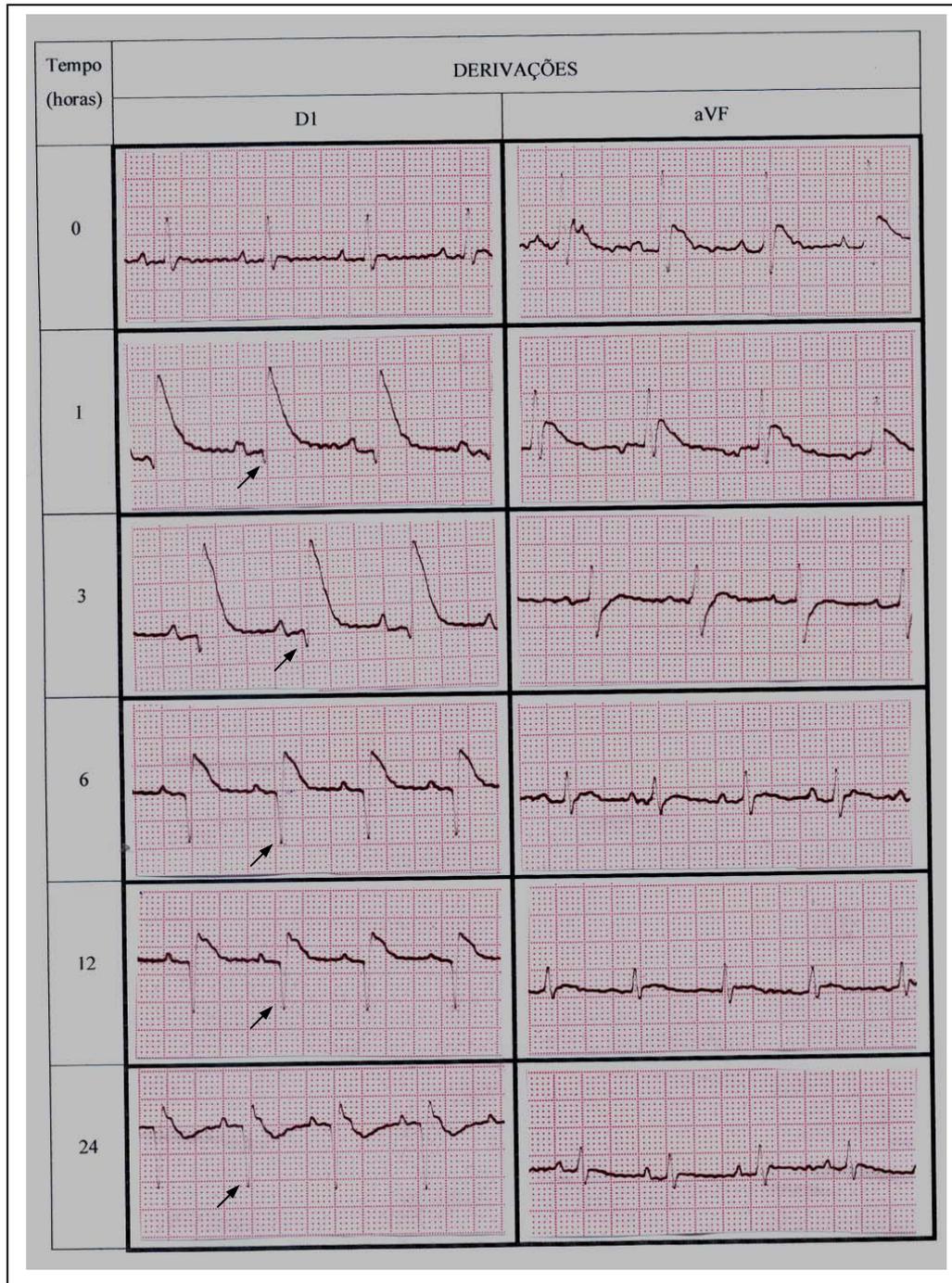


Figura 6. Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF no plano frontal em zero,1,3,6,12 e 24 horas de um animal infartado. As setas indicam a presença da onda Q na derivação D1.

RESULTADOS

A onda R nas primeiras 3 horas aumenta e após as 6 horas diminui concomitante com o aumento da amplitude da onda Q (figura 6 e 7).

O aumento progressivo da onda Q parece ser o maior determinante da rotação para a direita do eixo elétrico médio de ativação ventricular. As alterações do ÂQRS já são observadas na primeira hora após a LAC. Ao final de 24 horas, 7 animais tiveram seus eixos deslocados para a direita ($> + 100^\circ$) e 1 teve seu eixo deslocado para a esquerda (-150°). Os valores médios do ÂQRS estão demonstrados na tabela 4.

Os outros parâmetros avaliados neste protocolo, como a FC e o intervalo PR não apresentaram diferença ao longo do tempo de observação (tabela 4). Os resultados são semelhantes aos observados no primeiro protocolo.

Tabela 4. Parâmetros eletrocardiográficos de ratos Falso-Operados (FO) e com infarto do miocárdio (IM) ao longo de 24 após a LAC.

Horas	0	1	3	6	12	24
FC (bpm)	376 ± 13	318 ± 15	359 ± 10	414 ± 8	439 ± 21	398 ± 26
FO (n=4) PR (ms)	52 ± 2	60 ± 0	60 ± 0	55 ± 3	52 ± 2	57 ± 2
ÂQRS (°)	67 ± 2	45 ± 10	52 ± 8	60 ± 4	65 ± 6	65 ± 6
QD1(mV)	0	0	0	0	0	0
FC (bpm)	385 ± 21	377 ± 21	382 ± 22	399 ± 15	419 ± 10	422 ± 11
IM (n=8) PR (ms)	61 ± 1	65 ± 3	67 ± 2	63 ± 2	59 ± 2	57 ± 2
ÂQRS (°)	54 ± 5	32 ± 14	45 ± 16	71 ± 19	79 ± 35	91 ± 34
QD1(mV)	0	-0,04 ± 0,03	-0,16 ± 0,03	-0,23 ± 0,04	-0,24 ± 0,03	-0,32 ± 0,04 *

Os resultados estão apresentados como média ± EPM. (n) = número de animais; FC = frequência cardíaca; PR = Intervalo PR; ÂQRS = ângulo do eixo elétrico médio do complexo QRS. * p < 0,05 comparado aos registros realizados 3 horas após a LAC.



Figura 7. Registro eletrocardiográfico das derivações D1 e aVF no plano frontal em zero,1,3,6,12 e 24 horas de um animal infartado. As setas indicam a presença da onda Q na derivação D1.

4.5. Correlação entre Amplitude de Onda Q e a Extensão do Infarto

Neste protocolo os animais foram sacrificados 24 h após a LAC e a presença e a extensão do infarto foram avaliadas pela técnica do trifeniltetrazólio. Nesse caso, o tamanho do infarto foi aferido através da fração do peso do ventrículo esquerdo que não se corou pelo trifeniltetrazólio. Observamos que existiu uma correlação significativa ($r = 0,76$; $p < 0,05$) entre a extensão do infarto e a amplitude da onda Q medida no eletrocardiograma registrado 24 h após a LAC (figura 8).

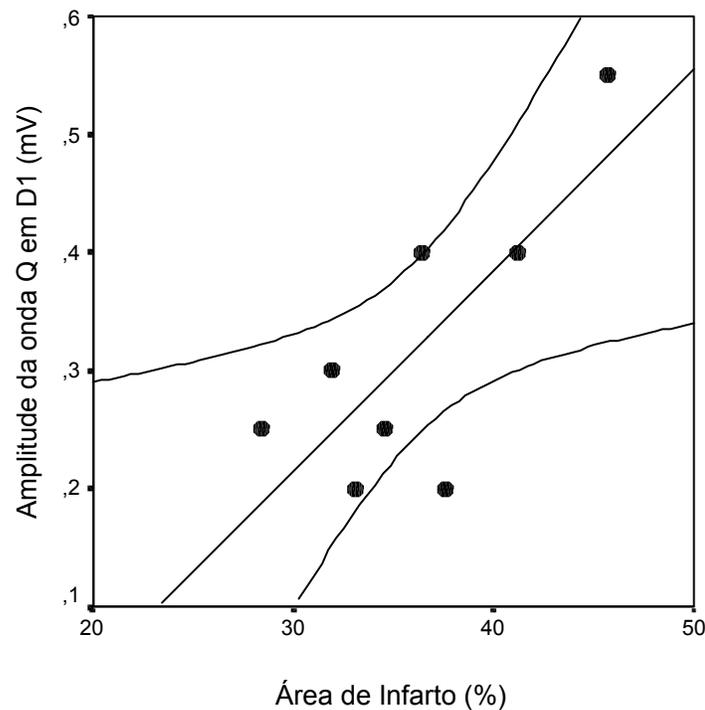


Figura 8. Correlação entre o tamanho da área de infarto e amplitude da onda Q em D1 medida no registro de eletrocardiograma realizado 24 horas após a LAC. A reta de regressão ($y = ax + b$). As paralelas correspondem ao intervalo de confiança da reta de correlação.

4.6. Alterações Eletrocardiográficas em Ratos Infartados e Tratados com Captopril

O remodelamento ventricular após infarto do miocárdio é um processo dinâmico uma vez que a dilatação ventricular e a hipertrofia são alterações progressivas. Nesse protocolo verificamos se o uso de uma droga que sabidamente interfere com o remodelamento ventricular altera o padrão de evolução do eletrocardiograma. Para interferir no processo de remodelamento foi escolhido o tratamento com captopril em função da grande experiência acumulada com esta droga no infarto experimental no rato.

Os dados obtidos nesse protocolo em relação aos parâmetros morfológicos do coração são apresentados na tabela 5. O uso de captopril por 30 dias em animais FO não alterou significativamente a estrutura cardíaca a partir da avaliação do peso das câmaras, apesar de ter havido tendência de redução do peso cardíaco nesses animais. O infarto, por sua vez determinou claramente grande aumento dos pesos absoluto e relativo do ventrículo direito. Essa alteração foi totalmente revertida quando o tratamento com captopril foi iniciado imediatamente após o infarto. Assim, os pesos do VD e do VE do grupo IM_{Cap30} foram similares aos dos grupos FO. Vê-se, portanto, que a introdução precoce do captopril após o infarto foi capaz de prevenir completamente o desenvolvimento de hipertrofia e muito provável da dilatação ventricular, uma vez que a área e o peso da cicatriz tiveram valores menores no grupo com captopril em relação ao infartado sem tratamento. No grupo em que o captopril começou a ser administrado tardiamente, isto é, após o remodelamento já ter ocorrido, observa-se menor efeito da droga. No grupo IM_{Cap60} observa-se que os pesos das câmaras ventriculares ainda são menores do que no grupo IM (tabela 5). Entretanto, houve tendência destes pesos serem maiores do que nos animais em que o tratamento foi iniciado precocemente após o infarto (IM_{Cap30}). A análise de nossos dados sugere que o captopril introduzido tardiamente (grupo IM_{Cap60}) não tenha diminuído a dilatação ventricular, visto que o tamanho da cicatriz é maior ($p < 0.05$) nesse grupo do que no grupo IM_{Cap30} (128 ± 11 vs 90 ± 5 mm², respectivamente).

RESULTADOS

Tabela 5. Peso corporal, peso absoluto e relativo das câmaras cardíacas e área de infarto em animais falso operados (FO) ou com infarto do miocárdio (IM) tratados com captopril.

Grupos	FO	FOCap ₃₀	IM	IMCap ₃₀	IMCap ₆₀
N	7	8	7	11	14
PC (g)	320 ± 18	309 ± 11	308 ± 6	279 ± 5	352 ± 9
VE (mg)	655 ± 29	580 ± 28	569 ± 45	392 ± 10 ^{**†}	456 ± 2 ^{*†}
VE/PC (mg/g)	2 ± 0,03	1,9 ± 0,07	1,8 ± 0,1	1,4 ± 0,03 ⁺	1,3 ± 0,05 [†]
VD (mg)	174 ± 11	164 ± 23	249 ± 33 ^{**}	144 ± 10 ⁺	217 ± 14
VD/PC (mg/g)	0,54 ± 0,07	0,53 ± 0,05	0,80 ± 0,1 ^{**††}	0,55 ± 0,02	0,60 ± 0,03 ^{**}
Cicatriz (mg)	---	---	108 ± 24	85 ± 5 ^{+†}	146 ± 15
Cicatriz (mm)	---	---	102 ± 24	90 ± 5 ^{+†}	128 ± 11
Cicatriz (%)	---	---	46 ± 11	32 ± 1 ⁺	40 ± 2 ^{+†}

Os resultados foram obtidos ao final de 60 dias para o grupo IMCap₆₀ e ao final de 30 dias para os demais grupos e estão representados como média ± EPM. Número (N), peso corporal (PC), falso operado captopril (FOCap), infarto do miocárdio (IM), infarto do miocárdio captopril 30 (IMCap₃₀, tratados por 30 dias com início logo após a cirurgia), infarto do miocárdio captopril 60 (IMCap₆₀, o tratamento foi iniciado 30 dias após a cirurgia e mantida até o sexagésimo dia), peso relativa de VE (VE/PC) e VD (VD/PC). As diferenças foram estatisticamente significantes para * p < 0,05 vs FO, # p < 0,05 vs FOCap, + p < 0,05 vs IM, † p < 0,05 vs IMCap₃₀ e ‡ p < 0,05 vs IMCap₆₀. (ANOVA de 1 via, seguida de teste-t Boferroni).

Os dados hemodinâmicos dos animais incluídos no protocolo do captopril são apresentados nas Tabelas 6 e 7. Observou-se que os animais tratados com captopril, tanto falso-operados como infartados, apresentaram queda significativa da pressão arterial média o que também ocorreu em relação à pressão sistólica máxima medida na cavidade ventricular esquerda (tabela 6). Observou-se também aumento da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo nos animais que receberam captopril somente após 30 dias de infarto. Nos dois grupos infartados tratados com captopril ocorreu tanto redução da velocidade máxima de contração, como de relaxamento do ventrículo esquerdo.

RESULTADOS

Tabela 6. Medida da pressão arterial média e da pressão de ventrículo esquerdo.

	Falso Operado		Infarto do Miocárdio		
	FO	FOCap ₃₀	IM	IMCap ₃₀	IMCap ₆₀
(n)	07	08	07	11	14
PAM (mmHg)	118 ± 2	108 ± 2*	107 ± 10	99 ± 2*	105 ± 3*
PSVE (mmHg)	124 ± 3	117 ± 3 *	127 ± 9	104 ± 2 *	89 ± 3 *+#
PDVE (mmHg)	0	1 ± 1	0	2 ± 1	6 ± 2 *+
PD ₂ VE (mmHg)	10 ± 1	13 ± 2	12 ± 2	12 ± 1	20 ± 2 *+#‡
+dP/dt _{Max}	2730 ± 138	2462 ± 109	2612 ± 203	2118 ± 70 #	1979 ± 129 ‡
-dP/dt _{Max}	2662 ± 228	2558 ± 129	2662 ± 226	2194 ± 77 +	2104 ± 80 +

Os resultados foram obtidos ao final de 60 dias para o grupo IMCap₆₀ e ao final de 30 dias para os demais grupos e estão apresentados como média ± EPM para os grupos, falso operado (FO), falso operado captopril (FOCap), infarto do miocárdio (IM), infarto do miocárdio captopril 30 (IMCap₃₀) e infarto captopril 60 (IMCap₆₀). Pressão sistólica de VE (PSVE), pressão diastólica inicial de VE (PDVE), pressão diastólica final de VE (PD₂VE), derivada de tempo pela pressão exercida pela câmara cardíaca (dp/dt + e dp/dt -). As diferenças foram estatisticamente significantes para * p < 0,05 vs FO, + p < 0,05 vs IM e ‡ p < 0,05 vs IMCap₃₀. (ANOVA de 1 via, seguida de teste-t Boferroni).

Os dados obtidos no cateterismo do ventrículo direito são mostrados na Tabela 7. Observar aumento da pressão sistólica no grupo com IM. Redução da hipertensão pulmonar foi observada no grupo tratado precocemente com captopril, o que não se observou no grupo que iniciou o tratamento mais tardiamente, isto é, quando o tratamento com captopril foi iniciado após o remodelamento já ter ocorrido.

As alterações eletrocardiográficas dos animais incluídos no protocolo com captopril são mostradas na figura 9. Observa-se que a posição do eixo médio de ativação ventricular no plano frontal dos animais do grupo FOCap₃₀ foi similar àquela apresentada pelos animais dos grupos CO e FO. Nos animais com IM observa-se deslocamento do ÂQRS para a direita, como observado nos protocolos anteriores. Nos animais com IM tratados com captopril, tanto submetidos ao tratamento precoce como

RESULTADOS

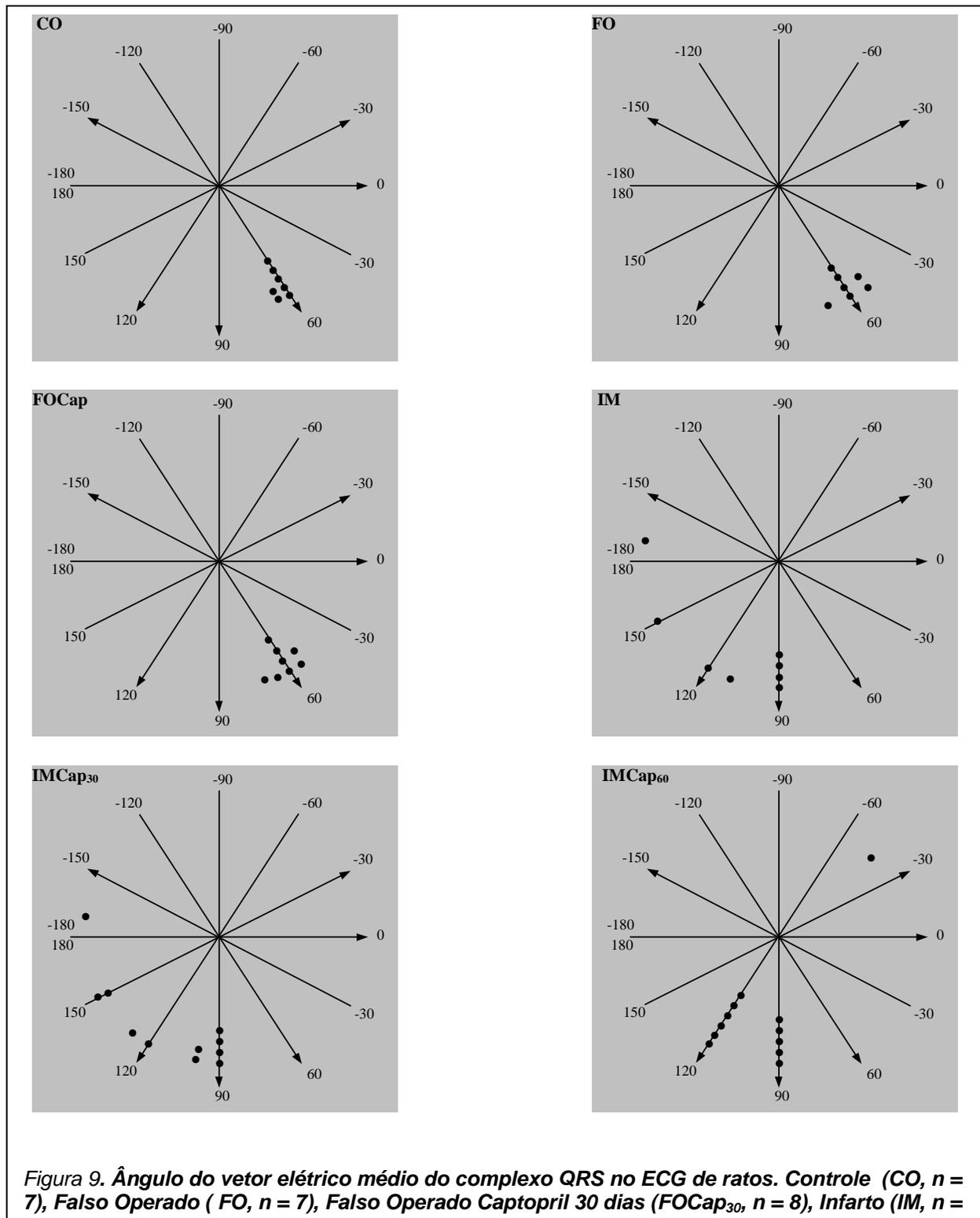
ao tratamento tardio (IMCap₃₀ e IMCap₆₀, respectivamente) não ocorreu alteração importante do ÂQRS, conforme pode ser visto nos dados da Figura 9.

Tabela 7. Medida da pressão de ventrículo direito.

	Falso Operado		Infarto do Miocárdio		
	FO	FOCap	IM	IMCap ₃₀	IMCap ₆₀
(n)	07	08	07	11	14
PSVD (mmHg)	36 ± 3	35 ± 3	43 ± 4 [#]	35 ± 1 ⁺	41 ± 3 ^{‡#}
PDVD (mmHg)	3 ± 1	3 ± 0,4	3 ± 0,5	4 ± 0,3	4 ± 0,5
PD ₂ VD (mmHg)	8 ± 1	8 ± 0,8	9 ± 0,9	7 ± 0,3	9 ± 0,5
dp/dt +	677 ± 30	635 ± 35	718 ± 64	637 ± 29 [*]	722 ± 49
dp/dt -	752 ± 63	714 ± 94	865 ± 90	749 ± 32	838 ± 76

Os resultados foram obtidos ao final de 60 dias para o grupo IMCap₆₀ e ao final de 30 dias para os demais grupos e estão apresentados como média ± EPM para os grupos, falso operado (FO), falso operado captopril (FOCap), infarto do miocárdio (IM), infarto do miocárdio captopril 30 (IMCap₃₀) e infarto captopril 60 (IMCap₆₀). Pressão sistólica de VE (PSVE), pressão diastólica inicial de VE (PDVE), pressão diastólica final de VE (PD₂VE), derivada de tempo pela pressão exercida pela câmara cardíaca (dp/dt + e dp/dt -). As diferenças foram estatisticamente significantes para * p < 0,05 vs FO, ⁺ p < 0,05 vs IM e [‡] p < 0,05 vs IMCap₃₀. (ANOVA de 1 via, seguida de teste-t Boferroni).

RESULTADOS



DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A eletrofisiologia do coração nos oferece dados para avaliarmos através do ECG em estudos clínicos e experimentais os danos provenientes do IM (Tao et al., 2004; Bonilha et al., 2005; Zeymer et al., 2005), avaliados através do ECG.

No ECG a amplitude de onda, o intervalo entre segmentos e vetor elétrico médio do complexo QRS são parâmetros utilizado para identificar e avaliar os animais com IM e o quanto esses parâmetros são estáveis no decorrer do estudo.

O ECG de rato normal é parecido com o do homem em essencial. Porém, no rato é observada ausência do segmento ST, a onda T eleva-se em direção contínua a onda S e a onda Q é ausente ou rudimentar. Ocasionalmente uma discreta onda Q é observada em aVL (Sambhi, 1959).

No decorrer do nosso estudo observamos que os animais com IM apresentaram onda Q em D₁, e a amplitude pareceu variar com a extensão do infarto. Nos animais que não foram submetidos a LAC a onda Q está ausente, o que é normal. Outros autores também descrevem a onda Q em D₁ nas derivações precordiais (Sambhi et al., 1959; Santos e Masuda, 1991; Bonilha et al., 2005).

A presença da onda Q em D₁ é também apontada como o indicador mais sensível para a determinação do infarto (Normann et al 1960; Santos e Masuda, 1991; Bonilha et al 2005). Nossos resultados mostram que dos 61 animais que tinham infarto transmural 54 (correspondendo a 88% dos animais) apresentavam a onda Q. Em 7 animais a onda Q está ausente e constatamos a presença de infarto e 1 animal apresentava a onda Q e não tinha infarto transmural (tabela 1).

A sensibilidade e a especificidade do ECG identifica os animais com infarto e que apresentavam a onda Q em D₁ é de 89%, podendo predizer com 98% de chance que os animais realmente apresentem a onda Q e tenham infarto transmural, contra os 53% dos animais saudáveis (valor preditivo negativo).

No segundo protocolo verificamos que a onda Q está presente em todos os animais 3 horas após a LAC. A onda Q é persistente devido à injúria que é seguida pela rápida evolução do infarto (Normann et al., 1960). A amplitude de Q aumenta no decorrer de 24 horas após a LAC e após o terceiro dia é observada uma diminuição na

DISCUSSÃO

amplitude (7, 15, 30 dias). Essa queda na amplitude da onda Q pode ocorrer devido ao processo de remodelamento cardíaco e a formação de tecido cicatrizado alterando a relação entre a extensão do infarto e tecido cardíaco remanescente.

A presença da onda Q pode ser estabelecida por uma direta e específica relação entre o processo iônico celular, a propagação do potencial e a morfologia das ondas do eletrocardiograma. A alteração da corrente iônica modifica o gradiente do potencial transmembrana através da parede ventricular na extensão do infarto (Gima & Rudy, 2002). No registro eletrocardiográfico o eletrodo colocado em uma região remota (na superfície corpo) não dá um resultado correspondente a uma única seção do miocárdio, mas a distribuição total da superfície elétrica do coração (Kim et al., 2001 e Gima & Rudy, 2002). O estudo de seções isoladas da parede ventricular pode estabelecer uma melhor relação entre as ondas do ECG, a morfologia tecidual e as propriedades de propagação do potencial de ação ligado ao processo iônico celular na extensão do infarto (Gima & Rudy, 2002).

Nossos resultados também mostram que nas primeiras horas após a LAC ocorre um aumento da amplitude da onda R com uma queda após 12 horas para valores menores que o normal. Essa redução na amplitude de onda R é seguida do aumento da amplitude de onda Q, isso leva a uma inversão de polaridade do complexo QRS em D1, que se mantém por todo o tempo. Portanto, o IM não interfere no processo de ativação nem na velocidade de condução elétrica no nodo átrio ventricular do coração visto que o intervalo PR e FC não se alteram em qualquer momento. Os resultados mostram que a presença da onda Q independente da ativação inicial é normal do coração, confirmando que a presença da onda Q é proveniente da lesão local promovida pelo IM.

A presença da onda Q e a queda na amplitude de R no IM levam a inversão na polaridade do complexo QRS e altera o eixo elétrico da ativação dos ventrículos no sentido horário posicionado entre $+90$ e $\pm 180^\circ$ o que não é observado nos animais CO e FO em que o eixo elétrico se manteve entre zero e 70° . A alteração do eixo elétrico também pode ser observada naqueles animais que não apresentaram a onda Q, mas apresentavam ao final de 30 dias tecido cicatrizado. Esse resultado nos leva a entender que a orientação espacial do complexo QRS seria também um bom indicador de IM em ratos o que corrobora com o estudo de Bonilha et al (2005), lembrando que à alteração

DISCUSSÃO

do eixo elétrico para a direita não ocorre somente nos animais com IM podendo ser visto em ratos que desenvolvem hipertensão espontânea e que apresentam hipertrofia cardíaca. Poderíamos então dizer que a alteração no eixo poderia ser devido à hipertrofia observadas nos animais ao final de 30 dias após a LAC. Mas vimos que 12 horas depois da LAC os animais apresentam seu eixo elétrico alterado independente da hipertrofia, confirmando mais uma vez a alteração no eixo elétrico pelo IM.

As alterações eletrocardiográficas produzidas pelo IM são claras porem, correlacionar a extensão do infarto com as variáveis eletrocardiográficas é motivo de controvérsias. Tao et al (2004) mostram que a somatória de ondas Q presentes em D₁ e V₁, V₂, V₄ e V₆ correlaciona com o tamanho do infarto ($r = 0,920$, $P < 0,0001$) e Bonilha et al (2005) não encontram qualquer correlação.

Os resultados mostraram que a presença da onda Q em D1 está diretamente relacionada à existência IM e deixam claros que a presença da onda Q produzida no IM independente da formação do processo de cicatrização. No segundo protocolo os animais foram sacrificados 24 h após a LAC e a presença e à extensão do infarto foram avaliados pela técnica do trifeniltetrazólio. Neste caso o tamanho do infarto foi aferido através da fração do peso do ventrículo esquerdo que não se corou pelo o trifeniltetrazólio. Constatou-se que existe uma correlação significativa ($r = 0,76$; $p < 0.05$) entre o tamanho do infarto e a amplitude da onda Q medida no eletrocardiograma registrado 24 h após a LAC.

O IM é responsável por uma série de alterações celulares e estruturais no coração tanto no homem como do rato. A ligação da artéria coronária esquerda no rato regularmente produz necrose na parede antero-lateral e raramente atinge o septo ou o ventrículo direito (Mill et al., 1991; Li et al., 2004; Xia et al 2005). A extensão do infarto está diretamente relacionada à disfunção ventricular esquerda (Pfeffer et al., 1979; Mill et al., 1990).

No presente estudo os animais com IM desenvolveram hipertrofia de VD com aumento na massa relativa, o que foi relatado em outros trabalhos deste laboratório (Mill et al., 1991 e 1997). Essa hipertrofia pôde ser detectada precocemente três dias após a LAC (Mill et al., 1991 e 1997). A massa absoluta e relativa de VE não sofreu mudança significativa após o IM, o que constitui dado indireto de ocorrência de

DISCUSSÃO

hipertrofia no miocárdio remanescente do VE, uma vez que a espessura e conseqüentemente a massa da área de formação de fibrose é menor que a do músculo original. A hipertrofia do VE é diretamente relacionada à extensão do IM. Os nossos resultados condizem com os dados apresentados por Mill et al (1991) em estudo morfométrico do coração de ratos com infarto de média extensão, mostrando que o crescimento hipertrófico no VE infartado é suficiente para recuperação quase que completa da massa de VE.

A Ang II, um dos mais potentes vasoconstrictores, encontra-se envolvida nesse processo de hipertrofia e remodelamento cardíaco (Lannoy et al., 1998), portanto o uso de IECA leva a uma regressão da hipertrofia e do remodelamento de VD e VE melhorando a função cardíaca e as condições hemodinâmicas (Li et al., 2004) prolongando a vida dos animais com IM que apresentam disfunção ventricular (Pfeffer et al., 1985).

Nossos resultados são condizentes com os resultados encontrados na literatura. Os animais tratados com o IECA tiveram o peso absoluto e relativo de VD e VE reduzido, demonstrando que o IECA tem papel importante tanto na prevenção como na reversão do processo de remodelamento cardíaco melhorando as condições hemodinâmicas.

A intervenção farmacológica com IECA é capaz de prevenir ou mesmo reverter a hipertrofia e melhorar as condições hemodinâmicas, mas não é capaz de alterar a resposta eletrocardiográfica produzida pelo IM (figura 9). Nos animais com IM observou-se o deslocamento do eixo elétrico para a direita, como relatado nos protocolos anteriores, mas os tratados com captopril tanto dos animais submetido ao tratamento precoce como ao tratamento tardio (IMCap₃₀ e IMCap₆₀ respectivamente) não apresentaram qualquer variação importante. Os resultados nos confirmam que as alterações eletrocardiográficas estão diretamente ligadas à presença do infarto.

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

Conclui-se que:

1. O eletrocardiograma em rato normal e falso operado que não apresentavam alterações nos traçados eletrocardiográficos ou naqueles animais que apresentaram onda Q subsequente à ligadura da artéria coronária esquerda (infarto), manteve suas características em todos os momentos em que foram realizados os registros. Mostrando que os eletrocardiogramas feitos sempre nas mesmas condições apresentam grande estabilidade em seus resultados.

2. A presença da onda Q em D1, a alteração do eixo elétrico médio do QRS (ÂQRS) para a direita, nos permite identificar todos aqueles animais em que a ligadura da artéria coronária foi realizada com sucesso, determinando que esses animais apresentam comprometimento do músculo cardíaco, devido à presença de uma área de necrose ou de um processo de cicatrização (fibrose) da área de infarto do ventrículo esquerdo.

3. Nos animais que apresentam comprometimento do músculo cardíaco esquerdo, identificado através da presença da onda Q em D1, nos permite estimar o tamanho da área de necrose nas primeiras 24 horas após a ligadura da artéria coronária esquerda, em que, os resultados mostram uma boa correlação entre a amplitude da onda Q em D1 e o tamanho do infarto na parede antero-lateral de ventrículo esquerdo de rato.

4. O tratamento com captopril (IECA) tem papel importante na prevenção do processo de remodelamento cardíaco, não modificando as condições originais do traçado do eletrocardiograma. Confirmando, que a presença da onda Q em D1 e alteração do eixo elétrico do coração para a direita independe da hipertrofia ou do remodelamento cardíaco ocorrido nos animais com infarto do miocárdio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMSON PB, Huang MG, Vanoli E, Foreman RD, Schwartz PJ, Hull SS (1994). Unexpected interaction between β -adrenergic blockade and heart rate variability before and after myocardial infarction. *Circulation*, 90: 976-982.

BECH OM, Kahr O, Diamant B, Stenest E (1989). Time course of functional deterioration after coronary ligation in rats. *Cardiovascular Research*, 23 (8): 649 – 654.

BONILHA AMM, Saraiva RM, Kanashiro RM, Portes LA, Antônio EL, Tucci PJF (2005). A routine electrocardiogram should not be used to determine the size of myocardial infarction in the rat. *Braz J Med Biol Res*, 38: 615 – 619.

BUSSATO VC, Cicilini MA, Mill JG (1997). Increased angiotensin-converting enzyme activity in the left ventricle after infarction. *Braz J Med Biol Res*, 30(5): 679-687.

CIULLA MM, Paliotti R, Ferrero S, Braidotti P, Esposito A, Gianelli U, Busca G, Cioffi U, Bulfamante G, Magrini F (2004). Left ventricular remodeling after experimental myocardial cryoinjury in rats. *Journal of Surgical Research*, 116: 91-97.

CLEMSON B, Graul L, Gubin SS, Campsey DM, McConville J, Nussber J, Zelis R (1994). Prejunctional angiotensin II receptors. Facilitation of norepinephrine release in the human forearm. *J Clin Invest*, 93 (2): 684-691.

CLEUTJENS JP, Verluyten MJ, Smiths JF, Daemen MJ (1995). Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol*, 147(2): 325-338.

CLEUTJENS JPM (1996). The role of matrix metalloproteinases in heart disease. *Cardiovascular Research*, 32: 816-821.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COHN JN (1991). Future directions in vasodilator therapy for heart failure. *Am Heart J*, 121: 969-974.

COHN JN, Johnson G, Ziesches S, Cobb F, Francis G, Tristane F, Smith R, Dunkman WB, Loeb H, Wong M, Bhat G, Goldman S, Fletcher RD, Doherty J, Hughes CV, Carson P, Cintron G, Shabetai R, Haakenson C (1991). A comparison of enalapril with hydralasine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. *N Engl J Med*, 325: 303-310.

COHN JN, Levine TB, Olivari MT (1984). Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med*, 311: 819 – 823.

DELCARYER C, Swynghedauw B (2002). Molecular mechanisms of myocardial remodeling. the role of aldosterone. *J Mol Cell Cardiol*, 34: 1577-1584.

DETEN A, Holzl A, Leicht M, Barth W, Zimmer H-G (2001). Changes in extracellular matrix and in transforming growth factor beta isoforms after coronary artery ligation. *J Mol Cell Cardiol*, 33: 1191-1207.

DETEN A, Volz HC, Briest W, Zimmer HG (2003). Differential cytokine expression in myocytes and non-myocytes after myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem*, 242: 47-55.

DHINGRA R, Nam BH, Benjamin EJ, Wang TJ, Larson MG, D'Agostino RB, Levy D, Vasan RS (2005). Cross-sectional relations of electrocardiographic QRS duration to left ventricular dimensions. *Journal of the American College of Cardiology*, 45: 685 – 689.

ESTERBANER H, Zollner H, Shaur RJ (1988). Hydroxyalkanal cytotoxic products of lipid peroxidation. *ISI Atlas Sci Biochem* 1: 311-317.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EVERLY MJ, Heaton PC, Cluxton RJ Jr (2004). Beta-blocker underuse in secondary prevention of myocardial infarction. *Ann Pharmacother*, 38(2): 286-293.

FISHBEIN MC MacLean D, Maroko PR (1978). Experimental myocardial infarction in the rat. *American Journal Pathology*, 90: 57 – 70.

FLETCHER PJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E (1981). Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction. *Circulation Research*, 49: 618-626.

FRANCIOSA JA, Guiha NH, Limas CJ, Rodriguera E, Cohn JN (1972). Improved left ventricle function during nitroprusside infusion in acute myocardial infarction. *Lancet*, 1: 650-654.

FUNG JWH, Yu CM, Yip G, Chan S, Yandle TG, Richard AM, Nicholls MG, Sanderson JE (2003). Effect of beta blockade (Carvedilol or Metoprolol) on activation of the renin-angiotensin-aldosterone system and natriuretic peptides in chronic heart failure. *Am J Cardiol*, 92: 406-410.

GIMA K, Rudy Y (2002). Ionic current basis of electrocardiography waveforms: A model study. *Circulation Research*, 90: 889 – 896.

GOLDSMITH SR, Francis GS, Levine TB, Cowley AW jr, Cohn JN (1983). Impaired response of vasopressin to orthostatic stress patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 2 (6): 1080-1083.

GRIMM D, Holmer SR, Riegger GAJ, Kromer EP (1999). Effects of beta-receptor blockade and angiotensin II type I receptor antagonist in isoproterenol-induced heart failure in the rats. *Cardiovascular Pathol*, 8: 315-323.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HALL AS, Ball SG (1995). Clinical background to the ACE inhibitor therapy after myocardial infarction. *J Cardiovasc Risk*, 2 (5): 396-405.

HOLMER JW, Yamashita MD, Waldman LK, Covell JW (1994). Scar remodeling and transmural deformation after infarction in the pig. *Circulation*, 90: 411-420.

IDE T, Tsutsui H, Hayashidani S, Kang D, Suematsu N, Nakamura K, Utsumi H, Hamasaki N, Takeshita A (2001). *Circulation Research*, 88 (5): 529-535.

IMAMURA E, Ymamoto M, Miyakoshi M, Honmo S, Ozaki A, Yoshie M, Tamakawa S, Yaginuma Y, Kasai S, Ogawa K. Different growth capacity between infant and mouse hepatocytes in vitro correlates to the cyclin D1 level without relation to oxidative DNA damage. *Liver International*, 25(5): 1036 – 1043.

JOHNSTON CI (1990). Biochemistry and pharmacology of renin-angiotensin system. *Drug*, 39 (1): 21-31.

JOHNSTON CI, Mooser V, Sun Y, Fabris B (1991), Change in cardiac angiotensin converting enzyme after myocardial infarction and hypertrophy in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 18: 107-110.

JOSEPHSON RA, Silveerman HS, Lakatta EG, Stern MD, Zweier JL (1991). Study of the mechanisms of hydrogen peroxide and hydroxyl free radical-induced cellular injury and calcium overload in cardiac. *The Journal of Biological Chemistry*, 266: 2354-2361.

KENCHAI AH S, Davis BR, Brauwald E, Rouleau JL, Dagenais GR, Sussex B, Steingart RM Brown EJ., et al (2004). Antecedent hypertension and effect of captopril on the risk of adverse cardiovascular outcomes after myocardial infarction with left ventricular systolic dysfunction: Insights from the survival and ventricular enlargement trial. *Am Heart J*, 148: 356 – 364).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KIM Y-K, Kimn S-J, Kramer CM, Yatani A, Takagi G, Mankad S, Szigeti GP, Singh D, Bishop SP, Shannon RP, Vatner DE, Vatner SF (2002). Altered excitation-contraction coupling in myocytes from remodeled myocardium after chronic myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*, 34: 63 – 73.

LANNOY LM, Danser AH, Bouhuizer AM, Saxena PR, Schalekamp MA (1998). Localization and production of angiotensin II in the isolated perfused rat heart. *Hypertension*, 31 (5): 1111 – 1117.

L' ENFANTE C (1998). NHBI at 50 – Reflections on a half century of research on the heart, lung and blood. National Heart, Lung, and Institute. *JAMA*, 280: 2060-2064.

LEVINE TB, Francis GS, Goldsmith SR, Simon AB, Cohn JN. Activity of the sympathetic nervous system and rennin-angiotensin system assessed by plasma hormone levels and the relation to hemodynamic abnormalities in congestive heart failure. *Am J Cardiol*, 49 (7): 1659-1666.

LI P, Zhang X, Capasso JM, Meggs LG, Sonnenblick EH, Anversa P (1993). Myocyte loss and left ventricular failure characterise the long term effects of coronary artery narrowing or hypertension in rats. *Cardiovascular Research*, 27(6): 1066-1075.

LI Y, Xue Q, Ma J, Zhang C, Qiu P, Wang L, Gao W, Cheng W, Lu Z, Wang S. Effects of imidapril on heterogeneity of action potential and calcium current of ventricular myocytes in infarcted rabbits. *Acta Pharmacol Sin*, 25 (11): 1458 – 1463.

LIDDLE GW, Hardman JG (1971). Cyclic adenosine monophosphate as a mediator of hormone action. *N Engl J Med*, 285(10): 560-566.

LINZ W, Wiemer G, Schaper J, Zimmermann R, Nagasawa K, Gohlke P, Unger T, Scholkens BA (1995). Angiotensin converting enzyme inhibitors, left ventricular hypertrophy and fibrosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 147: 89 – 97.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LOMBARD EA (1952). Eletrocardiograms of Small Mammals. From the Department of Physiology, University of Wisconsin Medical School, Madison, Wisconsin, 189 – 193.

MAC CARTHY PA, Grive DJ, Li J-M, Dunster C, Kelly FJ, Shah AM (2001). Impaired endothelial regulation of ventricular relaxation in cardiac hypertrophy. *Circulation*, 104: 2967-2974.

MEGGS LG, Coupet J, Huang H, Cheng W, Li P, Capasso JM, Homey CJ, Anversa P (1993). Regulation of angiotensin II receptor on ventricular myocytes after myocardial infarction in rats. *Circulation Research*, 72: 1149-1162.

MILL JG, Milanez MC, Busato VCW, Moraes AC, Gomes MGS (1997). Ativação da enzima conversora de angiotensina no coração após infarto do miocárdio e suas repercussões no remodelamento ventricular. *Arq Bras Cardiol*, 69(2), 101-110.

MILL JG, Milanez MC, Resende MM, Gomes MGS, Leite CM (2003). Spirolactone prevents cardiac collagen proliferation after myocardial infarction in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 30: 739-744.

MILL JG, Stefanon I, Leite CM, Vassallo DV (1990). Changes in performance of the surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovascular Research*, 9: 748-753.

MITCHELL GF, Lamas GA, Vaughan DE, Pfeffer MA (1992). Left ventricular remodeling in the year after first anterior myocardial infarction: a qualitative analysis of contractile segment lengths and ventricular shape. *J Am Coll Cardiol*, 19 (6): 1136-1144.

MURPHY TJ, Alexander RW, Griendling KK, Runge MS, Bernstein K. Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin receptor. *Nature*, 351(6323): 233-236.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NORMANN SJ, Priest RE, Beneditt EP (1960). Eletrocardiogram in the normal rat and its alteration with experimental coronary occlusion. *Circulation Research*, 9: 282 – 287.

O'CONNOR CM, Hathaway WR, Bates ER, Leimberger JD, Sigmon K, Kereiakes DJ, George BS, Samaha JK, Abbttsmith CW, Candela R, Topol EJ, Califf RM (1997). Clinical characteristics and long-term outcome of patients in who congestive heart failure develops after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: development of a predictive model. *Am Heart J*, 133(6): 663-673.

OCARANZA MP, Diaz-Araya G, Chiong M, Munoz D, Riverros JP, Ebersperger R, Sabat S, Irrarrazaval P, Jallil JE, Lavandero S (2002). Isoproterenol and angiotensin I-converting enzyme in lung, left ventricle, and plasma during myocardial hypertrophy and fibrosis. *J Cardiovasc Pharmacol*, 40(2): 246-254.

PFEFFER JM, Pfeffer PJ, Fletcher PJ, Braunwald E (1991). Progressive ventricular remodeling in rats with myocardial infarction. *Heart Circ Physiol*, 29: 1406-1414.

PFEFFER MA, Braunwald E (1990). Ventricular remodeling after myocardial infarction-Experimental observations and clinical implications. *Circulation*, 81(4): 1161-1172.

PFEFFER MA, Braunwald E (1991). Ventricular Enlargement Following Infarction is a Modifiable Process. *Am J Cardiol*, 68: 127-131.

PFEFFER MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Klonoc RA, Braunwald E (1979). Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circulation Research*, 44 (4): 503-512.

PFEFFER MA, Pfeffer JN, Steinberg C, Finn P (1985). Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation*, 72(2): 406-412.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PILOTE L, Abrahamowicz M, Rodrigues E, Eisenberg E, Rahme E (2004). Mortality rates in elderly patients who take different angiotensin-converting enzyme inhibitors after acute myocardial infarction: American College of Physicians, 141: 102 – 112.

RAYA TE, Gay RG, Lancaster L, Aguirre M, Moffett C, Goldman S (1988). Serial changes in left ventricular relaxation and chamber stiffness after large myocardial infarction in rats. *Circulation*, 77(6): 1424-1431.

REINECKE H, Zhaang M, Bartosek T, Murry CE (1999). Survival, integration, and differentiation of cardiomyocyte grafts. *Circulation*, 100: 193-202.

RESENDE MM, Mil JG (2002). Alternate angiotensin II - forming pathways and their importance in-physiological or physiopathological conditions. *Arq Bras Cardiol*, 78(4): 432-438.

ROSEN MR (2002). The Elettrocardiogram 100 Years Later – Electrical Insights Into Molecular Messages. *Circulation*, 106: 2173 – 2179.

SAM F, Sawyer DB, Chang DL-F, Eberli FR, Ngoy S, Jain J, Apstein CS, Colucci WS (2000). Progressive left ventricular remodeling and apoptosis late after myocardial infarction in mouse heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 279: 422-428.

SAMBHI M and White FE (1959). The elettrocardiogram of the normal and hypertensive rat. *Circulation Research*, 7: 129 – 134.

SARASTE A, Voipio-Pulkki LM, Parvinen M, Pulkki K (1997). Apoptosis in the heart. *N Engl J Méd*, 336 (14): 1025-1026.

SEWDBERG K. Eneroth P, Kjekshus J, Snapinn S (1990). Effects of enalapril and neuroendocrine activation on prognosis in severe congestive heart failure (follow-up of the CONSENS trial). CoNSENSUS Trial Study Group. *Am J Cardiol*. 66 (11): 40 – 44.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SCHOCKEN DD, Arrieta MI, Leaverton PE, Ross EA (1992). Prevalence and mortality rate of congestive heart failure in the United States. *J Am Coll Cardiol*, 20(2): 301-306.

SLADEK T, Sladkova J, Kolar F, Papousek F, Cicutti N, Korecky B, Rakasan K (1996). The effect of AT₁ receptor antagonist on chronic cardiac response to coronary artery ligation in rats. *Cardiovascular Research*, 31: 568-576.

SOSNOWSKI M, Korzeniowska B, Tendera M (2005). Left ventricular mass and hypertrophy assessment by means of the QRS complex voltage-independent measurements. *International Journal of Cardiology*, 106 (3): 382 – 389.

SPINALE FG, Coker ML, Krombach SR, Mukherjee R, Hallak H, Houck WV, Clair MJ, Kribbs SB, Johnson LL, Person JT, Zile MR (1999). Matrix metalloproteinase inhibition during the development of congestive heart failure. *Circulation Research*, 85: 364-376.

SULPICE T, Boucher F, Pucheu S, Leiris J (1994). Contribution of leukocyte infiltration to lipoperoxidation occurring in the non-ischemic region of the rat heart submitted to permanent left coronary artery occlusion. *J Mol Cell Cardiol*, 26: 831-840.

SYPNIEWSKI S, Bald E (1996). Determination of captopril and its disulphides in whole human blood and urine by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and precolumn derivatization. *J Chromatografia*, 729 (1-2): 335 – 340.

TAO Z-W, Huang Y-w, Xia Q, Zhao Z-h, Lu X, Bruce IC (2004). Early association of electrocardiogram alteration with infarct size and cardiac after myocardial infarction. *Journal of Zhejiang University Science*, 5 (4): 494 – 498.

TAKEMURA G, Ohno M, Hayakawa Y, Misao J, Kanoh M, Ohno A, Minatoguchi S, Fujiwara T, Fujiwara H (1998). Role of apoptosis in the disappearance of infiltrated and proliferated interstitial cells after myocardial infarction. *Circulation Research*, 82(11): 1231-1233.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Takahashi T, Anzai T, Yoshikawa T, Maekawa Y, Mahara K, Iwata M, Hammond K, Ogawa S, (2004). Angiotensin receptor blockade improves myocardial beta-adrenergic receptor signaling in postinfarction left ventricular remodeling. *Journal the American College of Cardiology*, 43: 121 – 132.

TAN L-B, Jalil JE, Pick R, Janicki JS, Weber KT (1991). Cardiac myocyte necrosis induced by angiotensin II. *Circulation Research*, 69: 1185-1195.

UDELSON JE, Konstam MA (2002). Relation between left ventricular remodeling and clinical outcomes in heart failure patients with left ventricular systolic dysfunction. *J Card Fail*, 8(6): 465-471.

VANDER HEIDER RS, Schwartz LM, Jennings RB, Reimer KA (1995). Effect of catecholamine depletion on myocardial infarct size in dog: role of catecholamine in ischemic preconditioning. *Cardiovascular Research*, 30: 656-662.

VEINOT JP, Gattinger DA, Fliss H (1997). Early apoptosis in human myocardial infarcts. *Hum Pathol*, 28 (4): 485-492.

VIEDET C, Soto U, Krieger-Brauer HI, Frei J, Elsing C, Kubler Wolfgang, Kreuzer J (2000). Differential activation of mitogen-activation protein kinase in smooth muscle cells by angiotensin II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 940-948.

VIVALDI MT, Kloner RA, Schoen FJ (1985). Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am J Pathol*, 121: 522 – 530.

WEBER KT, Sun Y, Campbell SE (1995). Structural remodeling of the heart by fibrous tissue: role of circulating hormones and locally produced peptides. *Eur Heart J*, 16: 12-18.

WWW. DATASUS.GOV.BR

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ZEYMER U, Schroder K, Wegscheider K, Senges J, Neuhaus KL, Shroder R (2005). ST resolution in a single eletrocardiographic lead: A simple and accurate predictor of cardiac mortality in patients with fibrinolytic therapy for acute ST-elevation myocardial infarction. *Am Heart J*, 149: 91 – 97.

YAMAZAKI T, Komuro I, Kudoh S, Zou Y, Shiojima I, Mizuno T, Takano H, Hiroi Y, Ueki K, Tobe K, Kadowaki T, Nagai R, Yazaki Y (1995). Angiotensin II partly mediates mechanical stress-induced cardiac hypertrophy. *Circulation Research*, 77: 258-265.

YTREHUS K, Liu Y, Tsuchida A, Miura T, Liu GS, Yang XM, Cohen MV, Downey JM (1994). Rat and rabbit heart infarction: effects of anesthesia, perfusa risk zone, and method of infarct sizing. *Am J Physiol*, 267: 2383-2390.

