

Diferença na contratilidade de ventrículos direito e esquerdo de ratos com e sem insuficiência cardíaca após o infarto do miocárdio

Aurélia Araújo Fernandes

Dissertação de Mestrado em Ciência Fisiológicas
(Fisiologia Cardiovascular)

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, Abril de 2006

Fernandes, Aurélia Araújo, 1977

Diferença na contratilidade de ventrículos direito e esquerdo de ratos com e sem insuficiência cardíaca após infarto do miocárdio. [Vitória] 2006

89 p., 29,7 cm (UFES, M. Sc., Ciências Fisiológicas, 2006)

Dissertação, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGCF.

1. Infarto do Miocárdio 2. Insuficiência Cardíaca 3. Contração Isométrica 4. Ratos

Diferença na contratilidade de ventrículos direito e esquerdo de ratos com e sem insuficiência cardíaca após infarto do miocárdio

Aurélia Araújo Fernandes

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

Aprovada em 10/04/2006 por:

Prof^a Dr^a Ivanita Stefanon - Orientadora, UFES

Prof. Dr. Dalton Valentim Vassallo - UFES

Prof. Dr. José Wilson Magalhães Bassani - UNICAMP

Coordenador do PPGCF: Prof. Dr. José Geraldo Mill

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Vitória, Abril de 2006

*“Que a inteligência seja minha amiga
e a sabedoria minha irmã...”
(Pr 7, 4)*

*Este trabalho é dedicado
à minha avó Lila*

Agradecimentos

A Deus que me deu forças para enfrentar tantos percalços e chegar ao fim.

A minha mãe e meu irmão pelo companheirismo, carinho e por segurarem em minha mão a cada novo passo.

Ao meu noivo, que sempre soube da importância deste trabalho para mim e ajudou-me a manter a calma e os pés no chão.

À Prof^a Dr^a Ivanita Stefanon por sempre me mostrar o caminho das estradas da pesquisa e da vida. Obrigada pelo exemplo de pesquisadora e mulher. Orgulho-me em tê-la como orientadora!

Ao Prof. Dr. Dalton Valentim Vassallo toda minha gratidão! Chefe, uma homenagem especial pelo seu carinho, apoio e incentivo. Sua cooperação foi um estímulo imprescindível na conquista do meu objetivo. Deus o abençoe sempre!

Ao Prof. Dr. José Wilson Magalhães Bassani por gentilmente participar da discussão deste trabalho.

Às minhas grandes amigas, Edna e Juliana. Com vocês por perto o trabalho foi mais suave. Obrigada pelas palavras de carinho e otimismo de vocês!

À Fernanda, pelo exemplo de determinação, firmeza e inteligência.

À Dany com o desejo de conservar esta amizade por toda a vida.

À colega Fabiana pelas manhãs que dedicou a realizar toda hemodinâmica apresentada neste trabalho. Você me ajudou a dar a partida!

Ao colega Altemar, pela disponibilidade e habilidades de sempre.

A alguns colegas do LEMC: Lorena, Miriam, Karina, Gabriel, Eduardo, Alessandra, Saulo, Luciana e Thaís.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo apoio financeiro.

Lista de abreviaturas, símbolos e unidades:

bpm = Batimentos por minuto
 Ca^{2+} = Íon cálcio
dP/dt - = Primeira derivada negativa de pressão
dP/dt + = Primeira derivada positiva de pressão
EPM = Erro padrão da média
FC = Frequência cardíaca
g = gramas
IC = Insuficiência Cardíaca
IM = Infarto do Miocárdio
INF = Infarto sem insuficiência cardíaca
INF-IC = Infarto com insuficiência cardíaca
M = Molar
mg = miligramas
mg/g = miligramas por grama
mM = Milimolar
mmHg = Milímetros de mercúrio
mmHg/s = Milímetros de mercúrio por segundo
ms = Milisegundos
n = Número de animais
PAD = Pressão arterial diastólica
PAM = Pressão arterial média
PAS = Pressão arterial sistólica
PC = Peso corporal
PDf = Pressão diastólica final
Pp/PC = Razão peso do pulmão e peso corporal
PPP = Potenciação pós-pausa
PSVE = Pressão sistólica no ventrículo esquerdo
PVE = Papilar do ventrículo esquerdo
RS = Retículo sarcoplasmático

s = Segundos

SUS = Sistema Único de Saúde

TA = Tempo de ativação

TnC = Troponina C

TnI = Troponina I

TnT = Troponina T

TR= Tempo de relaxamento

VD = Ventrículo direito

VD/PC = Razão peso do ventrículo direito e peso corporal

VE = Ventrículo esquerdo

VE/PC = Razão peso do ventrículo esquerdo e peso corporal

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO

1.1 Insuficiência Cardíaca.....	14
1.2 Fatores intrínsecos envolvidos na disfunção contrátil da insuficiência cardíaca.....	16
1.2.1 Alterações no acoplamento excitação-contração.....	16
1.2.2 Alterações no aparelho contrátil.....	18
1.2.3 Alterações na matriz extracelular.....	21
1.2.4 Alterações no metabolismo energético.....	22
1.3 Fatores extrínsecos envolvidos na diminuição da contratilidade na insuficiência cardíaca.....	23
1.3.1 Alterações do sistema nervoso autônomo e receptores cardíacos.....	23
1.3.2 Ativação humoral na insuficiência cardíaca.....	25
1.4 Remodelamento cardíaco na insuficiência cardíaca.....	27
1.5 O modelo de insuficiência cardíaca.....	29

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral.....	32
2.2 Objetivos específicos.....	32

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais experimentais.....	33
3.2 Realização do infarto agudo do miocárdio.....	33
3.3 Medidas hemodinâmicas e avaliação do VE.....	34

3.4 Avaliação da área de infarto.....	34
3.5 Avaliação da contratilidade cardíaca.....	35
3.6 Protocolo experimental.....	37
3.6.1 Curva de potenciação pós-pausa.....	37
3.6.2 Curva de Concentração-Resposta de Cálcio Extracelular.....	38
3.6.3 Curva concentração-resposta ao isoproterenol.....	39
3.7 Fármacos e reagentes.....	40
3.8 Análise estatística.....	40
4 RESULTADOS	
4.1 Avaliação ponderal, hemodinâmica e área de infarto.....	42
4.2 Avaliação da contratilidade miocárdica dos ventrículos direito e esquerdo.....	46
4.2.1 Curva de potenciação pós-pausa (PPP).....	46
4.2.2 Curva concentração resposta ao cálcio.....	48
4.2.3 Curva concentração-resposta ao isoproterenol.....	50
4.3 Avaliação da cinética de ativação e relaxamento na resposta inotrópica ao Isoproterenol.....	52
5 DISCUSSÃO.....	57
6 CONCLUSÃO.....	68
7 REFERÊNCIAS.....	69

RESUMO

A oclusão da artéria coronariana esquerda é um método experimental de indução do infarto. O presente estudo tem como objetivo avaliar a contratilidade dos ventrículos direito e esquerdo de ratos infartados que apresentaram a mesma área de cicatriz e que se enquadraram em duas categorias: infarto com (INF-IC) e sem sinais de insuficiência cardíaca (INF). Em um grupo controle (Sham) foi realizado o mesmo procedimento cirúrgico exceto a oclusão da coronária. Após 8 semanas, os ratos foram anestesiados para as medidas de pressão arterial e ventricular. A pressão diastólica final do VE estava aumentada no grupo INF-IC ($16 \pm 2,5$ mmHg; $p < 0,05$) e normal no grupo INF ($7,7 \pm 0,7$ mmHg) comparada com o grupo Sham ($5,2 \pm 0,5$ mmHg). A área de infarto foi igual entre os grupos (INF = $26,5 \pm 1,1$ e INF-IC = $25 \pm 0,9\%$). As pressões sistólica arterial e ventricular não foram diferentes entre os grupos. O grupo INF-IC apresentou também hipertrofia do VD e aumento do peso úmido do pulmão. Tiras do VD e do músculo papilar do VE foram dissecadas e montadas em preparação de tensão isométrica estimuladas a 0,5 Hz e nutridas com solução de Krebs, à temperatura de 30° C. A contratilidade foi avaliada por meio da medida da força desenvolvida (F, mg/g) produzida após perfusão com solução de $[Ca^{+2}]_e$ (0,62; até 3,75 mM) e Isoproterenol (5×10^{-9} a 5×10^{-5} M). As respostas inotrópicas ao cálcio, ao isoproterenol e a potenciação pós-pausa no VD estavam preservadas no grupo INF porém, prejudicadas no grupo INF-IC, (Ca^{2+} 3,75 mM: Sham = 163 ± 18 mg/g; INF = 148 ± 19 mg/g; INF-IC = 68 ± 11 mg/g; $p < 0,05$); (Isoproterenol $5 \cdot 10^{-5}$ M: Sham = 151 ± 15 mg/g, INF = 134 ± 17 mg/g, INF-IC = 52 ± 7 mg/g; $p < 0,05$). Por outro lado, a contratilidade do papilar do VE estava prejudicada em ambos os grupos infartados em relação ao Sham. Em conclusão, as respostas contráteis do VD e do VE foram diferentes entre os grupos de animais infartados. O grupo infartado sem sinais de insuficiência cardíaca preservou a contratilidade das tiras do ventrículo direito em resposta ao aumento do Ca^{2+} extracelular e ao isoproterenol e durante a potenciação pós-pausa, enquanto, nos animais infartados, com sinais de insuficiência, a contratilidade nesta câmara estava prejudicada. A contratilidade da câmara ventricular esquerda estava prejudicada em ambos os

grupos de animais infartados. Estes dados sugerem a existência de diferentes mecanismos adaptativos na câmara ventricular direita em animais com e sem sinais de insuficiência após infarto do miocárdio.

ABSTRACT

Coronary artery ligation is an experimental method used to induce myocardial infarction. The aim of this study was to analyze right and left ventricular performance in infarcted rats showing identical scar area. Infarcted rats with heart failure (INF-IC) were compared with asymptomatic rats (INF) and a control operated group (Sham). Eight weeks after surgery the scar area was similar between groups (INF= $26,5 \pm 1,1$ e INF-IC= $25 \pm 0,9\%$). The left end diastolic pressure increased in the INF-IC group ($16 \pm 2,5$ mmHg; $p < 0,05$) but remained normal in the INF group ($7,7 \pm 0,7$ mmHg) compared to Sham ($5,2 \pm 0,5$ mmHg). Arterial and ventricular systolic pressures were similar in all groups. The increased right ventricular weight to body weight rate and the lung weight to body weight ratio differentiated rats with heart failure (INF-IC) from asymptomatic rats after infarction (INF) presenting same scar area. Isometric contractions from right ventricle strips (RV) and left ventricle papillary muscle were studied using a rate of stimulation of 0,5 Hz in Krebs solution at 30° C. Isometric force (normalized to muscle or strip weight, mg/g) in steady state condition was measured in the presence of $[Ca^{+2}]_e$ (0,62; to 3,75 mM) and Isoproterenol (5×10^{-9} to 5×10^{-5} M) and during post rest potentiation. The positive inotropic response to calcium, Isoproterenol and post rest potentiation in the RV were preserved in the INF group but reduced in the INF-IC group (Ca^{2+} 3,75 mM: Sham= 163 ± 18 mg/g; INF= 148 ± 19 mg/g; INF-IC= 68 ± 11 mg/g; $p < 0,05$); (Isoproterenol $5 \cdot 10^{-5}$ M: Sham= 151 ± 15 mg/g, INF= 134 ± 17 mg/g, INF-IC= 52 ± 7 mg/g; $p < 0,05$). The left ventricle papillary muscle contractile activity was reduced in both INF and INF-IC groups. These results demonstrate that myocardial infarction with same scar area might lead to different conditions, with and without heart failure. The left ventricle contractility was reduced in both groups. However, in the right ventricle contractility was reduced only in animals presenting heart failure. Results suggest the existence different remodeling mechanisms in the right ventricle after infarction in rats with same scar size depending on the presence or absence of heart failure.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Insuficiência Cardíaca

A incidência de insuficiência cardíaca (IC) é crescente em todos os países. Apesar de no Brasil não haver estudos epidemiológicos, estima-se que 6,4 milhões de brasileiros sofram dessa doença. De acordo com os dados do SUS e do Ministério da Saúde, a principal causa de internação em pacientes acima de 60 anos é a IC, o que a caracteriza como grande problema de saúde pública (Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da IC, 2002).

Cardiopatas como hipertensão, insuficiência valvar, miocardiopatia dilatada e infarto do miocárdio majoritariamente evoluem com IC. No entanto, a doença que mais colabora para a instalação da IC é o infarto do miocárdio (IM), por apresentar altos índices de incidência na população. (*Heart Disease and Stroke statistics, 2006*).

A IC é classicamente definida como uma síndrome clínica complexa, em que o coração perde sua capacidade de bombear o sangue para atender as necessidades metabólicas dos tecidos ou pode fazê-lo apenas sob elevada pressão de enchimento (*National Heart, Lung and Blood Institute, 2003*). Com a evolução desta doença há prejuízo da contratilidade dos ventrículos e diminuição do débito cardíaco (Colluci & Braunwald, 1997).

A “*New York Heart Association*” (1955) desenvolveu um sistema para classificar a IC de acordo com a severidade e o grau de limitação funcional que ela causa. Tendo como base o grau de esforço para produzir sintomas, os pacientes são divididos em quatro classes funcionais:

Classe funcional I - Paciente assintomático em suas atividades físicas habituais.

Classe funcional II - Paciente assintomático em repouso. Sintomas são desencadeados pela atividade física habitual.

Classe funcional III – Paciente assintomático em repouso. Atividade menor que a habitual causa sintomas.

Classe Funcional IV - Paciente com sintomas (dispnéia, palpitações e fadiga), ocorrendo às menores atividades físicas e mesmo em repouso.

Outro tipo de classificação para a insuficiência cardíaca foi criado pela *American College of Cardiology* e *American Heart Association* (ACC/AHA) (Jessup & Brozena, 2003). Esta classificação ressalta a progressão da IC e é dividida em quatro estágios:

- A. Alto risco / assintomático
- B. Alterações estruturais assintomáticas
- C. Disfunção sistólica do ventrículo esquerdo e IC sintomática
- D. Estágio final da IC

A IC pode ser categorizada como sistólica, diastólica ou ambas. A insuficiência cardíaca sistólica é caracterizada pela redução da contratilidade e dilatação do ventrículo esquerdo (VE) culminando com diminuição da fração de ejeção e congestão pulmonar. Após o IM a função sistólica é primeiramente prejudicada. A insuficiência diastólica está associada com prejuízo do relaxamento e do enchimento ventricular devido à redução da complacência, resultando em elevação da pressão de enchimento. Tanto a disfunção sistólica como a diastólica levam ao aumento da pressão de enchimento do VE o que acarretará um aumento da pressão diastólica final do VE (Sjaastad e cols., 2003). A disfunção contrátil ativa mecanismos compensatórios que promoverão modificações estruturais das câmaras cardíacas como hipertrofia miocárdica e dilatação ventricular. Os fatores que contribuem para a disfunção contrátil são considerados intrínsecos e extrínsecos (Vassallo, 2000). Os fatores intrínsecos envolvem as alterações no acoplamento excitação-contração e alterações no próprio aparelho contrátil, além das alterações na matriz extracelular e no metabolismo energético (de Tombe, 1998). Os fatores extrínsecos abrangem a ativação neurohumoral decorrente da sobrecarga hemodinâmica e o processo de remodelamento presentes na IC (Hasking e cols., 1986).

1.2 Fatores intrínsecos envolvidos na disfunção contrátil da insuficiência cardíaca

1.2.1 Alterações no acoplamento excitação-contração

A compartimentalização do Ca^{2+} dentro das células é fundamental para o desenvolvimento de todas as etapas do ciclo cardíaco. O retículo sarcoplasmático tem um importante papel no controle do movimento do Ca^{2+} durante a contração e o relaxamento dos ventrículos. A excitação do sarcolema leva à abertura dos canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes do tipo-L, que irão promover a entrada de pequena quantidade deste íon para dentro da célula. O Ca^{2+} presente no interior da célula, no início da contração, ligar-se-á aos receptores de rianodina do retículo sarcoplasmático. Isso dispara a liberação de uma grande quantidade de Ca^{2+} para ativação dos miofilamentos contráteis, o que se denomina de liberação de Ca^{2+} - Ca^{2+} induzida (Fabiato, 1985, Ferrier e cols., 2001).

Durante o relaxamento, o Ca^{2+} é recaptado e rearmazenado dentro do retículo sarcoplasmático pela bomba de Ca^{2+} (Ca^{2+} ATPase) do retículo sarcoplasmático (do tipo SERCA-2a). O bombeamento do Ca^{2+} pela SERCA-2a é influenciado pela proteína fosfolambam. Quando não fosforilada, a fosfolambam inibe a SERCA-2a. Quando fosforilada a fosfolambam deixa de inibir a SERCA-2a que captará Ca^{2+} para dentro do retículo sarcoplasmático promovendo o relaxamento (Yano e cols., 2005).

O trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ contribui para a remoção do Ca^{2+} do citoplasma durante a diástole promovendo a troca de 3 Na^+ , entrando, para 1 Ca^{2+} , saindo da célula. Por esta razão, nas células miocárdicas em repouso, a troca $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ gera uma corrente despolarizante. Durante a despolarização o potencial de equilíbrio da troca $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ é ultrapassado e se inverte, o que contribui para a elevação do Ca^{2+} intracelular na fase inicial do platô. A força que movimenta este trocador advém do gradiente eletroquímico do Na^+ . O fato do trocador estar associado ao movimento de íons torna-o um sistema complexo. Assim, não apenas o trocador influencia o potencial de membrana, como também, o potencial de membrana influencia o trocador. Um aspecto importante do funcionamento deste trocador é seu efeito sobre contratilidade

do miocárdio. O aumento do Na^+ intracelular, pode induzir a uma elevação da razão entre o Ca^{2+} intracelular e o Ca^{2+} extracelular. Esse efeito aumenta a contratilidade, pois há uma retenção do Ca^{2+} dentro da célula. Tal mecanismo explica bem o fato de que agentes que inibam a bomba de Na^+/K^+ -ATPase, como os glicosídeos digitálicos, produzem efeito inotrópico positivo (Dipolo & Beaugé, 2006). Inversamente, a redução de Na^+ intracelular favorece o efluxo de Ca^{2+} , via este trocador, reduzindo a contratilidade miocárdica. (Katz 1992).

Outros transportadores de Ca^{2+} do citosol menos significativos quantitativamente são a bomba de Ca^{2+} do sarcolema e o uniporter mitocondrial de Ca^{2+} (Bers, 2000).

A contribuição de cada mecanismo para manter baixos níveis de Ca^{2+} sistólico varia de acordo com as espécies. Em humanos, aproximadamente 75% do Ca^{2+} é removido pela SERCA-2a e 25% pelo trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Hasenfuss, 1998). Em ratos, 92% da remoção do Ca^{2+} é feita pela SERCA-2a e 7% pelo trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Bassani e cols, 1994 e Hove-Madsen e Bers, 1993). Em miócitos de coelhos, a SERCA-2a remove 70% do Ca^{2+} e o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ aproximadamente 28% (Bers, 2000).

Em modelos experimentais de IC e no miocárdio humano insuficiente há alterações na homeostase do Ca^{2+} levando a anormalidades no processo de acoplamento excitação-contração. O aumento na concentração de Ca^{2+} intracelular ao fim da diástole e prolongamento do transiente de Ca^{2+} acarretam prejuízo do relaxamento e diminuição da força sistólica (Houser e cols, 2000). Uma das causas do aumento do transiente de Ca^{2+} é a diminuição da atividade da SERCA-2a vista tanto em corações humanos insuficientes como em modelos de animais com insuficiência (Schwinger e cols., 1999; Sjaastad e cols., 2002).

O aumento na expressão do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ tem sido demonstrado em modelos experimentais de animais insuficientes (Wasserstrom e cols., 2000) e pacientes com IC (Reinecke e cols., 1996). Ao que tudo indica, uma consequência funcional do aumento do trocador seria compensar a diminuição da expressão da SERCA-2a e amenizar o prejuízo no relaxamento (Barry, 2000).

Estudos *in vitro* feitos em miócitos humanos têm mostrado prejuízo da regulação de força de contração mediado pelo aumento da frequência, conhecido como efeito escada positivo (Gwathmey, 1987). Essa resposta é dependente do Ca^{2+} circulante entre o retículo sarcoplasmático e o citoplasma. No miocárdio humano normal a força é potencializada com o aumento da frequência cardíaca, enquanto que no miocárdio insuficiente, essa resposta está invertida (Pieske e cols., 1995; Movsesian & Schwinger, 1998). O aumento da expressão do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ apoia a hipótese da supressão do efeito escada em corações insuficientes. Pelo aumento na extrusão de Ca^{2+} do miócito através do trocador há diminuição da contratilidade (Schillinger e cols., 2000). Em ventrículos de ratos, o aumento da frequência causa pouco ou nenhum aumento do Ca^{2+} liberado pelo retículo sarcoplasmático, resultando em uma relação força-frequência negativa tanto em animais normais como insuficientes (Bers, 2000).

Um outro mecanismo que tem sido envolvido no prejuízo da contração na IC é a alteração no funcionamento regular dos "sparks" de Ca^{2+} , os quais consistem em liberações espontâneas de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (Cheng e cols., 1993). Litwin e cols. (2000) mostraram que há uma ativação tardia e assíncrona dos "sparks" de Ca^{2+} em miócitos infartados, o que poderia justificar parcialmente a diminuição do transiente de Ca^{2+} intracelular e o prejuízo na força de contração em miócitos insuficientes.

1.2.2 Alterações no aparelho contrátil

As miofibrilas são unidades contráteis do miocárdio formadas por filamentos finos e grossos arranjados em paralelo de forma repetida, estrutura que é denominada de sarcômero. Os filamentos grossos são predominantemente compostos de miosina e os filamentos finos compõem-se de actina e do complexo regulatório troponina-tropomiosina (Pollack, 1990).

A miosina é composta de duas cadeias entrelaçadas formando um dímero bifuncional. A hidrólise enzimática da miosina divide uma cadeia em duas partes, a

meromiosina pesada e a leve. A meromiosina pesada se subdivide em 2 subunidades: a S_1 e a S_2 . A porção S_1 possui uma parte pesada (*MHC-myosin heavy chain*) e duas cadeias leves (*MLC-myosin light chain*) (Pollack, 1990; Solaro 1992; Morano e cols., 1997). Essas subunidades possuem os sítios para a ligação com a actina e a S_1 , particularmente, possui a atividade ATPásica responsável por transformar a energia química do ATP em energia mecânica para o processo de contração. Associadas a cada cadeia pesada da miosina há duas cadeias leves MLC1 e MLC2, que parecem modular a atividade ATPásica da miosina, uma vez que sua remoção resulta em perda da atividade de hidrólise de ATP. No coração de ratos, três isoformas de miosina têm sido identificadas: V_1 , V_2 e V_3 . Essas isoformas são formadas através de combinações de duas variações da MHC denominadas α e β , sendo $\alpha\alpha$ para V_1 , $\alpha\beta$ para V_2 e $\beta\beta$ para V_3 . As isoformas diferem entre si apenas pela velocidade da atividade ATPásica e pela velocidade de encurtamento das fibras cardíacas. A isoforma V_1 é três vezes mais rápida do que a isoforma V_3 . Fibras cardíacas em que a isoforma predominante é a V_1 possuem alta velocidade de atividade ATPásica e alta velocidade de encurtamento em comparação com as fibras cardíacas que possuem V_2 ou V_3 como isoformas predominantes (Lindemann, 1991; LeWinter & VanBuren, 2002). Há divergências entre as isoformas predominantes entre as espécies, sendo que em humanos 90% da isoforma V_3 compõe os ventrículos e em roedores esse mesmo valor corresponde à isoforma V_1 . Na maioria das espécies, os átrios possuem a isoforma V_1 como predominante (Lowes e cols., 1997).

Os filamentos finos são compostos pela proteína contrátil - actina e complexo troponina-tropomiosina. A actina possui sítios ativos que se interagem com a miosina. Durante essa interação a ATPase da miosina é ativada hidrolisando ATP para gerar energia necessária à contração (LeWinter & VanBuren, 2002).

Quando a fibra cardíaca encontra-se em repouso, os sítios de ativação da actina estão bloqueados pela tropomiosina. Esta se encontra ligada à troponina que por sua vez possui três subunidades para ligação com a tropomiosina. Na situação de repouso, a subunidade I da troponina (TnI) está em interação com a tropomiosina, no entanto, o sítio ativo da actina é inibido. A subunidade C da troponina (TnC)

possui alta afinidade pelo íon Ca^{2+} . Durante a contração, a TnC se liga ao Ca^{2+} , a tropomiosina é afastada removendo a inibição à ligação de actina e miosina. Ainda na presença da ligação Ca^{2+} -troponina C, uma outra subunidade da troponina encontra-se ligada à tropomiosina, a TnT. A interação entre troponina T e tropomiosina faz com que essa última se desloque expondo o sítio de ligação da actina. É então que a miosina se liga à actina promovendo a contração (Solaro & Rarick, 1998; Moss e cols., 2004).

A IC está associada com alterações quantitativas e qualitativas da maquinaria contrátil, tanto em humanos como em animais experimentais, acarretando mudanças no índice de contração e relaxamento (Kass e cols., 2004; Noguchi e cols., 2004). Por exemplo, a diminuição da atividade ATPase miosínica foi a primeira anormalidade biomecânica descrita em miocárdios humanos insuficientes o que reflete uma menor formação de pontes cruzadas (Alpert & Gordon, 1962).

Em ratos pós-infarto há uma mudança na expressão da isoforma predominante da miosina, de V_1 (mais rápida) para V_3 (mais lenta) (Geenen e cols., 1989; de Tombe, 1996). Esta última isoforma possui menor atividade ATPásica de forma que está relacionado com a redução na velocidade de encurtamento máximo do sarcômero (de Tombe & ter Keurs, 1991; LeWinter & VanBuren, 2002). Uma vez que a isoforma predominante da miosina em humanos é a V_3 , parece improvável que a mudança nessa isoforma seja responsável pela diminuição da atividade da ATPase da miosina no miocárdio humano insuficiente (Mercadier e cols., 1983). Modificações no gene e expressão protéica das isoformas de cadeia pesada da miosina podem afetar a atividade ATPásica da miosina (Lowe e cols., 1997). As alterações na actina e na miosina podem prejudicar a interação que ocorre entre elas durante a contração. As modificações nos filamentos finos alteram a modulação da contração. O aumento da expressão da isoforma fetal da troponina T em humanos com IC (Anderson e cols., 1995), foi associado a mudanças na resposta dos miofilamentos ao Ca^{2+} (McAuliffe e cols., 1990).

A fosforilação da TnI pela PKA está reduzida em modelos experimentais de IC e no miocárdio humano insuficiente, o que resulta no aumento da sensibilidade da

TnC ao Ca^{2+} , prejudicando o relaxamento (VanderVelden e cols., 2004; Palmer, 2005).

1.2.3 Alterações na matriz extracelular

O desempenho da bomba cardíaca depende da perfeita interação entre miócitos e matriz extracelular (Janicki & Brower, 2002). As funções fisiológicas da matriz extracelular compreendem a interação entre miócitos, orientação do crescimento destes miócitos em condições fisiológicas e patológicas, alinhamento dos elementos contráteis, prevenção de superestiramento muscular e de ruptura de miócitos. (Weber e cols., 1989; Brown, 2005). O componente mais relevante da matriz é o tecido conjuntivo intersticial que é rico em colágeno fibrilar do tipo I e III. As propriedades diastólicas do miocárdio contrátil dependem da quantidade e da natureza do colágeno que formam a matriz extracelular (Weber, 1982). A quantidade e natureza do colágeno são determinadas pelo equilíbrio entre sua síntese e degradação. A degradação é regulada pela ação das metaloproteinases da matriz, uma família de endopeptidases que degradam proteínas da matriz. Os inibidores dessas metaloproteinases que são as enzimas que inibem a atividade das metaloproteinases regulam a síntese de colágeno (Visse e Nagase, 2003).

Tanto um aumento na atividade das metaloproteinases como uma diminuição da atividade de inibidores das metaloproteinases têm sido observados no miocárdio de pacientes e modelos experimentais de IC. O aumento na razão metaloproteinases/inibidores das metaloproteinases contribui para a depleção da rede fibrilar de colágeno ocasionado dilatação das câmaras cardíacas (Spinale e cols., 2002; Deschamps & Spinale 2006). Por outro lado, há um aumento na concentração e distribuição do colágeno, o que contribui para o remodelamento cardíaco durante a hipertrofia desenvolvida na IC (Milanez e cols., 1997, Li e cols., 2000; Cleutjens & Creemers, 2002; Vanhoutte e cols., 2006).

É importante destacar o papel das integrinas que são uma complexa família de receptores com função de adesão celular e sinalização das funções. São

receptores transmembranas que ligam o meio intracelular com a matriz extracelular regulando a expressão gênica, a proliferação celular, a diferenciação e morte celular. Estas moléculas participam ativamente do remodelamento de corações insuficientes, pois seu papel mais importante é servir como mecanotransdutores durante o desenvolvimento normal e em resposta aos sinais fisiológicos e patológicos (Simpson e cols., 1999). Ainda não se sabe ao certo as alterações sofridas pelas integrinas na IC e qual o seu papel específico no remodelamento (Ross, 2002).

1.2.4 Alterações no metabolismo energético

Para realizar a contração e o relaxamento, o miocárdio utiliza energia proveniente do ATP. Este ATP é sintetizado pelas mitocôndrias por fosforilação oxidativa e pelos fosfatos de alta energia, através da enzima creatina quinase. As mitocôndrias oxidam derivados de açúcares e ácidos graxos, sendo que em condições normais, o miocárdio metaboliza 30% de açúcares e 70% de ácidos graxos, para formar o ATP. O ATP produzido é transportado ao aparato contrátil onde é consumido pela ATPase da miosina para gerar força (Wyss e cols., 1992; Stanley e cols., 2005). Tanto a formação das pontes cruzadas durante a contração quanto à dissociação do complexo actina-miosina durante o relaxamento requer a hidrólise de ATP. A bomba de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático consome 1 molécula de ATP para mover 2 íons Ca^{2+} contra um gradiente de concentração durante o relaxamento (Katz, 1992, Lohse 2003).

Em modelos experimentais de IC e corações humanos insuficientes há uma diminuição no conteúdo tecidual de ATP devido ao desequilíbrio entre a produção e o consumo de ATP, acarretando prejuízo da cinética de contração e relaxamento (Stanley e cols., 2005).

A creatina quinase é essencial para a ressíntese de ATP e seu prejuízo funcional leva a diminuição da energia livre e limita a recaptção de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático (Tian e cols., 1996). Ye e cols. (2001) relacionaram a

severidade da hipertrofia na IC com diminuição progressiva da creatina quinase e consequentemente, diminuição nos níveis de ATP disponíveis para a contração.

1.3 Fatores extrínsecos envolvidos na diminuição da contratilidade na insuficiência cardíaca

São classificados como alterações do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) e dos fatores humorais.

1.3.1 Alterações do sistema nervoso autônomo e receptores cardíacos

Na IC, é clássica a descrição da hiperatividade simpática e supressão da atividade parassimpática. Essas alterações se devem ao débito cardíaco inadequado e hipertensão atrial que se instalam com a progressão da doença. O aumento do tono adrenérgico em corações insuficientes inicialmente garante a manutenção da função da bomba cardíaca. O aumento da contratilidade e da frequência cardíaca têm como objetivo manter o volume sanguíneo circulante, a pressão sanguínea e a perfusão tecidual. Entretanto, mais tardiamente poderão ocorrer efeitos deletérios com aumento da pós-carga e do trabalho cardíaco (William, 1985).

A hiperatividade simpática em corações humanos insuficientes e em modelo de animais com IC promove aumento dos níveis plasmáticos de noradrenalina e diminuição do seu conteúdo no ventrículo (Hodsman e cols., 1988). A intensidade da elevação da noradrenalina plasmática é utilizada como um indicador do prognóstico da IC (Cohn e cols., 1984). A ativação pronunciada da atividade simpática em pacientes com IC está inversamente correlacionada com a sobrevivência (Packer e cols., 1988).

A norepinefrina liberada através da ativação simpática irá atuar nos receptores β -adrenérgicos cardíacos. Há pelo menos dois subtipos de receptores beta cardíacos: β_1 e β_2 sendo que 70-80% dos receptores são do tipo β_1 (Brodde & Michel, 1999). A via da sinalização do receptor β_1 é através da ativação da adenilato

ciclase pela proteína G estimulatória (G_s) o que resulta em aumento dos níveis intracelulares de AMPc. O alvo primário do AMPc é a proteína quinase A (PKA) que por sua vez, fosforila várias proteínas que são essenciais para a função cardíaca, como: canais de Ca^{2+} tipo-L (promovem entrada de Ca^{2+} para o citosol, durante o platô do potencial de ação), a fosfolambam (aumenta a atividade da SERCA-2a resultando em entrada de Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático), a troponina I (quando fosforilada, se liga à tropomiosina impedindo a exposição do sítio ativo da actina e portanto, participando efetivamente do relaxamento do miócito), os receptores de rianodina (desencadeiam a liberação de Ca^{2+} - Ca^{2+} induzida), a troponina C (a sua fosforilação promove sua ligação com o Ca^{2+} , processo que participa do deslocamento da tropomiosina, etapa importante do processo contrátil). Todas essas proteínas fosforiladas a seu tempo promovem o ciclo da contração e relaxamento do miócito (Lohse e cols, 2003).

Em corações humanos insuficientes, há alterações características nos receptores β -adrenérgicos como a diminuição da resposta dos receptores β_1 , também denominada dessensibilização. A diminuição na densidade de receptores β_1 pode ser justificada pelo aumento da atividade simpática (Bristow e cols, 1982). O aumento na proporção de receptores β_2 (de 20% passa a ser 35-40%) também é induzido pela hiperatividade simpática e pela própria dessensibilização de receptores β_1 (Bristow e cols, 1986).

Uma via ativada pelos receptores β_1 é a do AMPc/PKA, no entanto, a sinalização feita pela PKA é a mais afetada pelo prejuízo de β -adrenoceptores em corações insuficientes (Lohse e cols., 2003). O alvo cardíaco mais proeminente da PKA é a fosfolambam. Quando a PKA fosforila a fosfolambam a inibição da Ca^{2+} -ATPase do retículo é liberada, o que aumenta a taxa de captação de Ca^{2+} para dentro do retículo sarcoplasmático e mais íons serão liberados nas contrações subseqüentes. A diminuição da fosforilação da fosfolambam prejudica a função normal do retículo sarcoplasmático mantendo alta a concentração de Ca^{2+} diastólico no mioplasma (Houser & Margulies, 2003).

Os canais de Ca^{2+} do tipo-L quando fosforilados pela PKA têm sua permeabilidade aumentada e assim, a entrada de Ca^{2+} no citosol e este influxo de

Ca^{2+} dispara a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático. O Ca^{2+} que se liga aos receptores de rianodina ativa a liberação de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático. Na literatura descreve-se que a densidade dos canais de Ca^{2+} do tipo-L está normal na IC inclusive nos animais modelo após o infarto (Gómez e cols., 2001; Sjaastad e cols., 2002). Os estudos feitos quanto às alterações nos receptores de rianodina são conflitantes tanto em modelos experimentais quanto em corações humanos insuficientes (Hasenfuss, 1998; Li e cols., 2002; Marx e cols., 2000).

Quanto à via da sinalização adrenérgica, além da mudança dos próprios receptores adrenérgicos, há alterações na concentração do AMPc intracelular, na proteína G e na adenilato ciclase. As proteínas G têm um papel crucial no acoplamento dos receptores β -adrenérgicos. As células cardíacas contêm pelo menos 2 tipos de proteínas G: G_s (estimulatória) que estimula a adenilato ciclase e esta converte o ATP em AMPc e a G_i (inibitória) que medeia a inibição da adenilato ciclase não disponibilizando AMPc (McGraw & Liggett, 2005).

Em modelos experimentais de IC foi demonstrada a dessensibilização da proteína G_s e aumento da atividade da G_i , redução da atividade da adenilato ciclase (Kompa e cols., 1999) e menor quantidade de AMPc intracelular (Feldman e cols., 1987), todas essas alterações se devem ao aumento na concentração de catecolaminas circulantes (Francis e cols., 1990). As quinases de receptores acoplados a proteínas G no miocárdio (GRK2) também estão envolvidas na fisiopatologia da IC. Estas proteínas estão relacionadas à dessensibilização dos receptores β -adrenérgicos (Vinge e cols., 2001).

1.3.2 Ativação humoral na insuficiência cardíaca

Em resposta ao déficit funcional da bomba cardíaca e diminuição do débito cardíaco, vários mecanismos regulatórios são ativados, como o aumento da descarga nervosa simpática. O aumento do tono adrenérgico resulta na liberação aumentada não só de catecolaminas, mas também de endotelinas, além de ativar o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRRA) no sentido de restaurar a pressão e

a volemia. Na IC a homeostase não é alcançada devido ao prejuízo persistente da função ventricular. Assim, na ausência da retroalimentação negativa os mecanismos compensatórios neuro-humorais tornam-se parte de um ciclo vicioso que precipita uma deterioração clínica (Francis e cols., 2001).

As repercussões para o sistema circulatório da ativação do SRAA não se restringem às ações hemodinâmicas (aumento da resistência periférica) ou à retenção hidro-salina. A angiotensina II acentua a atividade simpática, promove crescimento dos miócitos, altera suas expressões gênicas e ativa a proliferação dos fibroblastos fatores que predispõe o coração insuficiente ao remodelamento cardíaco (Sadoshima e cols., 1993). Também estimula a apoptose (Braunwald & Bristow, 2000) e aumenta a síntese e liberação de metaloproteinases (Spinale, 2002).

Outros hormônios que se mostram alterados em pacientes com insuficiência cardíaca são os peptídeos natriuréticos. O fator natriurético atrial (ANF) e o peptídeo natriurético cerebral (BNP) são secretados pelo coração em resposta ao estiramento do átrio desencadeado pelo aumento da pressão de enchimento ventricular. Esses hormônios causam vasodilatação e natriurese (Nakayama, 2005).

Sob condições de sobrecarga hemodinâmica há aumento na síntese e secreção de ANF e BNP (McGhrat e cols., 2005). Os estudos de Tsunoda e cols. (1986) mostraram que o ANF está elevado no plasma de ratos com IC, aumentando progressivamente com o grau de severidade da IC. No estudo de SOLVD (*“Studies of Left Ventricular Dysfunction”*) o teor plasmático de ANF esteve elevado em portadores assintomáticos de disfunção ventricular. O aumento na concentração desse hormônio no plasma também foi correlacionado com o grau de disfunção ventricular, podendo ser usado como prognóstico da insuficiência (Rodeheffer, 2002).

A arginina vasopressina (AVP) também denominada hormônio antidiurético, é secretada pela neuro-hipófise. Sua função é manter a volemia e a osmolalidade plasmática. Sua secreção é regulada por receptores de estiramento atriais e pela osmolaridade plasmática. Esse hormônio encontra-se elevado em pacientes com IC e a esse fato está associado à elevada concentração de catecolaminas e renina. A secreção excessiva de AVP afeta a função do miocárdio e contribui para o aumento do estresse de parede sistólico e diastólico. Efeitos deletérios são mediados via

ligação desse hormônio com o receptor. As conseqüências funcionais dos níveis elevados de AVP são hiposmolaridade plasmática e o desencadeamento da hiponatremia dilucional (Goldsmith & Gheorghide, 2005). A endotelina é um vasoconstritor peptídico liberado por células endoteliais através da circulação. Além de vasoconstrição, promove retenção de sódio e água, ativação simpática e do SRAA, exerce estímulo proliferativo sobre os músculos lisos, miócitos e fibroblastos. É mantida em baixos níveis plasmáticos sob condições fisiológicas. Sabe-se que a endotelina é liberada por estímulo de uma sobrecarga pressórica, também é um potente ativador da resposta hipertrófica. Em pacientes insuficientes, os níveis de endotelina encontram-se aumentados o que promove a formação de um ciclo vicioso para a liberação de angiotensina II e, por sua vez, este hormônio também estimula a liberação de endotelina (Shubeita e cols, 1990).

Além dos fatores humorais alterados na IC, há também a superexpressão das citocinas inflamatórias. Estas compõem um grupo de proteínas com baixo peso molecular e se caracterizam por exercer seus efeitos a curtas distâncias de forma parácrina ou endócrina. No entanto, não são hormônios, pois não atuam pela via humoral. Essas citocinas inflamatórias como a TNF- α e interleucina- 1 β parecem desempenhar papel expressivo na patogênese da IC por depletarem as reservas intracelulares de anti-oxidantes e promoverem a formação de espécies reativas de oxigênio. Além disso, participam do processo de hipertrofia e da re-expressão de programas fetais, levando a apoptose dos miócitos (Braunwald & Bristow, 2000).

1.4 Remodelamento cardíaco na insuficiência cardíaca

O remodelamento é um termo usado para descrever os processos adaptativos e mal-adaptativos das câmaras cardíacas que resultam na alteração da geometria ventricular e diminuição da função cardíaca (Dorn, 2002).

Após o IM, o remodelamento ventricular é o principal fator causador da IC (Gaballa & Goldman, 2002) e pode ser dividido em uma fase precoce (dentro de 72 horas após o IM) e uma fase tardia (após 72 horas de IM). A fase tardia pode se

estender até durarem os estímulos bioquímicos que dependem do tamanho, local e transmuralidade do infarto. (Sutton & Sharpe, 2000).

A necrose dos miócitos e o aumento da sobrecarga ventricular disparam uma cascata de sinalização bioquímica intracelular capaz de promover hipertrofia, dilatação e formação de cicatriz de colágeno, tanto na região de necrose quanto nas áreas remanescentes a ela. Inicialmente, a hipertrofia ventricular é uma resposta adaptativa benéfica à sobrecarga hemodinâmica por estabilizar a função contrátil, mas sua evolução colabora para a disfunção ventricular progressiva (Spann e cols., 1967).

O enrijecimento da parede ventricular, secundário à instalação da hipertrofia causa elevação do estresse sistólico e diastólico de parede. (Pfeffer & Braunwald, 1990). Grossman e cols. (1975) mostraram que a sobrecarga pressórica produzia sinais mecânicos que resultavam na replicação de sarcômeros em paralelo - hipertrofia concêntrica - levando ao aumento na espessura da parede ventricular. Essa hipertrofia pode ter um efeito benéfico do ponto de vista energético, já que, segundo a relação de Laplace o estresse gerado na parede ventricular depende da pressão multiplicada pelo raio dividido pelo dobro da espessura da parede da cavidade. Podemos depreender desta fórmula que, um dado aumento da pressão ventricular pode ser compensado pelo aumento da hipertrofia concêntrica, normalizando assim o estresse de parede.

Em contrapartida, o estresse diastólico final na sobrecarga de volume dispara a replicação dos sarcômeros em série, que resulta em alongamento individual dos miócitos. Este aumento do comprimento celular causa um aumento no volume ventricular total resultando em hipertrofia excêntrica (Carabello, 2002).

Após o infarto, a hipertrofia tecidual e celular é quantitativa e qualitativamente diferente no VD e no VE. A hipertrofia do VD foi associada com o aumento no diâmetro dos miócitos (hipertrofia concêntrica) e no VE há um aumento no diâmetro e no comprimento dos miócitos culminando com hipertrofia concêntrica e excêntrica, respectivamente (Anversa e cols 1985). A característica da hipertrofia a ser desenvolvida dependerá do tipo de estresse inicial na parede do ventrículo (Grossman e cols., 1975). Anversa e cols. (1985) descreveram que a hipertrofia

causada por sobrecarga pressórica é caracterizada por diminuição na velocidade máxima de encurtamento relacionada ao declínio da atividade ATPásica miosínica marcada pela diminuição da contratilidade intrínseca.

A deterioração progressiva dos ventrículos e a disfunção sistólica e diastólica instaladas pelo contínuo processo de remodelamento levam a diminuição da fração de ejeção, prejuízo no mecanismo de Frank-Starling e descompensação do estresse sistólico, anteriormente evitado de acordo com a Lei de Laplace. O aumento da pós-carga deixa efetivamente de resultar no aumento da pré-carga e o coração despenderá de alto consumo energético para realizar sua performance de bomba o que resultará em falência da bomba cardíaca (Gerdes, 2002). Com a progressão do remodelamento os mecanismos compensatórios estruturais iniciais tornam-se prejudiciais e levam à deterioração da função cardíaca contribuindo para o desenvolvimento da IC (Pfeffer, 2002).

1.5 O modelo de insuficiência cardíaca

Ratos que sofrem a ligação da coronária descendente anterior e apresentam infarto transmural do miocárdio são utilizados como modelos experimentais de insuficiência cardíaca. Este modelo simula a causa mais comum de IC em humanos e é de grande valia para a compreensão das repercussões cardiovasculares após o infarto (Pfeffer e cols, 1979).

A ligação da coronária em ratos produz disfunção ventricular e a magnitude do prejuízo depende do tamanho do IM, segundo Pfeffer e cols, (1979). A IC é evidenciada através de alterações hemodinâmicas e funcionais cardiopulmonares. Em modelos de ratos infartados a pressão diastólica final do VE acima de 15 mmHg está correlacionada com redução da velocidade de encurtamento do miocárdio, dilatação do átrio esquerdo e congestão pulmonar (Sjaastad e cols., 2000).

Além das alterações cardiopulmonares e hemodinâmicas uma variedade de sinais identifica os animais que desenvolvem a insuficiência após o infarto como dispnéia, letargia e edema de membros inferiores. Esses sinais são acompanhados

do aumento da razão peso pulmão e peso corporal. Quando avaliados hemodinamicamente, esses animais também apresentam diminuição da pressão sistólica do VE e aumento da pressão diastólica final do VE (Davidoff e cols., 2004).

Olivetti e cols. (1991) mostraram as diferenças das respostas celulares nos ventrículos de ratos que apresentaram pequena e grande área de infarto. Os autores descreveram que a pressão diastólica final do VE e o estresse de parede diastólico, eram consideravelmente mais acentuados no grupo com área de infarto grande. De acordo com os achados destes pesquisadores o prejuízo da função ventricular depende da área de infarto, sendo que no grupo com grande área de infarto a magnitude dessa resposta é maior do que no grupo com pequena área. Fletcher e cols. (1981) mostraram que o prejuízo na função cardíaca está diretamente relacionado ao tamanho do IM. Grandes áreas de infarto levam ao aumento do volume diastólico que por sua vez causa redução no débito cardíaco e disfunção sistólica.

Recentemente, os estudos de Pereira e cols. (2005) mostraram que ratos com a mesma área de infarto apresentaram respostas diferentes à reatividade vascular. De acordo com a avaliação hemodinâmica e os sinais de insuficiência, os grupos eram divididos em infartados com e sem insuficiência. Neste estudo foi observado que em animais sem insuficiência há prejuízo do relaxamento dependente do endotélio e aumento da reatividade à fenilefrina. Já nos animais infartados que evoluíram para a IC, a reatividade à fenilefrina diminui. A magnitude das respostas não se correlacionou com a área de infarto, e sim com as alterações hemodinâmicas e vasculares causadas pelo infarto. Entretanto, o estudo da contratilidade miocárdica das câmaras direita e esquerda destes mesmos grupos de animais não foi realizado até o momento.

O presente estudo questionou se animais com áreas de infarto semelhantes, mas com respostas hemodinâmicas diferentes apresentam diferenças na resposta contrátil dos ventrículos direito e esquerdo.

Após a oclusão cirúrgica da artéria coronária anterior esquerda, os ratos com a mesma área de infarto foram divididos em duas categorias: os animais que

apresentavam sinais de insuficiência cardíaca e os que não apresentavam sinais de insuficiência cardíaca.

O critério utilizado para classificar os animais experimentais como insuficientes foi o aumento da pressão diastólica final do VE acima de 15 mmHg, a hipertrofia do VD e do pulmão (Anversa e cols., 1985; Davidoff e cols., 2004; Pereira e cols., 2005).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a contratilidade dos ventrículos direito e esquerdo, 8 semanas após o infarto agudo do miocárdio, em ratos com e sem sinais de insuficiência cardíaca.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar em tiras de ventrículo direito e músculos papilares de ventrículo esquerdo dos grupos controle, infarto sem sinais de insuficiência e infarto com sinais de insuficiência:

- A atividade funcional do retículo sarcoplasmático;
- A resposta inotrópica ao cálcio extracelular;
- A resposta inotrópica e lusitropica β -adrenérgica;
- O tempo de ativação da contração em resposta ao isoproterenol.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais experimentais

Foram utilizados para a realização desse trabalho ratos Wistar, machos, com idade entre 3 a 4 meses, pesando entre 200 e 230 gramas, cedidos pelo biotério do Programa de Pós-Graduação em Ciência Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo.

Os animais foram mantidos em gaiolas passando por ciclos claro-escuro e tinham acesso livre a água e ração balanceada.

3.2 Realização do infarto agudo do miocárdio

O procedimento para a indução do infarto foi realizado de acordo com a técnica descrita por Selye e cols. (1960) e modificada por Mill e cols. (1990). Animais de 200-230g foram anestesiados com Halotano e mantidos sob anestesia com éter etílico. Em seguida foi feita uma toracotomia do lado esquerdo entre o terceiro e 4º espaço intercostal. O músculo peitoral foi separado e as costelas expostas. O coração foi gentilmente exteriorizado e a artéria coronariana descendente anterior esquerda foi ligada aproximadamente a 3 mm distal à sua origem através do uso de fio mononylon 6.0. Após o coração ter sido colocado no lugar e o tórax fechado, através de uma ligadura em bolsa previamente preparada, os animais retomavam a respiração normal. O procedimento cirúrgico do infarto, após abertura do tórax durava no máximo 30 segundos. Através de tal procedimento visamos obter infartos transmuralis, nos quais a necrose miocárdia envolve a espessura total (ou quase toda a espessura) da parede ventricular (Pfeffer e cols., 1979).

O grupo controle (Sham) foi submetido ao mesmo procedimento cirúrgico, exceto pela ligação da artéria coronariana.

3.3 Medidas hemodinâmicas e avaliação do VE

Oito semanas após o IM ou cirurgia fictícia (Sham) os animais foram anestesiados com injeção intra-peritoneal de uretana (1,2 g/kg *i. p.*). A artéria carótida esquerda foi canulada com cateter de polietileno (PE-50) e este conectado a um transdutor de pressão STATHAN P23 AA ligado ao sistema de aquisição de dados (MP100 Byopac Systems, Inc; CA). O cateter foi introduzido dentro do VE para medida da pressão diastólica final.

Eram considerados insuficientes os animais infartados que apresentaram pressão diastólica final do VE acima de 15 mmHg (Anversa, 1984). Também foram registradas a pressão arterial diastólica (PAD), a pressão arterial sistólica (PAS), a pressão arterial média (PAM), a pressão sistólica no ventrículo esquerdo (PSVE), a frequência cardíaca (FC) e a primeira derivada de pressão positiva (dP/dt+) e a negativa (dP/dt-).

3.4 Avaliação da área de infarto

Ao fim de cada experimento as câmaras cardíacas foram separadas e pesadas. O septo interventricular foi considerado parte do VE. O peso úmido foi corrigido pelo peso corporal para estimativa da hipertrofia cardíaca.

O tecido infartado foi visualizado por transluminação, uma vez que se diferencia do tecido remanescente por se apresentar fino e fibroso. Após visualização foi separado do tecido remanescente e as bordas das fatias foram contornadas em papel milimetrado e medidas por contagem dos pontos com a área calculada em mm² (Mill e cols., 1990). A área de infarto foi calculada pela porcentagem da área do VE remanescente (Figura 1). Corações com área de IM menor ou igual a 20% e superior a 30% foram descartados do estudo.

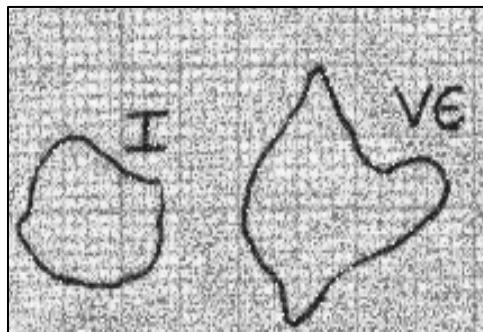


Figura 1. Avaliação da área de infarto. **I** representa o tecido infarto e **VE** representa o tecido remanescente. As bordas das fatias eram contornadas em papel milimetrado e medidas por contagem de pontos com área calculada em mm².

3.5 Avaliação da contratilidade cardíaca

Após avaliação hemodinâmica, o animal foi sacrificado, o tórax foi aberto e o coração foi cuidadosamente removido. A aorta foi perfundida, o músculo papilar posterior do VE e uma tira longitudinal do VD foram dissecados para avaliação da contratilidade cardíaca. Essas preparações foram colocadas em uma cuba de vidro com 50 ml de solução nutritiva de Krebs modificada contendo (em mM), NaCl 120; KCl 5,4; CaCl₂ 1,25; MgCl₂ 1,2; NaH₂PO₄ 2; Na₂SO₄ 1,2; NaHCO₃ 27 e glicose 11 e gaseificada por borbulhamento com mistura carbogênica (5% de CO₂ e 95% de O₂), à 30° C. Os músculos tiveram suas extremidades fixadas para registro da contração isométrica, sendo o estimulados por meio de eletrodos de prata posicionados paralelamente ao comprimento dos músculos, que liberavam pulsos de 5 ms de duração. A voltagem utilizada foi 1,5 vezes o limiar para provocar resposta mecânica do músculo a uma frequência de 0,5 Hz. A força desenvolvida foi medida através de transdutor de força isométrica (TSD125 - Byopac Systems, Inc; CA) acoplado a um

amplificador (DA100C Byopac Systems, Inc; CA) e registrados em sistema de aquisição de dados (MP100 Byopac Systems, Inc; CA).

Os músculos foram estirados gradualmente até a tensão desenvolvida atingir o valor máximo. O comprimento diastólico da fibra muscular associado com a tensão máxima desenvolvida denomina-se $L_{máx}$. Após o $L_{máx}$ ser alcançado, os músculos passavam por um período de estabilização com duração de 40 min aproximadamente para então serem submetidos ao protocolo experimental.

O tempo de ativação (TA) e tempo de relaxamento (TR) em ms foram registrados e a força isométrica máxima produzida corrigida pelo peso úmido dos músculos, dada em mg/g, foram registradas em todas as fases do protocolo.

3.6 Protocolo experimental

3.6.1 Curva de potenciação pós-pausa

A potenciação pós-pausa é uma manobra experimental que permite avaliar a atividade funcional do retículo sarcoplasmático. A primeira contração após uma pausa na estimulação elétrica é potencializada em relação às contrações precedentes (figura 2) (Vassallo e cols.,1995). Os tempos de pausa realizados foram: 15, 30, 60 e 120 segundos. A potenciação relativa após cada pausa foi obtida dividindo-se a amplitude da primeira contração após a pausa, pela amplitude da contração que precedeu a pausa. Para que a próxima pausa fosse realizada, a preparação passava novamente por um período de estabilização até que a força desenvolvida retornasse ao valor basal.

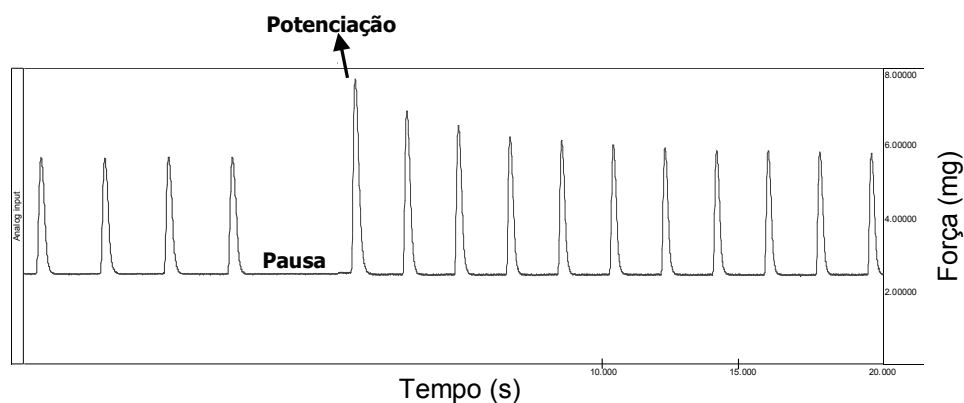


Figura 2. Potenciação pós-pausa. A primeira contração após pausa na estimulação elétrica é potencializada. O tempo foi registrado em segundos (s) e a força em miligramas (mg).

3.6.2 Curva de concentração-resposta de cálcio extracelular

A curva concentração-resposta ao cálcio foi realizada utilizando concentrações extracelulares crescentes e cumulativas de cálcio (0,62, 1,25, 2,5 e 3,75 mM) para avaliar a variação de força. No primeiro momento, a superperusão de Krebs foi substituída por outra que continha a concentração de cálcio de 0,62 mM, e novamente a preparação passava por um período de estabilização. As concentrações crescentes eram adicionadas após a força desenvolvida atingir um período de platô com força estável (Figura 3).

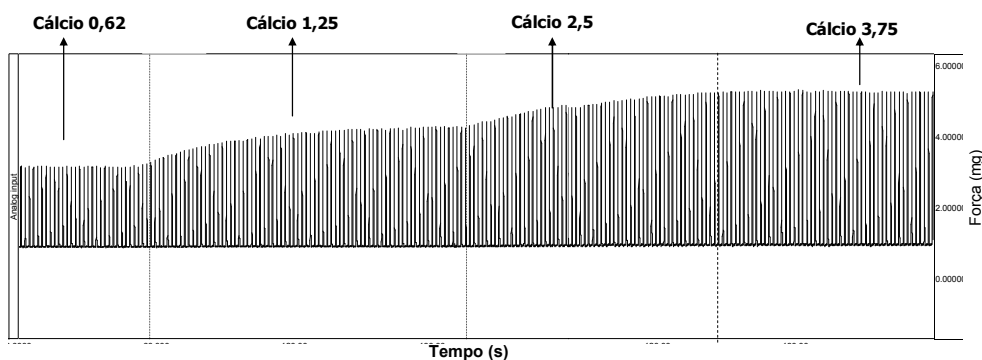


Figura 3: Curva de concentração-resposta ao cálcio realizada utilizando concentrações crescentes e cumulativas de Ca^{2+} (0,62, 1,25, 2,5 e 3,75 mM). O tempo foi registrado em segundos (s) e a força em miligramas (mg).

3.6.3 Curva concentração-resposta ao isoproterenol

Para se avaliar a resposta contrátil a um agonista β -adrenérgico não seletivo, a preparação foi superperfundida com solução de Krebs contendo uma concentração de cálcio 0,62 mM. Segundo Vassallo e cols. (1994), sob baixas concentrações de cálcio, preparações isoladas de rato exibem melhor resposta inotrópica positiva. Após estabilização funcional da preparação, foram adicionadas ao banho, doses crescentes de isoproterenol. A curva concentração-resposta foi realizada com as concentrações de $5 \cdot 10^{-9}$, $5 \cdot 10^{-8}$, $5 \cdot 10^{-7}$, $5 \cdot 10^{-6}$, $5 \cdot 10^{-5}$ M (figura 4). A solução estoque de isoproterenol foi previamente preparada com água bidestilada e ácido ascórbico (0,3 mM) a uma concentração de 10^{-5} M e mantida em congelador a -20 °C.

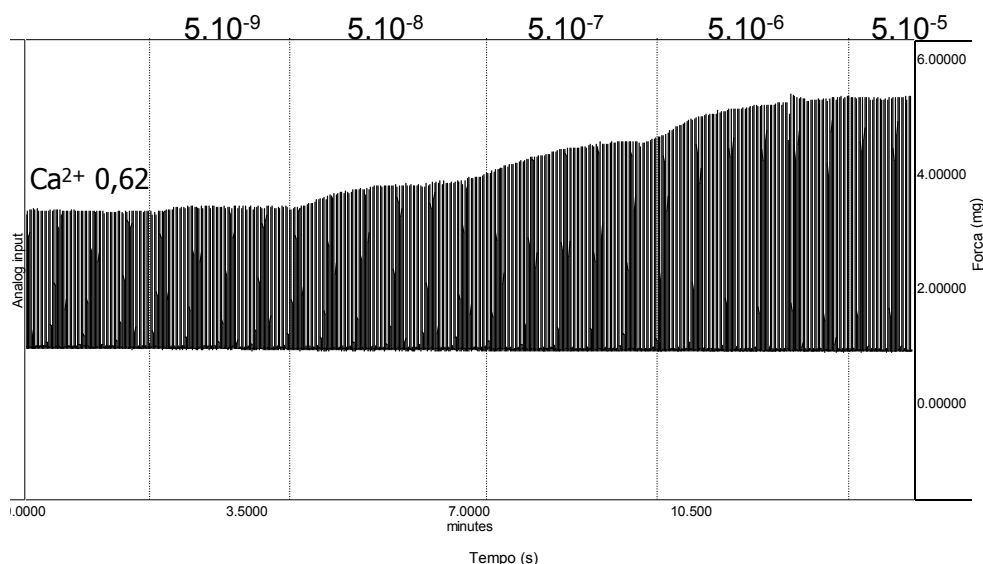


Figura 4: Curva de concentração-resposta ao isoproterenol. Concentrações crescentes e cumulativas de isoproterenol ($5 \cdot 10^{-9}$, $5 \cdot 10^{-8}$, $5 \cdot 10^{-7}$, $5 \cdot 10^{-6}$ e $5 \cdot 10^{-5}$ M) foram adicionadas a uma solução de Krebs contendo uma concentração de Ca^{2+} 0,62 mM. O tempo foi registrado em segundos (s) e a força em miligramas (mg).

3.7 Fármacos e reagentes

Ácido Ascórbico (Merck)

Bicarbonato de Sódio (Merck)

Cloreto de Cálcio Dihidratado (Merck)

Cloreto de Magnésio Hexahidratado (Merck)

Cloreto de Potássio (Merck)

Cloreto de Sódio (Merck)

Éter Etílico (Merck)

Fosfato de Sódio Dibásico (Merck)

Fosfato de Sódio Monobásico (Merck)

Glicose (Reagem)

Halotano (Cristália)

Heparina Sódica (Roche)

L-Isoproterenol (hidroclorato – Sigma)

Sulfato de Sódio (Merck)

Uretana (Sigma)

3.8 Análise estatística

Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Na análise dos dados ponderais e dados hemodinâmicos foi usado ANOVA 1 via com teste *post hoc* de Tukey. Para comparação da área de infarto, foi usado o teste “t” de Student não pareado. Para avaliação da força de contração, dados temporais e a potenciação pós-pausa, foi usada ANOVA duas vias com *post hoc* de Fisher LSD. Os

valores de $p < 0,05$ foram considerados como significativos. Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico GB-STAT (Dynamic Microsystem Inc., Silver Spring, MD, USA) 6.5 *for Windows* e para a plotagem dos gráficos foi utilizado o GraphPad Prism 2.0 (San Diego, CA, USA).

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação ponderal, hemodinâmica e área de infarto

Sessenta dias após o IM, os ratos foram pesados e submetidos à avaliação hemodinâmica. Os animais infartados foram divididos em 2 grupos: infarto sem sinais de insuficiência cardíaca (INF) e infarto com sinais de insuficiência cardíaca (INF-IC). Na tabela 1 estão representadas as medidas hemodinâmicas dos três grupos. A pressão diastólica final (PDf) do ventrículo esquerdo foi maior no grupo INF-IC ($16 \pm 2,5$ mmHg, $p < 0,05$) em comparação ao grupo INF ($7,5 \pm 0,7$ mmHg) e ao grupo Sham ($5,2 \pm 0,5$ mmHg). Não houve diferença de PDf entre os grupos Sham e INF (tabela 1 e figura 5 A).

Os dados ponderais dos grupos INF, INF-IC e controle (Sham) estão listados na tabela 2. O peso corporal dos grupos estudados não foi diferente. O aumento da razão do peso do ventrículo esquerdo e peso corporal é uma medida indireta de hipertrofia do ventrículo esquerdo. No grupo INF-IC houve aumento desta razão em relação ao grupo controle. O mesmo não foi observado com o grupo INF, pois a razão ventrículo esquerdo e peso corporal não foi diferente do grupo controle (tabela 2). A hipertrofia do ventrículo direito foi notada no grupo INF-IC, mas não no grupo INF. (tabela 2 e figura 5 B).

A área de infarto foi mensurada e não houve diferença entre os grupos INF e INF-IC (tabela 2 e figura 5 C). Entretanto, os animais com a mesma área de infarto apresentaram diferenças na razão peso do pulmão e peso corporal (tabela 2, figura 5 D). O grupo INF-IC apresentou um aumento na razão peso do pulmão e peso corporal comparado com os grupos Sham e INF. No grupo INF não ocorreu aumento na razão peso do pulmão e peso corporal (tabela 2 e figura 5 D).

A distinção dos grupos infartos em grupos INF e INF-IC, baseou-se nos valores diferenciados da razão entre o peso do pulmão e peso corporal, no aumento da PDf e hipertrofia do VD (aumento da razão peso do VD e peso corporal).

Tabela 1: Valores hemodinâmicos obtidos dos grupos Sham, INF e INF-IC:

	Sham (n=9)	INF (n=9)	INF-IC (n=9)
PAD (mmHg)	69 ± 5,5	70 ± 3,1	79 ± 1,4
PAM (mmHg)	84 ± 5,5	85 ± 3,3	93 ± 1,8
PAS (mmHg)	106 ± 5,9	105 ± 3,5	111 ± 2,4
PDf (mmHg)	5,2 ± 0,5	7,5 ± 0,7	16 ± 2,5 * #
PSVE (mmHg)	112 ± 3	116 ± 4	120 ± 3
FC (bpm)	291 ± 15	297 ± 17	312 ± 12
dP/dt+(mmHg/s)	4728 ± 338	4544 ± 331	4098 ± 231
dP/dt-(mmHg/s)	4197 ± 271	3708 ± 209	3184 ± 185 *

Pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM), pressão arterial sistólica (PAS), pressão diastólica final do VE (PDf), pressão sistólica do VE (PSVE), frequência cardíaca (FC), primeira derivada temporal positiva (dP/dt+) e negativa da pressão (dP/dt -). Os dados representam a média ± EPM. ANOVA 1 via, *post hoc* de Tukey, para todas as análises. * p< 0,05 vs Sham; # p<0,05 vs INF.

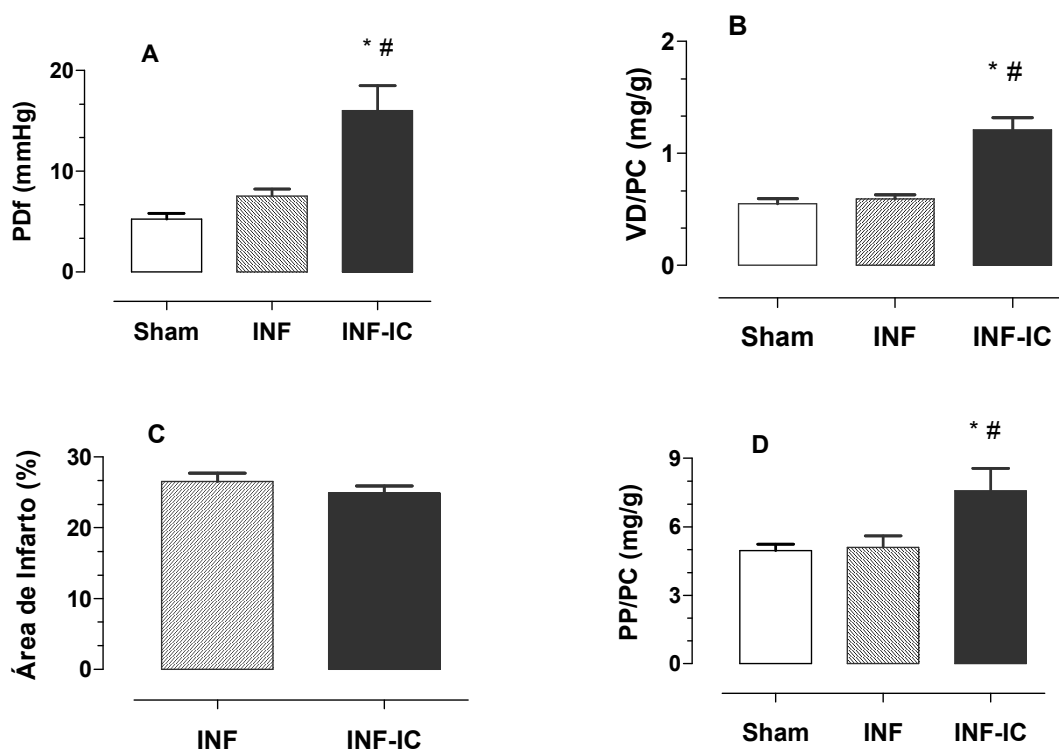


Figura 5: Dados ponderais e pressóricos obtidos dos grupos controle (Sham; n=9), infarto sem sinais de insuficiência cardíaca (INF; n=9) e infarto com sinais de insuficiência cardíaca (INF-IC; n=9). **A:** Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDf); **B:** razão entre o peso do ventrículo direito e peso corporal (VD/PC); **C:** área de infarto; **D:** razão entre o peso do pulmão e peso corporal (PP/PC). Os valores representam a média \pm EPM. ANOVA 1 via, *post hoc* de Tukey e teste “t” de Student não pareado para área de infarto. * p<0,05 vs Sham, # p<0,05 vs INF.

Tabela 2. Dados Ponderais obtidos dos grupos Sham, INF e INF-IC:

	Sham (n=9)	INF (n=9)	INF-IC (n=9)
PC (g)	350 ± 10	381 ± 15	339 ± 25
VE/PC (mg/g)	1,74 ± 0,06	1,89 ± 0,07	2,08 ± 0,14 *
VD/PC (mg/g)	0,55 ± 0,04	0,59 ± 0,03	1,21 ± 0,1 * #
PP/PC (mg/g)	4,95 ± 0,28	5,10 ± 0,49	7,59 ± 0,98* #
PVE (mg)	7,25 ± 1,29	6,88 ± 0,91	5,80 ± 1,24
TiraVD (mg)	12,55 ± 1,06	17,0 ± 2,17	22,33 ± 2,91*
Área Inf (%)		26,5 ± 1,17	25 ± 0,9

Valores de peso corporal (PC), razão peso do ventrículo esquerdo e peso corporal (VE/PC), razão peso do ventrículo direito e peso corporal (VD/PC), razão peso do pulmão e peso corporal (PP/PC), papilar do ventrículo esquerdo (PVE) tira do ventrículo direito (VD) e área de infarto do grupo Sham, infarto (INF) e infarto com insuficiência (INF-IC). Os dados são expressos como média ± EPM. ANOVA 1 via, *pos hoc* de Tukey, para todas as análises, exceto área de infarto em que foi usado teste “t” de Student não pareado. *p<0,05 vs Sham; # p<0,05 vs INF.

4.2 Avaliação da contratilidade miocárdica dos ventrículos direito e esquerdo

Para avaliar a contratilidade miocárdica, foram realizadas as curvas de potenciação pós-pausa, a curva concentração-resposta ao cálcio e ao isoproterenol de todos os grupos estudados.

4.2.1 Curva de potenciação pós-pausa (PPP)

Foram realizadas pausas durante a contração de 15, 30, 60 e 120 segundos de duração e os valores de potenciação relativa da força foram registrados tanto nas tiras de ventrículo direito (figura 6) quanto nos papilares de ventrículo esquerdo (figura 7). A figura 6 mostra as contrações pós-pausas em tiras de VD. Não houve incremento de força após qualquer tempo de pausa no grupo INF-IC.

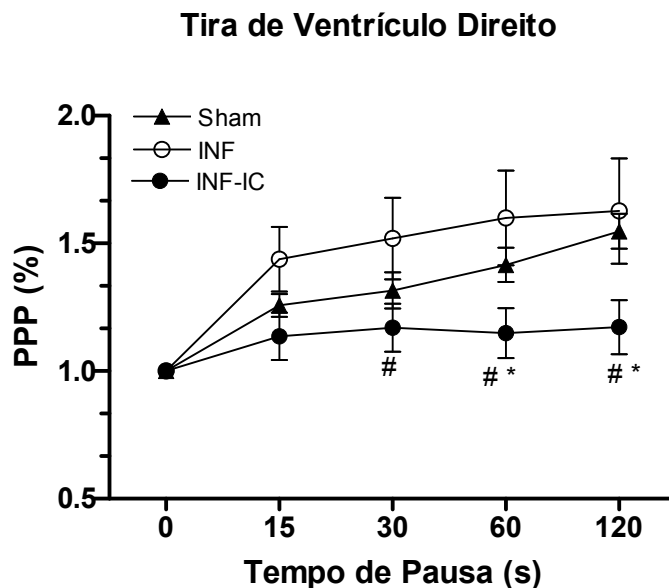


Figura 6: Curva de potenciação pós-pausa (PPP) em tiras de ventrículo direito do grupo controle (Sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infarto com sinais de insuficiência (INF-IC) com frequência de estimulação de 0,5 Hz e Ca^{2+} 1,25 mM. Os dados são expressos como média \pm EPM. Foi utilizada para análise estatística ANOVA duas vias e teste *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ vs Sham; # $p < 0,05$ vs INF.

Em papilares de ventrículo esquerdo (figura 7), o aumento da força em resposta à PPP foi prejudicado tanto no grupo INF quanto no INF-IC.

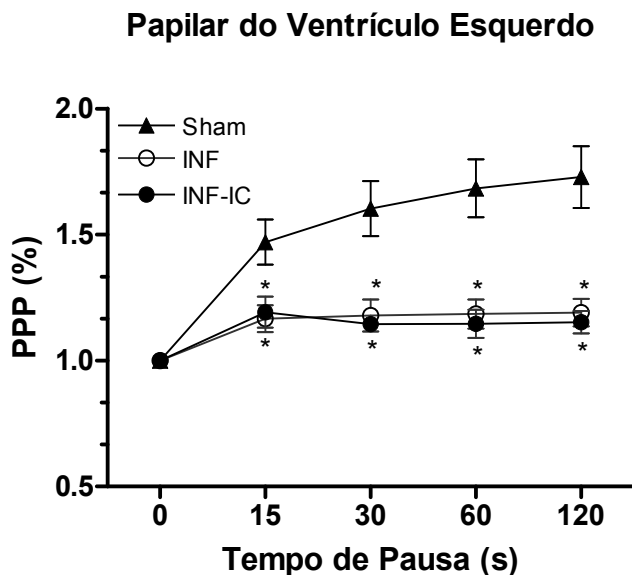


Figura 7: Curva de potenciação pós-pausa (PPP) em papilares de VE dos grupos controle (Sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infarto com sinais de insuficiência (INF-IC) com frequência de estimulação de 0,5 Hz e Ca^{2+} 1,25 mM. Os dados são expressos como média \pm EPM. Foi utilizada para análise estatística ANOVA duas vias e teste *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ vs Sham.

4.2.2 Curva concentração resposta ao cálcio

Concentrações extracelulares de CaCl_2 foram adicionadas ao banho das preparações de tiras de VD e músculos papilares de VE. A figura 8 demonstra um aumento progressivo de força nas tiras de VD dos grupos Sham e INF. A resposta inotrópica ao cálcio se manteve preservada no grupo INF e prejudicada no grupo INF-IC, por exemplo, em Ca^{2+} 3,75 mM: Sham= 163 ± 18 mg/g; INF= 148 ± 19 mg/g; INF-IC= 68 ± 11 mg/g; $p < 0,05$.

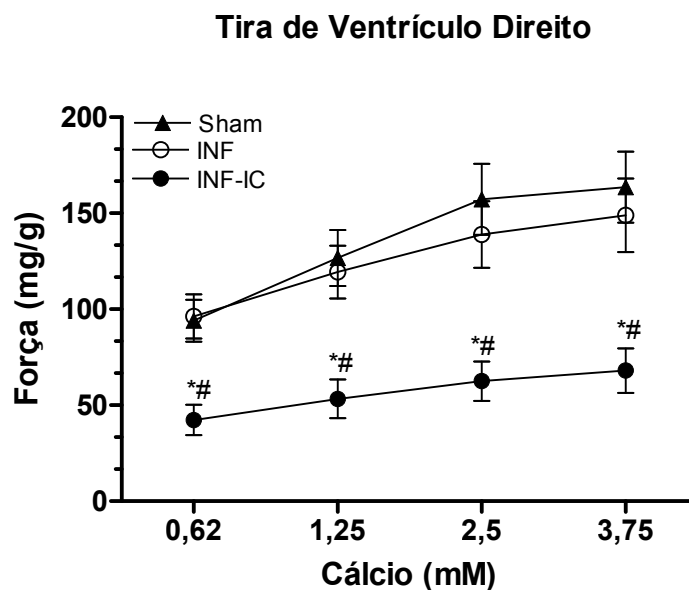


Figura 8: Variação da força desenvolvida (mg/g) em concentrações crescentes de CaCl_2 (0,62; 1,25; 2,5 e 3,75 mM) em tiras de ventrículo direito nos grupos controle (Sham), infarto sem insuficiência (INF) e infarto com insuficiência (INF-IC). Os dados são expressos como média \pm EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA duas vias e *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ vs Sham; # $p < 0,05$ vs INF.

A resposta inotrópica ao cálcio no ventrículo esquerdo (figura 9) mostrou-se prejudicada tanto no grupo INF como no grupo INF-IC em comparação ao grupo controle.

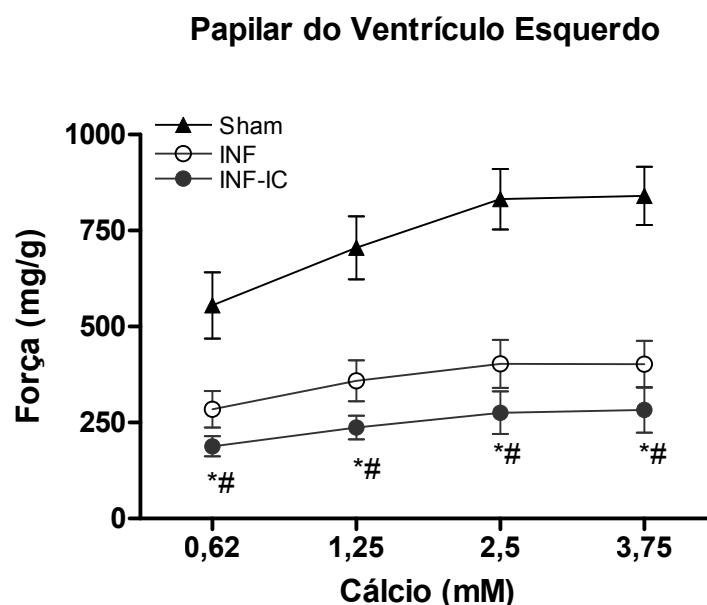


Figura 9: Variação da força desenvolvida (mg/g) em concentrações crescentes de CaCl₂ (0,62; 1,25; 2,5 e 3,75 mM) em papilares de ventrículo esquerdo nos grupos controle (Sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infarto com sinais de insuficiência (INF-IC). Os dados são expressos como média ± EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA duas vias e *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ vs Sham; # $p < 0,05$ vs INF.

4.2.3 Curva concentração-resposta ao isoproterenol

Para avaliar a resposta β -adrenérgica, foram utilizadas concentrações crescentes e cumulativas de isoproterenol ($5 \cdot 10^{-9}$, $5 \cdot 10^{-8}$, $5 \cdot 10^{-7}$, $5 \cdot 10^{-6}$ e $5 \cdot 10^{-5}$ M) nos três grupos. A figura 10 mostra os valores de força nas tiras de ventrículo direito. A resposta inotrópica estava prejudicada no grupo INF-IC e preservada no grupo INF, por exemplo, Isoproterenol $5 \cdot 10^{-5}$ M: Sham= 115 ± 15 , INF= 134 ± 17 , INF-IC= 52 ± 7 mg/g; $p < 0,05$.

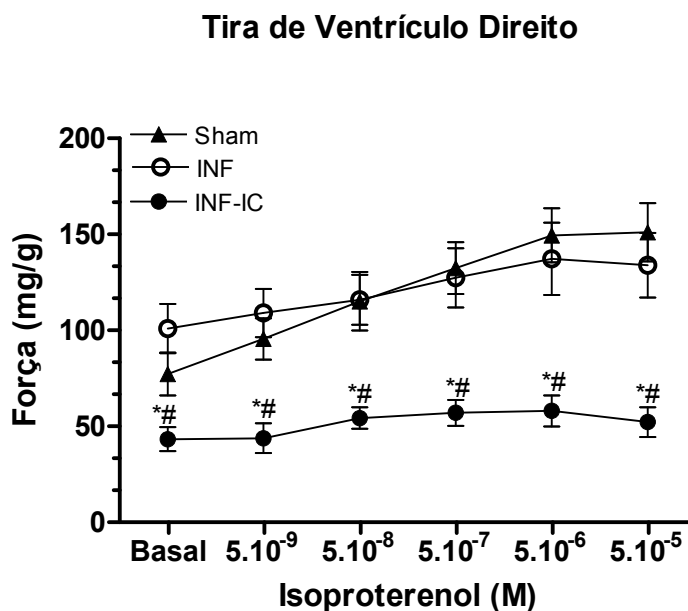


Figura 10: Força desenvolvida em mg/g em tiras de ventrículo direito em resposta a concentrações crescentes de isoproterenol nos grupos controle (Sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infarto com sinais de insuficiência (INF-IC). Dados são expressos como média \pm EPM. Para análise estatística foi utilizada ANOVA 2 vias com *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ vs Sham; # $p < 0,05$ vs INF.

Os papilares de ventrículo esquerdo (figura 11) foram avaliados quanto ao desempenho da resposta inotrópica ao isoproterenol nas mesmas concentrações que o ventrículo direito. Ocorreu prejuízo na resposta inotrópica tanto no grupo INF quanto no INF-IC em comparação ao Sham (Isoproterenol $5 \cdot 10^{-6}$ M: Sham= 770 ± 69 mg/g, INF= 363 ± 9 mg/g, INF-IC= 248 ± 39 mg/g; $p < 0,05$).

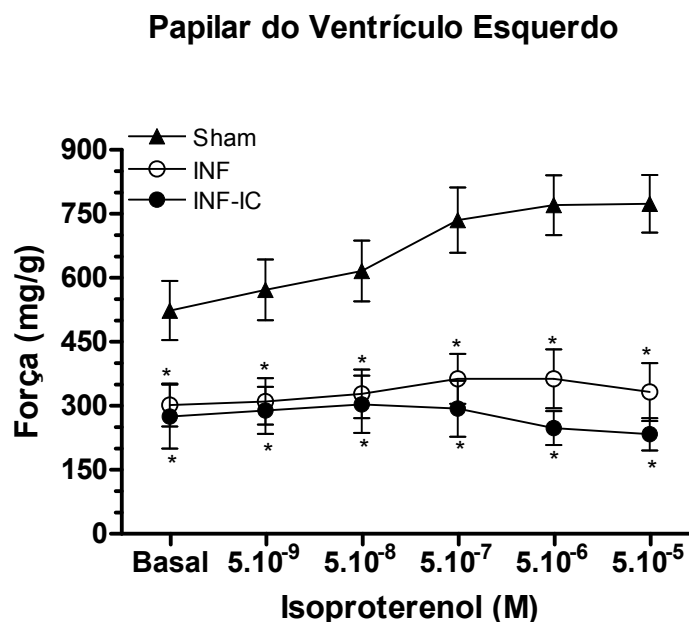


Figura 11: Força em mg/g nos papilares de ventrículo esquerdo em resposta a concentrações crescentes de isoproterenol nos três grupos: Controle (Sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infarto com sinais de insuficiência (INF-IC). Dados expressos como média \pm EPM. Análise estatística utilizada foi ANOVA 2 vias com *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ vs Sham.

4.3 Avaliação da cinética de ativação e relaxamento na resposta inotrópica ao isoproterenol

A figura 12 mostra o tempo de ativação em resposta ao isoproterenol em tiras de VD. O tempo de ativação foi maior nos grupos INF e INF-IC em comparação ao controle. No entanto, os grupos INF e INF-IC não apresentaram diferença entre si.

Em músculos papilares de VE, o tempo de ativação se apresentou aumentado nos grupos INF e INF-IC em comparação ao controle em todas as concentrações de

isoproterenol. Os grupos INF e INF-IC não apresentaram diferenças entre si (figura 13).

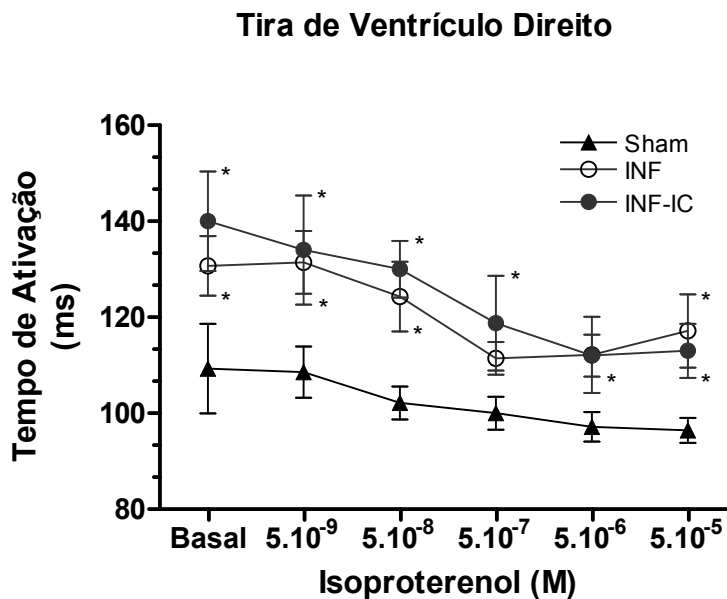


Figura 12: Tempo de ativação (TA) obtidos em diferentes concentrações de isoproterenol em tiras de ventrículo direito dos grupos controle (sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infartos com sinais de insuficiência (INF-IC). Dados expressos como média \pm EPM. ANOVA 2 vias, *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ vs sham.

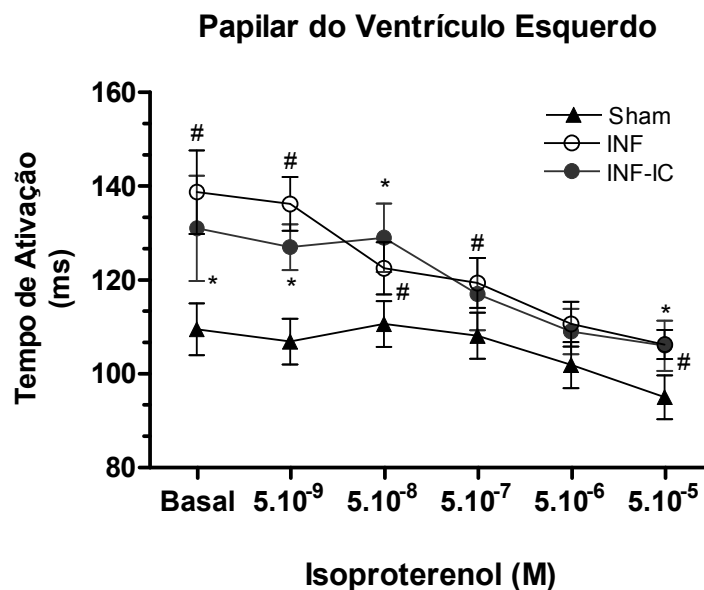


Figura 13: Tempo de ativação (TA) obtido em diferentes concentrações de isoproterenol em papilares de ventrículo esquerdo dos grupos controle (sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infarto com sinais de insuficiência (INF-IC). Dados expressos como média \pm EPM. ANOVA 2 vias, *post hoc* de Fisher LSD.

* $p < 0,05$ INF-IC vs Sham; # $p < 0,05$ INF vs Sham.

Na figura 14 está representado o tempo de relaxamento das tiras de VD em resposta ao isoproterenol. Os grupos INF e INF-IC não apresentaram diferenças entre si, mas tiveram maior tempo de relaxamento do que o grupo controle.

Nos papilares de ventrículo esquerdo, o tempo de relaxamento em resposta ao isoproterenol foi maior no grupo INF e INF-IC (figura 15) em comparação ao controle apenas na primeira concentração de isoproterenol ($5 \cdot 10^{-9}$ M). Não houve diferenças entre os grupos em todas as outras concentrações

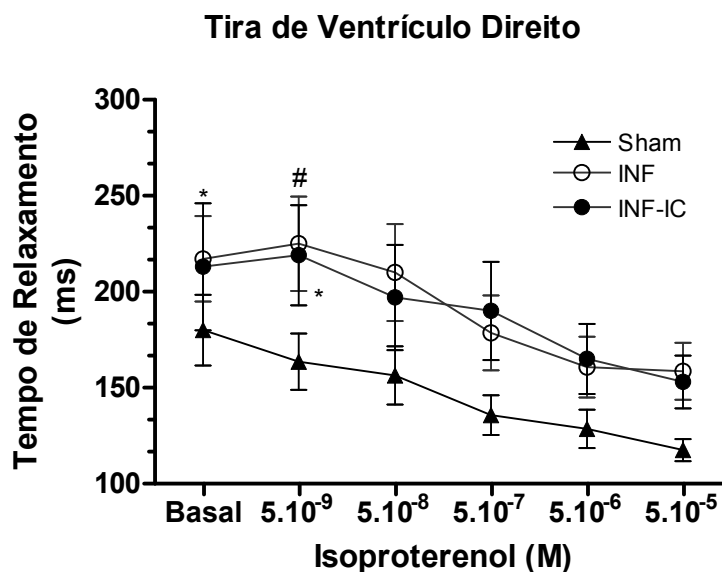


Figura 14: Efeito do isoproterenol sobre o tempo de relaxamento (TR) em ms de tiras de ventrículo direito dos grupos controle (Sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infarto com sinais de insuficiência (INF-IC). Dados expressos como média \pm EPM. A análise estatística foi realizada com ANOVA 2 vias e *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ INF-IC vs Sham; # $p < 0,05$ INF vs Sham.

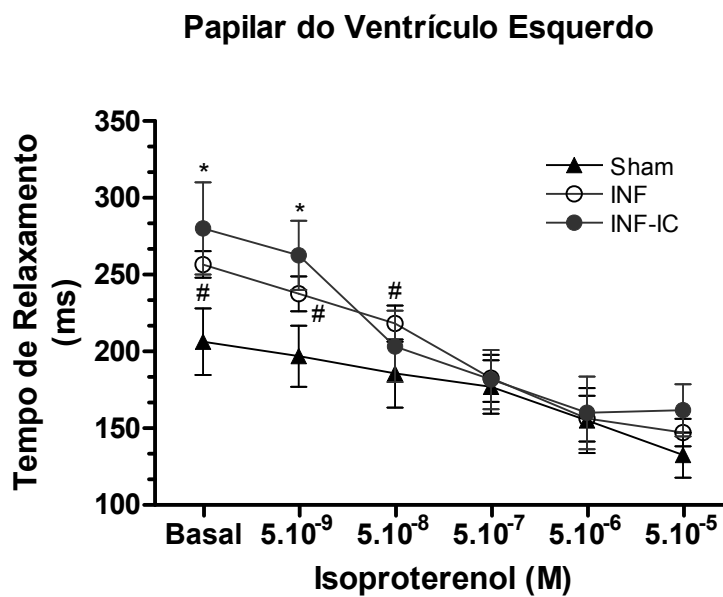


Figura 15: Efeito do isoproterenol sobre o tempo de relaxamento (TR) em ms de papilares do ventrículo esquerdo dos grupos controle (Sham), infarto sem sinais de insuficiência (INF) e infarto com sinais de insuficiência (INF-IC). Dados expressos como média \pm EPM. A análise estatística foi realizada com ANOVA 2 vias e *post hoc* de Fisher LSD. * $p < 0,05$ INF-IC vs Sham; # $p < 0,05$ INF vs Sham.

5 DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo é o de que animais com mesma área de infarto dividem-se naqueles com e sem sinais de insuficiência cardíaca apresentando função ventricular direita e esquerda diferente. Enquanto os animais infartados com sinais de IC apresentam redução da resposta inotrópica no VD e VE, os animais que não apresentam IC só têm prejuízo contrátil do VE, mas preservam a contratilidade do VD.

Há muito se demonstra que após o IM a perda de tecido contrátil acarreta aumento da sobrecarga no miocárdio residual levando a ativação de mecanismos compensatórios que resultam em remodelamento ventricular e disfunção do miocárdio os quais são fatores patognomônicos da IC (Pfeffer e cols., 1985). Três fatores interdependentes são responsáveis por desencadear alterações no miocárdio: tamanho do IM, formação de cicatriz e estresse de parede ventricular (Pfeffer & Braunwald, 1990). Até o presente momento, a maioria dos trabalhos tem correlacionado a insuficiência cardíaca a lesões com grandes áreas de infartos (Anversa e cols., 1985; Pfeffer e cols., 1991, Olivetti e cols., 1991). No presente estudo os ratos infartados apresentaram área de infarto considerada de médio porte (aproximadamente 26 %), o que possibilitou a avaliação de um grupo mais homogêneo de animais infartados, desconsiderando aqueles com área de infarto muito pequena (menor 20 %) ou muito grande (maior que 30 %). Este procedimento tornou possível evidenciar que até mesmo os animais que apresentavam mesma área de infarto poderiam ou não desenvolver a IC. A partir desta observação inicial, dois subgrupos de animais infartados, com mesma área de infarto, foram classificados: os que apresentavam sinais de insuficiência cardíaca e os que não apresentavam.

Em seres humanos os métodos diagnósticos na insuficiência cardíaca são voltados para o estabelecimento da causa do distúrbio e a determinação do grau de disfunção. Frequentemente o diagnóstico tem base nos sinais e sintomas do próprio coração com insuficiência, tais como a dispnéia e a fadiga. Atualmente duas classificações para a IC são usadas: a classificação funcional dos pacientes com

cardiopatia da "New York Heart Association" (1955) e a classificação relacionada com a progressão da IC da "American College of Cardiology" (Jessup & Brozena, 2003). Nestes modelos de classificação, a IC é definida em diferentes níveis em função de aspectos clínicos e laboratoriais do paciente. Os métodos diagnósticos consistem em história e exame físico, estudos laboratoriais, eletrocardiograma, radiografia do tórax e ecocardiograma (Shamsham & Mitchell, 2000). No entanto, não existe tal classificação para os modelos experimentais de IC. O que os trabalhos têm descrito é simplesmente a presença ou não de insuficiência. De maneira geral, têm-se considerado como um rato com sinais de insuficiência cardíaca aqueles com alterações hemodinâmicas ou estruturais no coração e pulmão. Segundo Anversa e cols. (1985), a pressão diastólica final acima de 15 mmHg é um fator determinante para se comprovar a instalação da IC após IM. O aumento da pressão diastólica final do VE representa um maior estiramento da câmara ventricular no período da diástole para que o débito cardíaco seja mantido normal. Conseqüentemente essa alteração acarreta falência da bomba cardíaca num estágio mais avançado da IC (Mueller e cols., 2002).

As medidas hemodinâmicas realizadas no presente estudo indicaram que, dentro do grupo de animais infartados com a mesma área de cicatriz, alguns animais apresentavam pressão diastólica final do VE normal e outros elevada. Estes mesmos ratos apresentaram elevação da razão do peso do pulmão e do peso corporal acompanhada de hipertrofia do VD.

Em modelos de animais insuficientes tem sido observada hipertrofia concêntrica do VD em resposta à sobrecarga pressórica imposta a esta câmara após o IM. A hipertrofia do VD pode ser desencadeada: pelas alterações hemodinâmicas iniciadas no VE (Pfeffer e cols. 1995; Anversa e cols., 1986), por fatores de ativação humoral (Nahrendorf e cols., 2003) ou pela congestão pulmonar que se instala na IC (Jasmim e cols., 2004). O aumento da razão do VD e do peso corporal é um indicativo indireto de hipertrofia do VD. Os resultados aqui demonstrados evidenciaram que apenas o grupo INF-IC, que já havia apresentando o aumento de peso do pulmão, apresentou aumento da razão VD e do peso corporal. Estes

aspectos foram então considerados sinalizadores de insuficiência cardíaca (Davidoff e cols, 2004; Pereira e cols, 2005).

O aumento da razão do VE e do peso corporal é um indicativo indireto de hipertrofia. O grupo INF-IC apresentou aumento desta razão em comparação ao controle, mas não em relação ao grupo INF. No grupo INF a razão do VE e do peso corporal não se diferenciou do grupo controle. Essa técnica de avaliação pode não representar exatamente a existência de uma real hipertrofia no tecido remanescente, pois é considerado o peso do VE total. O aumento do peso do VE remanescente é compensado pela redução do peso da cicatriz, fazendo com que esta razão não se altere, apesar de haver hipertrofia do tecido remanescente ao infarto (Mill e cols., 1990).

A hipertensão pulmonar é uma complicação secundária à IC (Butler e cols., 1999) que pode ser evidenciada pelo aumento da razão peso do pulmão e peso corporal (Francis e cols., 2001). Esse aumento se deve à congestão pulmonar e ao edema decorrente da IC. A pressão aumentada nas veias pulmonares é transmitida de modo retrógrado aos capilares e artérias o que resulta no remodelamento pulmonar. O remodelamento pulmonar leva ao aumento de peso dos pulmões devido à deposição de colágeno e reticulina, promovendo o enrijecimento do septo alveolar e estimulando a proliferação de fibroblastos (Jasmin e cols., 2004). De acordo com as avaliações ponderais do presente estudo, apenas o grupo INF-IC apresentou aumento da razão peso do pulmão e peso corporal. Estes dados corroboram os resultados de Davidoff e cols. (2004) que diferenciaram ratos com sintomas de IC de animais assintomáticos após o IM através da medida do aumento da razão peso do pulmão e peso corporal.

Pereira e cols. (2005) avaliaram a reatividade vascular de animais 30 dias após infarto com e sem sinais de insuficiência cardíaca. Os animais infartados desenvolveram diferentes mecanismos adaptativos vasculares em função destes apresentarem ou não sinais de IC. Os autores mostraram que a reatividade pressórica a fenilefrina no leito arterial caudal de rato estava aumentada nos animais infartados sem sinais de IC, e o relaxamento dependente do endotélio estava diminuído. Resposta diferente foi observada nos animais infartados que

apresentavam sinais de IC. Nestes, a reatividade a fenilefrina estava diminuída, enquanto o relaxamento dependente do endotélio estava inalterado.

Em relação ao desempenho ventricular, há vários estudos demonstrando a disfunção contrátil decorrente do infarto do miocárdio. Na grande maioria deles o que se têm descrito são as alterações observadas nos animais que desenvolveram sinais de IC. Entretanto, até o momento, não se comparou a função cardíaca de animais infartados, com mesma área de cicatriz, mas que apresentem ou não sinais de IC. Neste trabalho foi avaliada a função contrátil dos ventrículos esquerdo e direito de animais que apresentaram ou não sinais de IC.

As pressões sistólica ventricular e arterial não foram diferentes entre os grupos estudados. No entanto, no grupo INF-IC a manutenção da pressão sistólica ocorreu concomitante ao aumento da pressão diastólica final do VE, mas, não houve o aumento proporcional da dP/dt . Este fato é indicativo que nos animais com IC a contratilidade estava prejudicada. Por outro lado, o grupo INF manteve a pressão sistólica sem haver alteração da pressão diastólica final do VE.

A função cardíaca foi estudada no músculo papilar do ventrículo esquerdo e na tira do ventrículo direito usando uma preparação de contração isométrica. Os aspectos avaliados neste modelo foram a resposta inotrópica positiva ao cálcio e a um agonista β não seletivo, o isoproterenol. Avaliamos indiretamente a função do retículo sarcoplasmático por meio da indução de pausas na estimulação elétrica das preparações.

A participação do Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático no processo de acoplamento excitação-contração e a liberação de Ca^{2+} - Ca^{2+} induzida são fatores determinantes para a contração do miocárdio (Fabiato, 1985). A potenciação pós-pausa avalia a atividade funcional do retículo sarcoplasmático durante a contração e o relaxamento. As contrações após pausas são dependentes principalmente do Ca^{2+} liberado pelo retículo. Durante a pausa há um acúmulo de Ca^{2+} dentro do retículo e quando o estímulo é novamente deflagrado há liberação de todo o Ca^{2+} que se acumulou. Em ratos, observa-se que a contração subsequente à pausa é potencializada (Vassallo cols., 1988). Neste estudo, tiras de ventrículo direito dos

animais INF-IC apresentaram diminuição da força contrátil em resposta a pausas de 60 e 120 segundos. Entretanto, os animais do grupo INF mantiveram suas características contráteis intactas, não havendo assim, diferença na potenciação pós-pausa dos animais infartados sem sinais de IC e o grupo controle. Este dado é sugestivo de que, neste aspecto, a ocorrência do infarto não é fator suficiente para causar prejuízo da função do retículo sarcoplasmático no ventrículo direito. A ausência da potenciação pós-pausa no VD do grupo INF-IC sugere prejuízo funcional do retículo sarcoplasmático neste grupo. Por outro lado, as potenciações pós-pausa nos papilares de VE, estavam igualmente reduzidas nos grupos INF e INF-IC quando comparadas ao grupo controle. Sendo assim, no VE, a disfunção do retículo sarcoplasmático parece estar relacionada à ocorrência de infarto e não à presença de insuficiência cardíaca. De fato, alterações no movimento de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático são relatadas após o IM, o que pode afetar a função cardíaca (Arai e cols., 1994). A redução na carga de Ca^{2+} do retículo ou um defeito na sinalização da liberação de Ca^{2+} - Ca^{2+} induzida poderiam explicar o prejuízo contrátil na IC. A diminuição na expressão da SERCA-2a tem sido vista em modelos de animais com insuficiência, o que prejudica a captação de Ca^{2+} pelo retículo impondo uma condição de aumento do Ca^{2+} citosólico, diminuição da carga de Ca^{2+} do retículo e prejuízo do relaxamento (Sjaastad e cols., 2002; Prunier e cols., 2005; Ahlers e cols., 2005). A expressão do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ está aumentada em ratos com insuficiência cardíaca. O papel funcional desta mudança na expressão do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ tem sido atribuído à tentativa de compensar a diminuição na expressão da SERCA-2a (Hasenfuss e cols., 1997), mas o efluxo de Ca^{2+} durante o relaxamento ainda assim é deficiente (Houser e cols., 2000), provavelmente devido a pouca participação do trocador no relaxamento em ratos adultos (Bassani & Bassani, 2002) ou mesmo pela diminuição da atividade da captação de Ca^{2+} dependente de Na^+ (Yoshiyama e cols., 1997; Wasserstrom e cols., 2000).

O estudo de Gómez e cols. (2001) mostrou que o conteúdo de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático está preservado e atribui a alteração do movimento de Ca^{2+} ao defeito na sinalização da liberação de Ca^{2+} . Alguns estudos demonstram diminuição na densidade dos receptores de rianodina após o IM (Shao e cols., 2005; Houser e

cols., 2000; Bers e cols., 2003). Em contrapartida, estudos de Jiang e cols. (2002) não detectaram esta diferença entre animais controle e insuficientes, no entanto, utilizaram modelos de cães que desenvolveram IC por aumento da frequência cardíaca.

A entrada de Ca^{2+} através de canais do tipo-L foi avaliada por Sjaastad e cols. (2003). Estes autores não detectaram diminuição na densidade desta corrente e constataram que na IC esta via de entrada de Ca^{2+} não sofre alterações. Por outro lado, Saraiva e cols. (2003) demonstraram uma diminuição do influxo de Ca^{2+} através dos canais de Ca^{2+} do tipo-L. Apesar das divergências quanto à descrição das alterações no acoplamento excitação-contração dos animais infartados, os autores concordam que os prejuízos contráteis estão associados à uma área extensa de cicatriz de infarto. No entanto, os animais infartados utilizados no presente estudo, apresentaram mesma extensão de infarto, mas diferenças nas alterações no acoplamento excitação-contração de ventrículo direito em decorrência da ausência ou presença da insuficiência cardíaca.

Os estudos de Azfal & Dhalla (1992) mostraram que após 8 semanas de IM, os ratos apresentavam maior captação de Ca^{2+} pelo retículo no VD e menor no VE em comparação ao controle. Para explicar essas diferenças, os autores sugeriram que, enquanto o VE está no estágio de insuficiência, o VD está no estágio de compensar a insuficiência. No presente estudo, os resultados da potenciação pós-pausa obtidos no VE dos grupos infartados corroboram esses achados. Os animais dos grupos INF e INF-IC apresentaram prejuízo da atividade do retículo sarcoplasmático. Entretanto, os dados do VD obtidos neste trabalho foram diferentes daqueles descritos por Azfal & Dhalla (1992). Os dados apresentados no presente trabalho mostram prejuízo da potenciação pós-pausa no ventrículo direito nos animais infartados com insuficiência cardíaca. Muito embora a função do retículo sarcoplasmático não tenha sido medida diretamente neste trabalho, é possível especular que a manutenção da contratilidade do VD no grupo INF, esteja relacionada a preservação da atividade da SERCA-2a, dos receptores de rianodina, ou do conteúdo de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático.

Para a avaliação da resposta inotrópica positiva ao Ca^{2+} extracelular foi realizada a curva de Ca^{2+} com concentrações crescentes deste íon (0,62; 1,25; 2,5; 3,75 mM). A força de contração é capaz de variar de acordo com a quantidade de Ca^{2+} mioplasmático e há uma relação direta entre concentração de Ca^{2+} e aumento da força no miocárdio. A ligação do Ca^{2+} à TnC é um passo crítico para a contração, uma vez que essa ligação inicia mudanças na interação do complexo troponina e tropomiosina permitindo a interação a actomiosina (Moss e cols., 2004).

Observamos que nos papilares de VE a força foi diminuída nos grupos INF e INF-IC em comparação ao grupo controle. Houve uma diferença na resposta inotrópica ao Ca^{2+} entre os grupos infartados.

De acordo com Li e cols. (1997), miócitos remanescentes de VE após sete dias de IM apresentam prejuízo nas suas propriedades mecânicas. As alterações na quantidade e no estado de fosforilação das subunidades da troponina afetaram a sensibilidade ao Ca^{2+} levando a diminuição da responsividade do miofilamento ao Ca^{2+} e da velocidade de encurtamento dos miócitos. Estas alterações foram constatadas pelo aumento na fosforilação da TnI o que acarreta diminuição na formação de pontes cruzadas.

Além de alterações no complexo troponina tem sido demonstrada mudança nas isoformas da miosina. Lindemann (1991) relatou que mudanças qualitativas nos miofilamentos, como alterações na atividade ATPásica da miosina, estão envolvidas na progressão da IC. A isoforma V_3 da miosina passa a predominar em ventrículos de ratos insuficientes e sabe-se que essa isoforma possui menor atividade ATPásica do que a V_1 (Cazorla e cols., 2005).

No presente estudo, a resposta inotrópica positiva ao cálcio, em tiras de VD, manteve-se inalterada no grupo INF, mas prejudicada no grupo INF-IC. Mais uma vez o prejuízo da resposta contrátil da câmara direita só se manifestou em animais insuficientes e se manteve preservada em animais infartados sem insuficiência. Ainda resta definir que mecanismos intracelulares estariam envolvidos na preservação da contratilidade do VD em animais infartados sem sinais de insuficiência cardíaca. As possíveis vias poderiam envolver a preservação dos mecanismos de acoplamento excitação-contração, tais como: correntes iônicas de

cálcio do sarcolema, liberação de Ca^{2+} - Ca^{2+} induzida no retículo sarcoplasmático, e até mesmo alteração na sensibilidade da maquinaria contrátil ao cálcio.

Os principais componentes envolvidos no acoplamento excitação-contração são modulados pela ativação do sistema nervoso simpático. As catecolaminas quando se acoplam aos receptores β -adrenérgicos ativam as proteínas G_s que por sua vez estimulam a adenilato ciclase, aumentando os níveis de AMPc. Em seguida a PKA é ativada e fosforila as proteínas que permitem o aumento do Ca^{2+} citosólico como os canais de Ca^{2+} tipo-L, os receptores de rianodina e as proteínas regulatórias da contração, como a Tnl e a fosfolambam que participam do processo de relaxamento do miocárdio (Lohse e cols., 2003).

No presente estudo os grupos de animais infartados com sinais de insuficiência apresentaram a resposta contrátil do VE diminuída quando adicionadas doses crescentes de isoproterenol, o que indica diminuição da resposta β -adrenérgica. Esses achados corroboram com os resultados de outros autores (Warner e cols., 1992; Litwin & Morgan, 1992; Qi & Rouleal, 1996; Saraiva e cols., 2003). No VD do grupo INF a força contrátil estava preservada, semelhante ao ocorrido durante perfusão com solução crescente de cálcio. Já o grupo INF-IC apresentou redução da resposta inotrópica positiva ao isoproterenol.

Tem sido descrito, em corações humanos insuficientes e em modelos experimentais com insuficiência, prejuízo da resposta β -adrenérgica, o que altera a função das proteínas que regulam o transiente de Ca^{2+} (Lefkowitz e cols., 2000; Plank e cols., 2003). Vários fatores envolvidos na sinalização β -adrenérgica contribuem para o prejuízo desta resposta. A diminuição na densidade dos receptores β_1 -adrenérgicos foi primeiramente descrita por Bristow e cols. (1982), os quais atribuíram este fato ao aumento de catecolaminas circulantes no estágio final da IC. Já os receptores β -adrenérgicos remanescentes encontram-se dessensibilizados devido ao aumento da atividade das proteínas quinases o que contribui ainda mais para o desacoplamento desses receptores à proteína G_s em corações insuficientes (Lohse e cols., 2003). Em corações humanos e de cães com IC, há evidências de que o aumento persistente da ativação β -adrenérgica esteja envolvido com maior fosforilação do receptor de rianodina (RyR2), através da PKA,

levando a uma maior probabilidade de efluxo de Ca^{2+} através da abertura dos canais de rianodina (Marx e cols., 2000). Contudo, ainda existe alguma controvérsia se durante a IC, há realmente uma hiperfosforilação destes receptores (Xiao e cols., 2005) e, se de fato, a atividade do receptor RyR2 pode ser modulada pela PKA (Stange e cols., 2003). A ativação dos receptores de rianodina parece estar envolvida na liberação espontânea de Ca^{2+} levando a redução da contratilidade durante a IC (Reiken e cols., 2003). Ai e cols., (2005) demonstraram que em modelos experimentais de IC não isquêmico, a fosforilação do RyR2 está envolvida no aumento da liberação de Ca^{2+} diastólico e na menor liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático o que poderia contribuir para a disfunção contrátil. Obayashi e cols., (2006) demonstraram, em trabéculas de VD, que a fosforilação do receptor RyR2 não é causadora das contrações espontâneas em ratos com IC, sugerindo que outros fatores que não a fosforilação do receptor RyR2 poderiam estar envolvidas na alteração da sua função. Estes autores demonstraram a existência de flutuações no comprimento do sarcômero induzidas por isoproterenol, e que estas não dependiam de maior fosforilação do receptor de rianodina. Estes pesquisadores demonstraram ainda que as flutuações no comprimento do sarcômero em decorrência da ativação de catecolaminas, resultavam em redução da força de contração.

Um dos fatores que modula o relaxamento do miócito é a atividade da SERCA-2a, que promove a recaptção de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático quando a fosfolambam é fosforilada pela PKA (Lohse e cols., 2003). Nos grupos infartados estudados, houve aumento no tempo de relaxamento independente da manifestação de sinais de IC em ambos os ventrículos. Uma das disfunções mais relatadas na IC está relacionada à alteração no mecanismo de acoplamento excitação-contração. Vários trabalhos têm demonstrado redução na expressão da SERCA-2a, proporcional a severidade da IC (Zarain-Herzberg e cols., 1996). Esta disfunção da SERCA-2a, ou mesmo da fosfolambam poderia contribuir para o aumento no tempo de relaxamento após infarto.

O prejuízo da função do VE foi observado nos dois grupos estudados, INF e INF-IC. Segundo Anversa e cols. (1985) os prejuízos contráteis são muito mais evidentes na câmara esquerda quando comparada à câmara direita. Considerando

que as respostas inotrópicas positivas ao cálcio e ao isoproterenol, bem como a potenciação pós-pausa, mantiveram-se preservadas no VD apenas nos animais infartados sem sinais de IC, o que se pode especular é a manutenção da integridade das funções contráteis neste grupo ou até mesmo uma adaptação à injúria do VE.

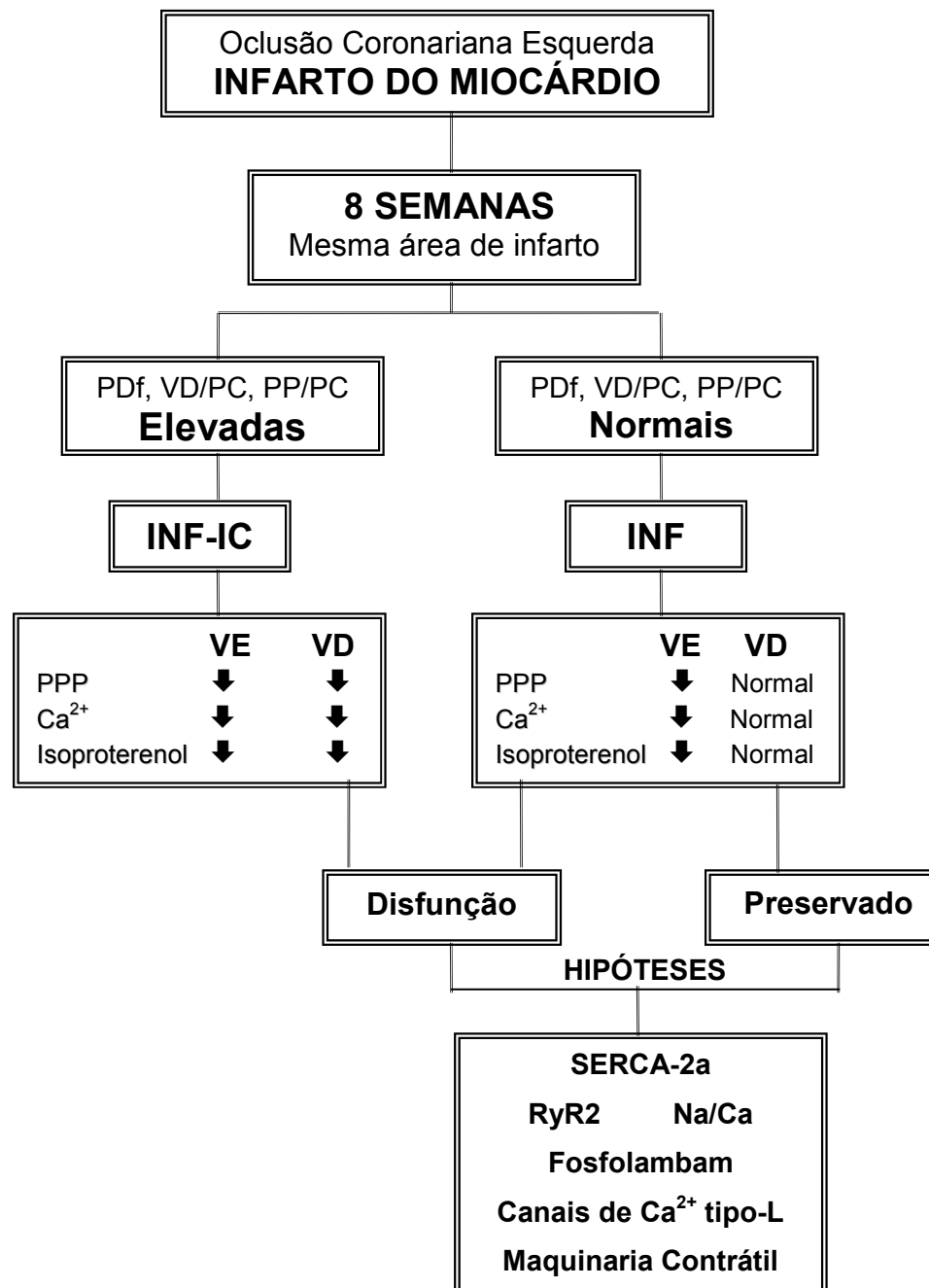


Figura 16: Diagrama dos resultados. Pressão Diastólica final (PDf), razão peso do ventrículo direito e peso corporal (VD/PC), peso do pulmão e peso corporal (PP/PC), infarto sem sinais de insuficiência (INF), infarto com sinais de insuficiência (INF-IC), potenciação pós-pausa (PPP), receptores de rianodina (RyR2).

6 CONCLUSÃO

As respostas contráteis do VD e do VE foram diferentes entre os grupos de animais infartados. O grupo infartado sem sinais de insuficiência cardíaca preservou a contratilidade das tiras do ventrículo direito em resposta ao aumento do Ca^{2+} extracelular e ao isoproterenol. Enquanto, nos animais infartados, com sinais de insuficiência, a contratilidade estava prejudicada. Por outro lado, a contratilidade da câmara ventricular esquerda estava prejudicada em ambos os grupos de animais infartados. Estes dados sugerem a existência de diferentes mecanismos adaptativos na câmara ventricular direita de animais com e sem sinais de insuficiência cardíaca decorrente do infarto do miocárdio.

REFERÊNCIAS

Afzal N & Dhalla NS (1992). Differential changes in left and right ventricular SR calcium transport in congestive heart failure. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **262**: H868-H874.

Ahlers BA, Song J, Wang J, Zhang XQ, Tadros LLCGM, Rothblum LI, Cheung JY (2005). Effects of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase overexpression in postinfarction rat myocytes. *Journal of Applied Physiology* **98** (6): 2169-76.

Ai X, Curran JW, Shannon TR, Bers DM, Pogwizd SM (2005). Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase modulates cardiac ryanodine receptor phosphorylation and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ leak in heart failure. *Circulation Research* **97** (12): 1213-5.

Alpert NR & Gordon MS (1962). Myofibrillar adenosine triphosphatase activity in congestive heart failure. *American Journal of Physiology* **202**: 940-946.

Anderson PAW, Greig A, Mark TM, Malouf NM, Oakeley AE, Ungerleider RM, Allen PD, Kay BK (1995). Molecular basis of human cardiac troponin T isoforms expressed in the developing, adult and failing heart. *Circulation Research* **76**: 681-686.

Anversa P, Beghi C, Kikkawa Y, Olivetti G (1986). Myocardial infarction in rats. Infarct size, myocyte hypertrophy, and capillary growth. *Circulation Research* **58**: 26-37.

Anversa P, Beghi C, McDonald SL, Levicky V, Kikkawa Y, Olivetti G (1984). Morphometry of right ventricular hypertrophy induced by myocardial infarction in the rat. *American Journal of Pathology* **116**: 504-513.

Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G (1985). Left ventricular failure induced by myocardial infarction. I. Myocyte hypertrophy. *American Journal of Physiology and Heart Circulatory Physiology* **248**: H876-H882.

Arai M, Matsui H, Periasamy M (1994). Sarcoplasmic reticulum gene expression in cardiac hypertrophy and heart failure. *Circulation Research* **74**: 555-64.

Barry WH (2000). Na⁺-Ca²⁺ exchange in failing myocardium: friend or foe? *Circulation Research* **87**: 529-531.

Bassani JWM, Bassani RA & Bers DM (1994). Relaxation in rabbit and rat cardiac cells: species-dependent differences in cellular mechanisms. *Journal de Physiologie*. **476**: 279-293

Bassani RA & Bassani JWM (2002). Contribution of Ca²⁺ transporters to relaxation in intact ventricular myocytes from developing rats. *American Journal of Physiology and Circulatory Physiology* **282**: H2406-H2413.

Bassani RA & Bers D (1994). Na-Ca exchange is required for rest-decay but not for rest-potential of twitches in rabbit and rat ventricular myocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **26**: 1335-1347.

Benkusky N, Valdivia HH, Sussman MA (2003). Calcium dynamics in the failing heart: restoration by β -adrenergic receptor blockade. *American Journal of Physiology Heart and Circulation Physiology* **285**: H305–H315.

Bers DM (2000). Calcium fluxes involved in control of cardiac myocyte contraction. *Circulation Research* **87**:257-281.

Bers DM, Bassani JWM, Bassani RA (1993). Competition and redistribution among calcium transport system in rabbit cardiac myocytes. *Cardiovascular Research* **27**: 1772-1777.

Bers DM, Eisner DA, Valdivia HH (2003). Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} and heart failure; roles of diastolic leak and Ca^{2+} transport. *Circulation Research* **93**: 487-490.

Braunwald E & Bristow MR (2000). Congestive heart failure: fifty years of progress. *Circulation* **102**: IV14-IV23

Bristow MR, Ginsburg R, Minobe W, Cubicciotti RS, Sageman WS, Lurie K, Billingham ME, Harrison DC, Stinson EB (1982). Decreased catecholamine sensitivity and beta-adrenergic-receptor density in failing human hearts. *The New England Journal of Medicine* **307**(4): 205-211.

Bristow MR, Ginsburg R, Umans V, Fowler M, Minobe W, Rasmussen R, Zera P, Menlove R, Shah P, Jamieson S (1986). β_1 - and β_2 -adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective β_1 -receptor down-regulation in heart failure. *Circulation Research* **59**: 297-309.

Brodde OE & Michel MC (1999). Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharmacological Reviews* **51**:651–690.

Brown L (2005). Cardiac extracellular matrix: a dynamic entity. *American Journal of Physiology Heart* **289**: 973-974.

Butler J, Chomsky DB, Wilson JR (1999). Pulmonary hypertension and exercise intolerance in patients with heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* **34**:1802– 6.

Buus NH, Kahr O, Mulvany MJ (1999). Effect of short- and long-term heart failure on small artery morphology and endothelial function in the rat. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* **34**: 34-40.

Carabello BA (2002). Concentric versus eccentric remodeling. *Journal of Cardiac Failure* **8** (6): S258-263.

Cazorla O, Szilagyi S, Le Guennec JY, Vassort G, Lacampagne A (2005). Transmural stretch-dependent regulation of contractile properties in rat heart and its alteration after myocardial infarction. *The FASEB Journal* : **19** (1): 88-90.

Cheng H, Lederer WJ, Cannell MB (1993). Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. *Science* **262**: 740-744.

Cleutjens JPM, Creemers EEJM (2002). Integration of concepts: cardiac extracellular matrix remodeling after myocardial infarction. *Journal of Cardiac Failure* **8** (6): S344-S348.

Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, Simon AB, Rector T (1984). Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *The New England Journal of Medicine* **311**: 819-823.

Coleman HN III, Taylor RR, Pool PE, Whipple GH, Covell JW, Ross J Jr., Braunwald E (1971). Congestive heart failure following chronic. *American Heart Journal* **81**: 790-798.

Colucci WS & Braunwald E. Pathophysiology of heart failure. In: Braunwald E, ed. Philadelphia W.B. Saunders: Textbook of Cardiovascular Medicine 1997. p. 394-420.

Davidoff AW, Boyden PA, Schwartz K, Michel JB, Zhang YM, Obayashi M, Crabbe D, Ter Keus HEDJ (2004). Congestive heart failure after myocardial infarction in the rat: cardiac force and spontaneous sarcomere activity. *New York Academy of Sciences* **1015**: 84-95.

de Tombe PP & ter Keurs HE (1991). Lack of effect of isoproterenol on unloaded velocity of sarcomere shortening in rat cardiac trabeculae. *Circulation Research*. **68**:382–391.

de Tombe PP (1998). Altered contractile function in heart failure. *Cardiovascular Research* **37**: 367-380.

de Tombe PP, Wannenburg T, Fan D, Little WC (1996). Right ventricular contractile protein function in rats with left ventricular myocardial infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **271**: H73-H79.

DeFelice A, Frering R, Horan P (1989). Time course of hemodynamic changes in rats with healed severe myocardial infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **257**: H289-H296.

Deschamps AM & Spinale FG (2006) Pathways of matrix metalloproteinase induction in heart failure: bioactive molecules and transcriptional regulation. *Cardiovascular Research* **69**(3):666-76.

Dipolo R & Beaugé L (2006). Sodium/calcium exchanger: influence of metabolic regulation on ion carrier interactions. *Physiological Reviews* **86**: 155-203.

Dorn GW (2002). Adrenergic pathways and left ventricular remodeling. *Journal of Cardiac Failure* **8** (6): S370-S373

Fabiato A, (1985) Simulated calcium current can both cause calcium loading in and trigger calcium release from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine Cardiac Purkinje cell. *The Journal of General Physiology* **85**: 291-320.

Feldman MD, Copelas L, Gwathmey JK, Phillips P, Warren SE, Schoen FJ, Grossman W, Morgan JP (1987). Deficient production of cyclic AMP: pharmacologic evidence of an important cause of contractile dysfunction in patients with end-stage heart failure. *Circulation* **75**: 331-339.

Ferrier RG & Howlett SE (2001). Cardiac excitation contraction coupling: role of membrane potential in regulation of contraction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **280**: H1928–H1944.

Flesch M, Putz F, Schwinger RH, Bohm M (1996). Functional relevance of an enhanced expression of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger in the failing human heart. *Annals of the New York Academy Sciences* **779**: 539-42.

Flesch M, Schwinger RH, Schiffer F, Frank K, Sudkamp M, Kuhn-Regnier F, Arnold G, Bohm M (1996). Evidence for functional relevance of an enhanced expression of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger in failing human myocardium. *Circulation* **94** (5): 992-1002.

Flesch M, Schwinger RH, Schnabel P, Schiffer F, van Gelder I, Bavendiek U, Sudkamp M, Kuhn-Regnier F, Bohm M (1996). Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase and phospholamban mRNA and protein levels in end-stage heart failure due to ischemic or dilated cardiomyopathy. *Journal of Molecular Medicine* **74** (6): 321-32.

Fletcher PJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E (1981). Left ventricular diastolic pressure-volume relation in rats with healed myocardial infarction. Effects on systolic function. *Circulation Research* **49**: 618-626.

Francis GS & Chon JN (1990). Heart failure: mechanisms of cardiac and vascular dysfunction and the rationale for pharmacologic intervention. *FASEB Journal* **4** (13): 3068-75.

Francis J, Weiss RM, Wei SG, Johnson AK, Felder RB (2001). Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. *American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **281**: R1734-R1745.

Gaballa MA & Goldman S (2002). Ventricular remodeling in the heart. *Journal Cardiac Failure* **8** (6): S476-S485.

Geenen DL, Malhotra A, Scheuer J (1989). Regional Variation in rat cardiac myosin isoenzymes and ATPase activity after infarction. *American Journal Physiology* **256**: H745-H750.

Gerdes AM (2002). Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failures. *Journal of cardiac failures* **8** (6): S264-S268

Goldsmith SR & Gheorghide M (2005). Vasopressin antagonism in heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* **46** (10):1785-91.

Gomez AM, Guatimosim S, Dilly KW, Vassort G, Lederer WJ (2001). Heart failure after myocardial infarction: altered excitation-contraction coupling. *Circulation* **104** (6): 688-93.

Grossman W, Jones D, MacLaurin LP (1975). Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *The Journal of Clinical Investigation*; **56**: 56-64.

Gwathmey JK, Copelas L, Mackinnon R, Schoen FJ, Feldman MD, Grossman W, Morgan JP (1987). Abnormal intracellular calcium handling in myocardium from patients with end-stage heart failure. *Circulation Research* **61**:70- 76.

Hajjar RJ, Schwinger RHG, Schmidt U, Kim CS, Lebeche D, Doye AA, Gwathmey JK (2000). Myofilament calcium regulation in human myocardium. *Circulation* **101**: 1679-1685.

Hasenfuss G (1998). Alterations of calcium-regulatory proteins in heart failure. *Cardiovascular Research* **37**: 279- 89.

Hasenfuss G, Meyer M, Schillinger W, Preuss M, Pieske B, Just H (1997). Calcium handling proteins in the failing human heart. *Basic Research in Cardiology* **92**: 87-93.

Hasking GJ, Esler MD, Jennings GL, Burton D, Johns JA, Korner PI (1986). Norepinephrine spillover to plasma in patients with congestive heart failure: evidence of increased overall and cardiorenal sympathetic nervous activity. *Circulation* **73**: 615-621.

Hodsman GP, Kohzuki M, Howes LG, Sumithran E, Tsunoda K, Johnston CI (1988). Neurohumoral responses to chronic myocardial infarction in rats. *Circulation* **78**: 376-381.

Houser SR & Margulies KB (2003). Is depressed myocyte contractility centrally involved in heart failure? *Circulation Research* **92**: 350-358.

Houser SR, Piacentino V, Weisser J (2000). Abnormalities of calcium cycling in the hypertrophied and failing heart. *Journal Molecular Cellular Cardiology* **32**: 1595-1607.

Hove-Madsen, L, Bers DM (1993). Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} uptake and thapsigargin sensitivity in permeabilized rabbit and rat ventricular myocytes. *Circulation Research*. **73**: 820-828

Janicki J, Brower GL (2002). The role of myocardial fibrillar collagen in ventricular remodeling and function. *Journal of Cardiac Failure* **8** (6): S319-S325.

Jasmin JF, Calderone A, Leung TK, Villeneuve L, Dupuis J (2004). Lung structural remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: complete reversal by irbesartan. *Cardiovascular Research* **58**: 621-631.

Jessup M & Brozera S (2003). Heart failure. *The New England Journal of Medicine* **348**: 2007-2018.

Jiang MT, Lokuta AJ, Farrel EF, Wolff MR, Haworth RA, Valdivia HH (2002). Abnormal Ca^{2+} release, but normal ryanodine receptors, in canine and human heart failure. *Circulation Research* **91**: 1015-1022.

Kass DA, Bronzwaer JGF, Paulus WJ (2004). What mechanisms underlie diastolic dysfunction in heart failure? *Circulation Research* **94**: 1533-1542.

Katz AM & Lorell BH (2000). Regulation of cardiac contraction and relaxation. *Circulation* **102**: IV69-IV74.

Katz AM. Excitation-contraction coupling. Calcium and other ion fluxes across the plasma membrane. In: Katz AM, ed. Raven Press: Physiology of the Heart. 2nd ed. New York/New York; 1992. p. 219-242.

Kompa AR, Gu XH, Evans BA, Summers RJ (1999). Desensitization of cardiac β -adrenoceptor signaling with heart failure produced by myocardial infarction in the rat. Evidence for the role of G_i but not G_s or phosphorylating proteins. *Journal Molecular and Cellular Cardiology* **31**:1185–201.

Lefkowitz RJ, Rockman HA, Koch WJ (2000). Catecholamines, cardiac β -adrenergic receptors, and heart failure. *Circulation* **101**:1634-1637.

Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, Simon AB, Rector T (1984) Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *The New England Journal of Medicine* **311**: 819-823.

LeWinter MM, VanBuren P (2002). Myofilament remodeling during the progression of heart failure. *Journal Cardiac Failure* **8** (6): S271-S275.

Li P, Hofmann PA, Li B, Malhotra A, Cheng W, Sonnenblick EH, Meggs LG, Anversa P (1997). Myocardial infarction alters myofilament calcium sensitivity and mechanical behavior of myocytes. *American Journal of Physiology and Heart Circulatory Physiology* **272**: H-360-H370.

Li P, Hofmann PA, Li B, Malhotra A, Cheng W, Sonnenblick EH, Meggs LG, Anversa P (1997). Myocardial infarction alters myofilament calcium sensitivity and mechanical behavior of myocytes. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **272**: H360-H370.

Li Y, Kranias EG, Mignery GA, Bers DM (2002). Protein kinase A phosphorylation of the ryanodine receptor does not affect calcium sparks in mouse ventricular myocytes. *Circulation Research* **90**: 309-316.

Li YY, McTiernan CF, Feldman AM (2000). Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling. *Cardiovascular Research* **46**: 214-224.

Lindemann JP (1991). Contractile protein alterations in heart failure. *Hospital Practice* **26** (12): 47-52.

Litwin SE & Morgan JP (1992). Captopril enhances intracellular calcium handling and β -adrenergic responsiveness of myocardium from rats with postinfarction failure. *Circulation Research* **71**: 797-807.

Litwin SE, Zhang D, Bridge JHB (2000). Dyssynchronous Ca^{2+} sparks in myocytes from infarcted hearts. *Circulation Research* **87**: 1040-1047.

Lohse MJ, Engelhardt S, Eschenhagen T (2003). What is role of β -adrenergic signaling in heart failure? *Circulation Research* **93**: 896-906.

Lowes BD, Minobe W, Abraham WT, Rizeq MN, Bohlmeier TJ, Quaife RA, Roden RL, Dutcher DL, Robertson AD, Voelkel NF, Badesch DB, Groves BM, Gilbert EM, Bristow MR (1997). Changes in gene expression in human heart failure. *Journal of Clinical Investigation* **100**: 2362-2370.

Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y, Jayaraman T, Burkhoff D, Rosembliit N, Marks AR (2000). PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell* **101** (4): 365-76.

Maurice JP, Shah AS, Kypson AP, Hata JA, White DC, Glower KK, Koch WJ (1999). Molecular β -adrenergic signaling abnormalities in failing rabbit hearts after infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **276**: H1853-H1860.

McAuliffe JJ (1990). Changes in myofibrillar activation and troponin-C Ca^{2+} binding associated with troponin T isoform switching in developing rabbit heart. *Circulation Research* **66**: 1204-1216.

McGrath MF, de Bold ML, de Bold AJ. (2005). The endocrine function of the heart. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. **16** (10):469-77.

McGraw DW & Liggett SB (2005). Molecular mechanisms of β_2 -adrenergic receptor function and regulation. *Proceedings of the American Thoracic Society* **2**: 292-296.

Mercadier JJ, Bouveret P, Gorza L, Schiaffino S, Clark WA, Zak R, Swynghedauw B, Schwartz K (1983). *Circulation Research* **53**:52-62.

Milanez MC, Gomes MG, Vassallo DV, Mill JG (1997). Effects of captopril on interstitial collagen in the myocardium after infarction in rats. *Journal Cardiac Failure* **3** (3): 189-97.

Mill JG, Stefanon I, Leite CM, Vassallo DV (1990). Changes in performance surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovascular Research* **24**: 748-453.

Morano I, Hädicke K, Haase H, Böhm, Erdmann E, Schaub M (1997). Changes in essential myosin light chain isoform expression provide a molecular basis of isometric force regulation in the failing human heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **29**: 1177-1187.

Morano I, Ritter O, Bonz A, Timek T, Vahl CF, Michael G (1995). Myosin light chain-actin interaction regulates cardiac contractility. *Circulation Research* **76**: 720-725.

Moss RL, Razumova M, Fitzsimons DP (2004). Myosin crossbridge activation of cardiac thin filaments: implications for myocardial function in health and disease. *Circulation Research* **94**: 1290-1300.

Movsesian MA & Schwinger RHG (1998). Calcium sequestration by the sarcoplasmic reticulum in heart failure. *Cardiovascular Research* **37**: 352-359.

Mueller XM, Tevaeearai H, Boone Y, Augstburger M, Segesser LK (2002). An alternative to left ventricular volume reduction. *Journal Heart Lung Transplant* **21**: 791-796.

Nahrendorf M, Hu K, Fraccarollo D, Hilldr KH, Haase A, Bauer WR, Ertl G (2003). Time course of right ventricular remodeling in rats with experimental myocardial infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **284**:H241-H248.

Nakayama T (2005). The genetic contribution of the natriuretic peptide system to cardiovascular diseases. *Endocrine Journal* **52** (1): 11-21.

National Heart, Lung and Blood Institute, 2003. What is heart failure?

New York Heart Association 1955. Classification for Congestive Heart Failure (CHF).

Noguchi T, Hünlich M, Camp PC, Begin KJ, El-Zaru M, Patten R, Leavitt BJ, Ittleman FP, Alpert N, LeWinter MM, VanBuren P (2004). Thin filament-based modulation of contractile performance in human heart failure. *Circulation* **110**: 982-987.

Obayashi M, Xiao B, Stuyvers BD, Davidoff AW, Mei J, Chen SR, ter Keurs HE (2006). Spontaneous diastolic contractions and phosphorylation of the cardiac ryanodine receptor at serine-2808 in congestive heart failure in rat. *Cardiovascular Research* **69** (1): 140-51.

Olivetti G, Capasso JM, Meegs LG, Sonnenblick EH, Anversa P (1991). Cellular basis of chronic ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Circulation Research* **68**: 856-869.

Packer M (1988.). Neurohormonal interactions and adaptations in congestive heart failure. *Circulation* **77**:721–730.

Palmer B (2005). Thick filament proteins and performance in human heart failure. *Heart Failure Reviews* **10**(3):187-97.

Pereira RB, Sartório CL, Vassallo DV, Stefanon I (2005). Differences in tail vascular bed reactivity in rats with and without heart failure following myocardial infarction. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **312**:1321-1325

Pfeffer JM (2002) Memorial lecture. *Journal of Cardiac Failure* **8**: S248-S252.

Pfeffer JM, Fischer TA, Pfeffer MA (1995). Angiotensin-converting enzyme inhibition and ventricular remodeling after myocardial infarction. *Annual Review of Physiology* **57**: 805-26.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald (1985). Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circulation Research* **57**: 84-95.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Flercher PJ, Braunwald E (1991). Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *American Journal of Physiology heart and Circulatory Physiology* **260**: H1406-H1414.

Pfeffer MA & Braunwald E (1990). Ventricular remodeling after myocardial infarction; experimental observations and clinical implications. *Circulation* **81**: 1161-1172.

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

Pieske B, Kretschmann B, Meyer M, Holubarsch C, Weirich J, Posival H, Minani K, Just H, Hasenfuss G (1995). Alterations in intracellular calcium handling associated with the inverse Force-Frequency Relation in human dilated cardiomyopathy. *Circulation* **92**:1169-1178.

Plank DM, Yatani A, Ritsu H, Witt S, Glascock B, Lalli MJ, Periasamy M, Fiset C, Benkusky N, Valdivia HH, Sussman MA (2003). Calcium dynamics in the failing heart: restoration by β -adrenergic receptor blockade. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **285**: H305-H315.

Pollack GH. The thick filament. In: Pollack GH, ed. Ebner & Sons Publishers: Muscles & Molecules: Uncovering the Principles of Biological Motion. Washington/Seattle; 1990. p. 39-60.

Prunier F, Chen Y, Gellen B, Heimbürger M, Choqueux C, Escoubet B, Michel JB, Mercadier JJ (2005). Left ventricular SERCA-2a gene down-regulation does not parallel ANP gene up-regulation during post-MI remodeling in rats. *The European Journal of Heart Failure* **7**: 739-747.

Qi X & Rouleau JL (1996). Beta-adrenergic responsiveness of papillary muscles in the rat postinfarction model. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **74**: 1166-1170.

Reiken S, Gaburjakova M, Guatimosim S, Gomez AM, D' Armiento J, Burkhoff D, Wang J, Vassort G, Lederer WJ, Marks AR (2003). Protein kinase A phosphorylation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) in normal and failing hearts. *The Journal of Biological Chemistry* **278**: 444-453.

Reinecke H, Studer R, Vetter R, Holtz J, Drexler H (1996). Cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange activity in patients with end-stage heart failure. *Cardiovascular Research* **31**: 48-54.

Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Cardíaca (2002).

Rodeheffer RJ (2002). Epidemiology and screening of asymptomatic left ventricular dysfunction. *Journal of Cardiac Failure* **8** (6): S253-S257.

Ross RS (2002). The extracellular connections: the role of integrins in myocardial remodeling. *Journal of Cardiac Failure* **8** (6): S326-S331.

Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, Izumo S (1993). Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell* **75**: 977-984.

Saraiva RM, Chedid NGB, H Quintero CC, G Díaz LE, Masuda MO (2003). Impaired beta-adrenergic response and decreased L-type calcium current of hypertrophied left ventricular myocytes in postinfarction heart failure. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **36**: 635-648.

Schillinger W, Janssen PM, Emami S, Henderson SA, Ross RS, Teucher N, Zeitz O, Philipson KD, Prestle J & Hasenfuss G (2000). Impaired contractile performance of cultured rabbit ventricular myocytes after adenoviral gene transfer of Na⁺-Ca²⁺ exchanger. *Circulation Research* **87**: 581- 597.

Schwinger RHG, Munch G, Bolck B, et al (1999). Reduced Ca²⁺-sensitivity of SERCA 2a in failing human myocardium due to reduced serine16 phospholamban phosphorylation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **31**: 479- 491.

Selye H, Bajusz E, Grasso S, Mendell P (1960). Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology* **11**: 398-407.

Shamsham F & Mitchell J (2000). Essentials of the diagnosis of heart failure. *American Family Physician* **61** (5): 1319-28.

Shao Q, Ren B, Elimban V, Tappia PS, Takeda N, Dhalla NS (2005). Modification of sarcolemmal Na⁺-K⁺ ATPase and Na⁺-Ca²⁺ exchanger expression in heart failure by blockade of rennin-angiotensin system. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **288** (6): H2637-46.

Shen W, Asai K, Uechi M, et al (1999). Progressive loss of myocardial ATP due to a loss of total purines during the development of heart failure in dogs. *Circulation*.**100**: 2113–2128.

Shubeita HE, McDonough PM, Harris AN, Knowlton KU, Glembotski CC, Brown JH, Chien KR (1990). Endothelin induction of inositol phospholipid hydrolysis, sarcomere assembly, and cardiac gene expression in ventricular myocytes. *The Journal of Biological Chemistry* **265**: 13809-13817.

Sjaastad I, Bokenes J, Swift F, Wasserstrom JA, Sejersted OM (2002). Normal contraction triggered by I_{Ca,L} in ventricular myocytes from rats with postinfarction CHF. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **283**: H1225-H1236.

Sjaastad I, Sejersted OM, Ilebekk A & Bjornerheim R (2000). Echocardiographic criteria for detection of post-infarction congestive heart failure in rats. *Journal of Applied Physiology* **89**: 1445–1454.

Sjaastad I, Wasserstrom A, Sejersted OM (2003). Heart failure - a challenge to our current concepts of excitation-contraction coupling. *Journal of Physiology* **546**: 33-47.

Solaro RJ (1992). Myosin and why hearts fail. *Circulation* **85**:1945–1947.

Solaro RJ, Rarick HM (1998). Troponin and Tropomyosin: Proteins That Switch on and Tune in the Activity of cardiac myofilaments. *Circulation Research*; **83**: 471-480.

Spann JF, Buccino RA, Sonnenblick E H. and Braunwald E (1967). Contractile state of cardiac muscle obtained from cats with experimentally produced ventricular hypertrophy and heart failure. *Circulation Research* **21**: 341-354.

Spinale F (2006). Pathways of matrix metalloproteinase induction in heart failure: Bioactive molecules and transcriptional regulation. *Cardiovascular Research* **69**: 666-676.

Spinale FG (2002). Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart. *Circulation Research* **90**: 520–530.

Spinale FG, Gunasinghe H, Sprunger PD, Baskin JM, Bradaham WC (2002). Extracellular degradative pathways in myocardial remodeling and progression to heart failure. *Journal of Cardiac Failure* **8** (6): S332-S338.

Stange M, Xu L, Balshaw D, Yamaguchi N, Meissner G (2003). Characterization of recombinant skeletal muscle (Ser-2843) and cardiac muscle (Ser-2809) ryanodine receptor phosphorylation mutants. *The Journal of Biological Chemistry* **278** (51): 51693-702.

Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD (2005). Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiology Review* **85**: 1093-1129.

Sutton MGJ, Sharpe N. (2000). Left ventricular remodeling after myocardial infarction; pathophysiology and therapy. *Circulation* **101**: 2981-2988.

The SOLVD Investigators (1992): Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. *The New England Journal of Medicine* **327**: 685-691

Thom T et al (2006). Heart Disease and Stroke Statistics-2006 Update. A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* **113**: 1-67.

Tian R & Ingwall JS (1996). Energetic basis for reduced contractile reserve in isolated rat hearts. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **39**: H1207-H1216.

Tsunoda K, Hodsman GP, Sumithran E, Johnston CI (1986). Atrial natriuretic peptide in chronic heart failure in the rat: a correlation with ventricular dysfunction. *Circulation Research* **59**: 256-261.

Van der Velden J, Merkus D, Klarenbeek BR, James AT, Boontje NM, Dekkers DHW, Stienen GJM, Lamers JMJ, Duncker DJ (2004). Alterations in myofilament function contribute to left ventricular dysfunction in pigs early after myocardial infarction. *Circulation Research* **95** (11): 85-95.

Vanhoutte D, Schellings M, Pinto Y, Heymans S (2006). Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: A temporal and spatial window. *Cardiovascular Research* **69**: 604- 613.

Vassallo DV & Mill JG (1988). Mechanical behavior of rest contractions in cardiac muscle. *Acta Physiologica et Pharmacologica. Latinoamericana*. **38** (1): 87-97.

Vassallo DV (2000). O miocárdio contrátil na insuficiência cardíaca. *Hipertensão* **3**: 126-132.

Vassallo DV, Lima EQ, Campagnaro P, Faria NA, Mill JG (1995). Mechanisms underlying the genesis of post-extrasystolic potentiation in rat cardiac muscle. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **28** (3): 377-83.

Vassallo DV, Lima EQ, Campagnaro P, Stefanon I, Leite CM, Mill JG (1994). Effects of isoproterenol on the mechanical activity of isolated papillary muscles and perfused rat hearts in various calcium concentrations. *Pharmacology Research* **29** (3): 251-60.

Vassallo DV, Mill JG, Costa AL (1982). Contração Cardíaca. I. Bases ultraestruturais e acoplamento excitação-contração. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* **39** (3): 181-187.

Vinge LE, Oie E, Andersson Y, Andersen GO, Attramadal H (2001) Myocardial distribution and regulation of GRK and β -arrestin isoforms in congestive heart failure in rats. *American Journal of Physiology and Heart Circulatory Physiology* **281**: H2490-H2499.

Visse R & Nagase H (2003). Matrix metalloproteinases and tissues inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. *Circulation Research* **92**: 827-839.

Warner AL, Bellah KL, Raya TE, Roeske WR & Goldman S (1992). Effects of β -adrenergic blockade on papillary muscle function and the β -adrenergic receptor system in noninfarcted myocardium in compensated ischemic left ventricular dysfunction. *Circulation*, **86**: 1584-1595.

Wasserstrom JA, Holt E, Sjaastad I, Lunde PK, Odegaard A, Sejersted OM (2000). Altered E-C coupling in rat ventricular myocytes from failing hearts 6 wk after MI. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **279**: H798-H807.

Weber KT (1989). Cardiac interstium in health and disease: the fibrillar collagen network. *American of the Journal College of Cardiology* **13**: 1637-52.

Weber KT, Janicki JS, Shroff SG, Pick R, Chen RM, Bashey RI (1988). Collagen remodeling of the pressure overloaded hypertrophied non-human primate myocardium. *Circulation Research* **62**: 757-65.

William WP (1985). Pathophysiology of congestive heart failure. *American Journal of Cardiology* **55**: 9A-14A.

Wyss M, Smeitink J, Wevers RA (1992). Mitochondrial creatine kinase: a key enzyme of aerobic energy metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta* **1102**:119-166.

Xiao B, Jiang MT, Zhao M, Yang D, Sutherland C, Lai FA, Walsh MP, Wartier DC, Cheng H, Chen SR (2005) Characterization of a novel PKA phosphorylation site, serine-2030, reveals no PKA hyperphosphorylation of the cardiac ryanodine receptor in canine heart failure. *Circulation Research* **96** (8). 847-55.

Yano M, Ikeda Y, Matsuzaki M (2005). Altered intracellular Ca^{2+} handling in heart failure. *The Journal of Clinical Investigation* **115**: 556-564.

Ye Y, Gong G, Ochiai K, Liu J, Zhang J (2001). High-energy phosphate metabolism and creatine kinase in failing hearts: a new porcine model. *Circulation* **103**: 1570-1576.

Yoshiyama M, Takeuchi K, Hanatani A, Kim S, Omura T, Toda I, Teragaki M, Akioka K, ICAO H, Yoshikawa J (1997). Differences in expression of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase and Na^{+} - Ca^{2+} exchanger genes between adjacent and remote noninfarcted myocardium after myocardial infarction. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **29**:255–264.

Zarain-Herzberg A, Afzal N, Elimban V, Dhalla NS (1996). Decreased expression of cardiac sarcoplasmic reticulum $\text{Ca}(2+)$ -pump ATPase in congestive heart failure due to myocardial infarction. *Molecular and Cellular Biochemistry* **163-164**: 285-90.