

## Tolerância ao Esforço em Ratos com Estenose Aórtica e Disfunção Ventricular Diastólica e/ou Sistólica

*Exercise Tolerance in Rats with Aortic Stenosis and Ventricular Diastolic and/or Systolic Dysfunction*

Olga Castro Mendes<sup>1,2</sup>, Mario Mateus Sugizaki<sup>1,3</sup>, Dijon Salomé Campos<sup>1</sup>, Ricardo Luiz Damatto<sup>1</sup>, André Soares Leopoldo<sup>1,4</sup>, Ana Paula Lima-Leopoldo<sup>1,4</sup>, Vilmar Baldissera<sup>5</sup>, Carlos Roberto Padovani<sup>1</sup>, Katashi Okoshi<sup>1</sup>, Antonio Carlos Cicogna<sup>1</sup>

Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina - Universidade Estadual Paulista (UNESP) "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu; Faculdades Integradas de Bauru<sup>2</sup>, Bauru, SP; Instituto de Ciências da Saúde - Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)<sup>3</sup>, Sinop, MT; Departamento de Desportos - Centro de Educação Física e Desportos - Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)<sup>4</sup>, Vitória, ES; Laboratório de Fisiologia do Exercício - Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)<sup>5</sup>, São Carlos, SP, Brasil

### Resumo

**Fundamento:** A Tolerância ao Esforço Físico (TEF) é uma medida de condicionamento cardiorrespiratório. A capacidade aeróbica é reduzida na Insuficiência Cardíaca (IC), embora não haja dados disponíveis sobre esse parâmetro em animais com disfunção ventricular e sem sinais de IC.

**Objetivo:** Avaliar a TEF em ratos com disfunção ventricular diastólica isolada ou associada com disfunção sistólica induzida pela Estenose da Aorta ascendente (EAo).

**Métodos:** Ratos Wistar machos jovens (20-30 dias de idade) foram divididos em Grupo Controle (GC, n = 11) e Grupo EAo (n = 12). Os animais foram avaliados em 6 e 18 semanas após a cirurgia para EAo. O teste ergométrico foi feito até a exaustão e foram avaliadas a velocidade da esteira e a concentração de lactato [LAC] no limiar de lactato, velocidade da esteira e [LAC] na exaustão, e tempo total do teste.

**Resultados:** Dados ecocardiográficos revelaram remodelação do átrio esquerdo e hipertrofia concêntrica ventricular esquerda em 6 e 18 semanas. A fração de encurtamento endocárdico mostrou-se maior no grupo EAo do que no GC em 6 e 18 semanas. A fração de encurtamento da parede média mostrou-se maior no grupo EAo do que no GC em 6 semanas. O índice cardíaco mostrou-se semelhante no GC e no grupo EAo em 6 e 18 semanas, tendo diminuído entre 6-18 semanas em ambos os grupos. A razão entre a onda E e a onda A foi maior no GC do que no grupo EAo em ambos os períodos e não se alterou em ambos os grupos entre a semana 6 e a semana 18. Os parâmetros do teste de esforço na esteira foram semelhantes nos dois grupos tanto na semana 6 quanto na semana 18.

**Conclusão:** Embora a EAo promova a disfunção diastólica isolada ou associada à disfunção sistólica, em 6 ou 18 semanas, ela não é suficiente para alterar a tolerância ao esforço físico. (Arq Bras Cardiol. 2013;100(1):44-51)

**Palavras-chave:** Ratos; Exercício; Estenose da Valva Aórtica; Disfunção Ventricular.

### Abstract

**Background:** Physical stress tolerance (ST) is a measurement of cardiorespiratory fitness. Aerobic capacity is reduced in heart failure (HF) although there is no data available on this parameter in animals with ventricular dysfunction and no signs of HF.

**Objective:** Evaluate ST in rats with ventricular diastolic dysfunction isolated or associated with systolic dysfunction induced by ascending aortic stenosis (AoS).

**Methods:** Young male Wistar rats (20-30 days old), divided in: control group (CG, n=11) and AoSG group, (n=12). Animals were assessed at 6 and 18 weeks after AoS surgery. Treadmill exercise test was until exhaustion and evaluated treadmill speed and lactate concentration [LAC] at lactate threshold, treadmill speed and [LAC] at exhaustion, and total testing time.

**Results:** Echocardiography data revealed remodeling of the left atrium and left ventricular concentric hypertrophy at 6 and 18 weeks. Endocardial fractional shortening was greater in AoSG than CG at 6 and 18 weeks. Midwall fractional shortening was greater in AoSG than in CG only 6 week. Cardiac index was similar in CG and AoSG at 6 and 18 weeks and decreased between from 6 to 18 weeks in both groups. The E wave to A wave ratio was greater in CG than in AoSG at both periods and did not change in both groups between week 6 and 18. Treadmill stress testing parameters were similar in both groups at 6 or 18 weeks.

**Conclusion:** Although AoS promotes isolated diastolic dysfunction or associated with systolic dysfunction at 6 or 18 weeks, it is not sufficient to modify physical stress tolerance. (Arq Bras Cardiol. 2013;100(1):44-51)

**Keywords:** Mice; Exercise; Aortic Valve Stenosis; Ventricular Dysfunction.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Mario Mateus Sugizaki •  
Av. Alexandre Ferronato, 1200 - Setor Industrial - CEP 78550-000 – Sinop, MT, Brasil  
E-mail: mario.ufmt@gmail.com, mario.sugizaki@ig.com.br

Recebido em 25/04/12, revisado em 04/07/12, aceito em 31/07/12.

## Introdução

O termo Remodelação Cardíaca (RC) tem sido amplamente utilizado e pode ser definido como uma alteração na expressão genética resultando em alterações moleculares, celulares e intersticiais que se manifestam clinicamente como alterações no tamanho, forma e função do miocárdio após a agressão<sup>1</sup>.

A RC é um importante mecanismo adaptativo para a carga hemodinâmica crônica que permite que o coração mantenha suas funções básicas em resposta ao aumento de carga<sup>2</sup>, mas é também um fator de risco importante para a disfunção ventricular e insuficiência cardíaca<sup>3</sup>.

Diversos modelos experimentais têm sido propostos para investigar a RC induzida por sobrecarga de pressão<sup>4-6</sup>. Mais recentemente, o modelo de estenose da aorta ascendente (EAO) tem sido usado para promover o desenvolvimento gradual da hipertrofia ventricular esquerda em ratos<sup>7-9</sup>. Nesse modelo, os animais desenvolvem remodelação cardíaca associada, no curto prazo, à disfunção diastólica e melhora da função cardíaca seguida de menor desempenho sistólico e insuficiência cardíaca<sup>10,11</sup>.

O Teste de Esforço Físico (TEF), um dos métodos mais utilizados para a avaliação não invasiva da doença cardiovascular, pode detectar anormalidades da função cardíaca não observáveis em repouso<sup>12,13</sup>. A tolerância ao TEF, uma medida normativa do condicionamento cardiorrespiratório e capacidade aeróbica, é a capacidade de realizar atividades dinâmicas durante o esforço físico. Essa capacidade é comumente reduzida em pacientes e animais com Insuficiência Cardíaca (IC)<sup>14,15</sup>. No entanto, informações sobre pacientes e animais com disfunção ventricular e sem sinais de IC não são encontradas na literatura.

O objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que a tolerância ao esforço físico é prejudicada na presença de disfunção ventricular diastólica isolada ou associada com disfunção sistólica e ausência de insuficiência cardíaca induzida por estenose aórtica.

## Métodos

Todos os experimentos e procedimentos foram realizados de acordo com o Manual sobre cuidados e uso de animais de laboratório publicado pelo Conselho Nacional de Pesquisa (1996), tendo sido aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu — Universidade Estadual Júlio Mesquita Filho (Unesp), em 19 de outubro de 2005 (número do protocolo 506/2005).

### Animais

Vinte e três ratos machos jovens Wistar foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: controle (GC, n = 11) e estenose da aorta ascendente (EAO, n = 12). No grupo EAO, a estenose aórtica foi induzida por meio da colocação de um anel de prata na aorta. O GC sofreu a mesma cirurgia, sem a colocação de faixa. Todos os animais foram alojados em gaiolas individuais numa sala mantida a 23 °C em um ciclo de luz-escurecimento de 12:12-h e alimentados com ração Purina® padrão e água *ad libitum*.

### Indução da estenose da aorta ascendente

A remodelação cardíaca foi induzida pela EAO de acordo com o método usado por diversos autores<sup>5,7,9</sup>. Os animais, pesando 70-90 g, com 20-30 dias de idade, foram submetidos à toracotomia mediana sob anestesia com cloridrato de cetamina (60mg/kg e cloridrato de xilidina (10mg/kg) via intraperitoneal. A aorta ascendente foi dissecada e uma fita de prata com diâmetro interno de 0,6 mm foi colocada a aproximadamente 3 mm da raiz da aorta. Os animais do GC foram submetidos à mesma cirurgia, mas sem a colocação de fita.

De acordo com estudos anteriores, os animais começam a desenvolver disfunção ventricular diastólica isolada ou associada com disfunção sistólica em 6 e 18 semanas após a cirurgia, respectivamente<sup>5,7,9</sup>. Assim, todos os animais foram avaliados nos seguintes períodos: 6 semanas (disfunção diastólica) e 18 semanas (disfunção diastólica associada sistólica).

### Avaliação ecocardiográfica

As funções diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo, bem como a estrutura do miocárdio, foram avaliadas ecocardiograficamente de acordo com o método utilizado no nosso laboratório<sup>7,16</sup>. Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (60mg/kg e cloridrato de xilidina (10mg/kg) via intraperitoneal (50 mg/kg) e cloridrato de xilidina (1 mg/kg) para o exame ecocardiográfico em Modo M (Philips®, modelo HDI 5000), equipado com um transdutor eletrônico de 12 MHz para medir o diâmetro do átrio esquerdo (AE) e os seguintes parâmetros do ventrículo esquerdo: diâmetro diastólico e sistólico (DDVE e DSVE, respectivamente), espessura da parede posterior diastólica e sistólica (EDPVE e ESPVD, respectivamente), espessura do septo interventricular diastólico e sistólico (EDSIV e ESSIV) e massa do ventrículo esquerdo (massa do VE). O índice de massa do ventrículo esquerdo (IMVE) foi determinado através da normalização da massa do VE para o peso corporal (PC). A espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo (ERPVE) foi estimada dividindo a EDPVE pelo DDVE.

A função sistólica do VE foi determinada pela porcentagem de encurtamento endocárdico ( $\Delta D$  endo) e da fração de encurtamento da parede média ( $\Delta D$  mid) e índice cardíaco (IC). A  $\Delta D$  mid foi calculada utilizando a fórmula  $\{[(DDVE + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} EDSIV) - (DSVE + \frac{1}{2} ESPP + \frac{1}{2} ESSIV)] / (DDVE + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} EDSIV)\}$ . A  $\Delta D$  endo foi calculada pela fórmula  $\{[(DDVE - DSVE) / DDVE \times 100]\}$ .

A função diastólica foi avaliada por ondas E e A, a razão entre as ondas E e A (E/A).

### Avaliação da tolerância ao esforço físico

#### Testes de esforço físico

Os testes de esforço físico foram realizados utilizando-se uma esteira para ratos construída pelo Centro Tecnológico de Engenharia Clínica – Universidade Estadual Júlio Mesquita Filho (Unesp) de Botucatu, São Paulo, Brasil. O protocolo utilizado para o teste incremental com multiestágios foi adaptado a partir do teste anteriormente descrito por

Carvalho e cols.<sup>17</sup>. Cada animal foi testado individualmente. O teste consistiu de um aquecimento inicial de 5 minutos a 5m/min. Após 1 minuto de recuperação passiva, o animal foi submetido a um exercício incremental a uma velocidade de 6m/min seguido de aumentos de 3m/min a cada 3 minutos até a exaustão. A exaustão foi determinada quando o animal se recusava a executar, mesmo após estimulação sonora ou quando o animal se mostrava incapaz de coordenar passos. Depois de cada incremento de carga, o animal foi retirado manualmente da esteira por 1 min para a coleta de sangue<sup>18</sup>.

### Protocolo experimental

A Figura 1 mostra a representação esquemática de um protocolo de teste. Todos os ratos foram submetidos a um período de adaptação para se familiarizar com o protocolo de ensaio caminhando diariamente 5 m/min durante uma semana antes do teste. O teste de esforço físico foi realizado 6 e 18 semanas após a cirurgia nos grupos CG e EAo, isto é, pela disfunção diastólica isolada ou associada à disfunção sistólica, respectivamente.

### Parâmetros avaliados

#### Velocidade da esteira (VLL, m/min) e concentração de lactato ( $[LAC]_{LTV}$ , mmol/L) no limiar de lactato

Para a avaliação da VLL e  $[LAC]_{LTV}$  foi necessário determinar o limiar de lactato (LL), definido como a intensidade do exercício em que a concentração de lactato começa a aumentar substancialmente na corrente sanguínea durante o exercício

incremental<sup>19</sup>. As amostras de sangue (25  $\mu$ L) foram coletadas a partir da cauda dos animais em repouso e após cada aumento de carga. A coleta foi realizada com lâminas de vidro para microscopia 25x75x1mm (*Sigma Chemical Company*® — EUA, modelo *Techware S 8902*) e micropipetas digitais de (*Nichiryo Co.*® – Japão, modelo *Nichipet NPX 200*) com pontas descartáveis que foram trocadas depois de cada coleta. O sangue coletado foi imediatamente armazenado em tubos Eppendorf de 1,5 mL com tampa contendo 50  $\mu$ L de fluoreto 1%, anticoagulante e inibidor da enzima enolase para suprimir a atividade glicolítica. As amostras de sangue foram refrigeradas durante a coleta e, em seguida, mantidas em congelador até a sua utilização. A concentração de lactato foi determinada pelo método eletroenzimático usando um lactímetro (*Yellow Springs Instruments*®, 1500 *Sport* – EUA) de propriedade do Laboratório de Fisiologia do Exercício do Departamento de Ciências Fisiológicas – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, Brasil. O aparelho foi calibrado de acordo com as instruções do fabricante. As concentrações de lactato foram plotadas contra a velocidade de fase. O LL foi considerado como o ponto em que os níveis de lactato começaram a se elevar em função da velocidade, conforme detectado por inspeção visual. A velocidade e a concentração de lactato encontradas nesse ponto foram consideradas como a velocidade e a concentração de lactato no limiar de lactato (VLL e  $[LAC]_{LTV}$  respectivamente). Os gráficos foram analisados por dois investigadores experientes com concordância interobservador de 96%. Quando ocorria discordância sobre o LL, utilizou-se a média dos valores indicados por cada observador. A Figura 2 apresenta o gráfico que representa os resultados de um dos animais.

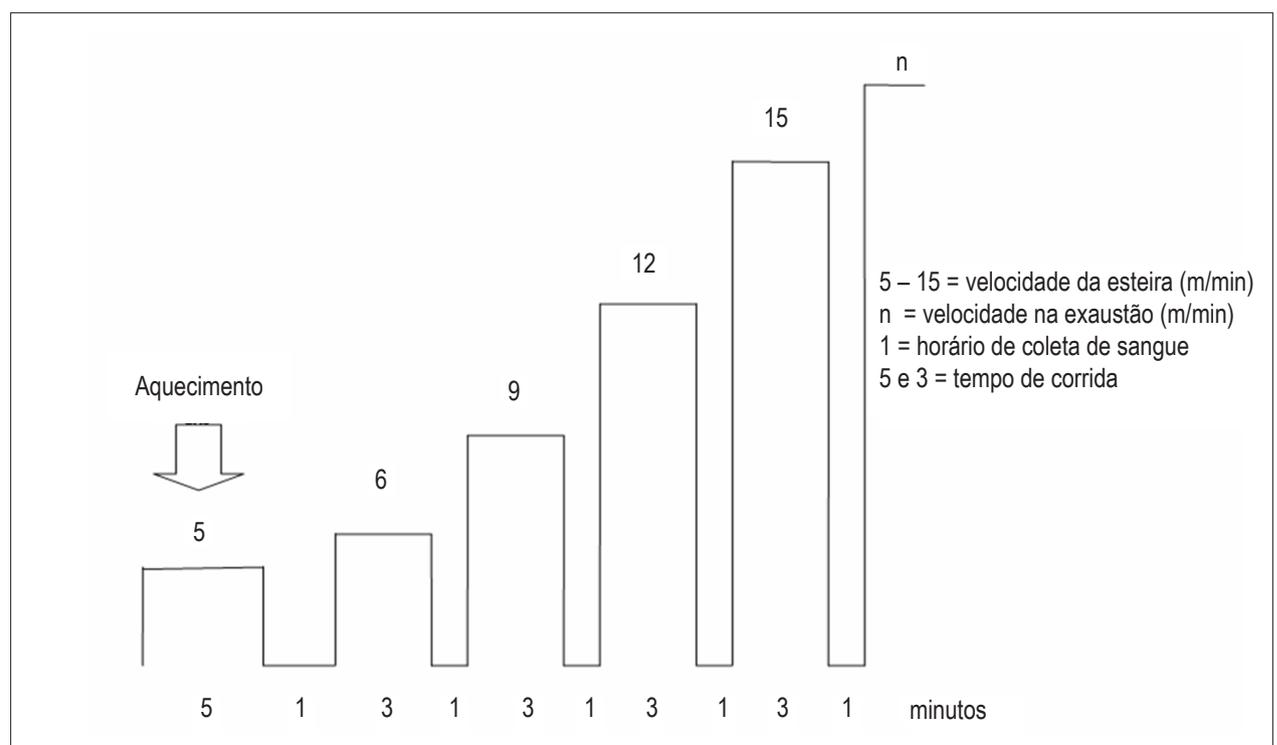


Figura 1 - Representação esquemática do protocolo de teste.

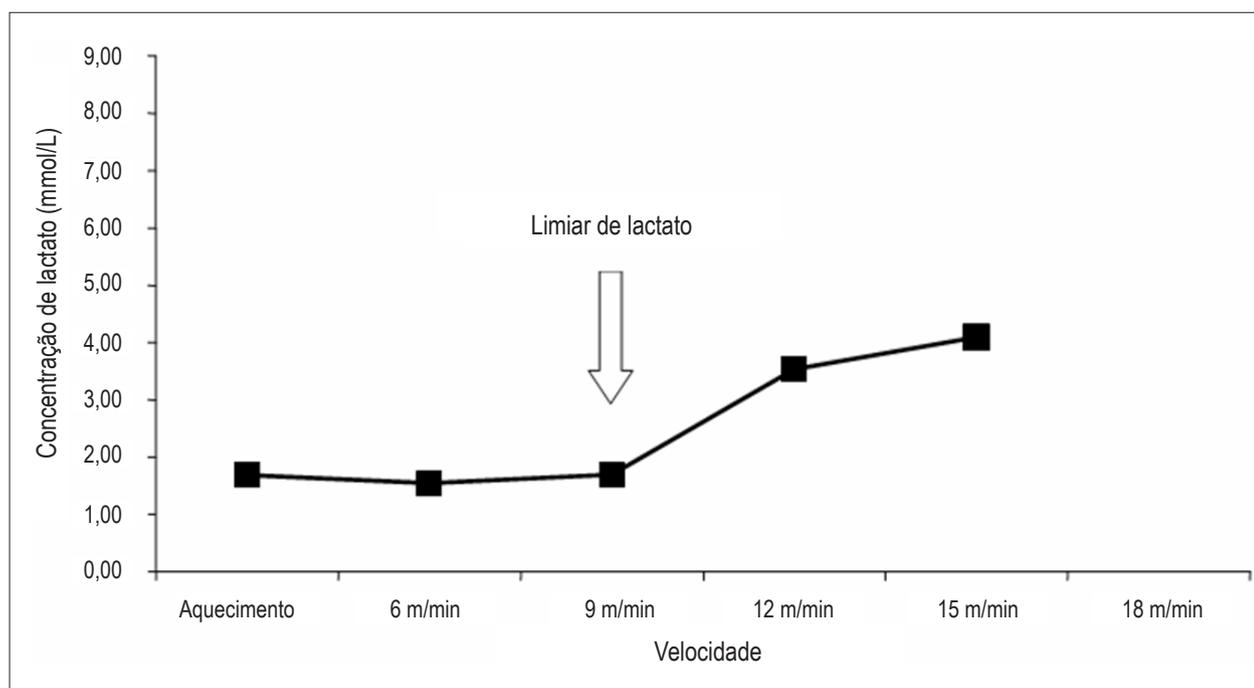


Figura 2 - Concentrações de lactato em razão da velocidade de fase de um animal com estenose aórtica. Foi indicado o ponto em que os níveis de lactato começaram a se elevar (limiar de lactato).

### Velocidade da esteira (VEx, m/min) e concentração de lactato ( $[LAC]_{EX}$ , mmol/L) na exaustão

Esses parâmetros foram determinados como descrito acima, porém até à exaustão.

### Tempo total do teste (TTT, seg)

O TTT foi a soma de todos os tempos de estágio até a exaustão. Os intervalos entre os estágios não foram levados em consideração.

### Características morfológicas do corpo e do miocárdio

Até o fim do experimento, os animais foram anestesiados com pentobarbital de sódio intraperitoneal (50 mg/kg) e decapitados. As seguintes variáveis foram avaliadas: peso corporal final (PC), peso do VE, peso do VD, peso atrial (A) (direito + esquerdo), VE/PC, A/PC. Os fragmentos do fígado (FÍGADO<sub>1/5</sub>) e pulmão (PULMÃO<sub>1/5</sub>) foram pesados antes e depois de terem sido postos em um forno a 60°C por 48 h para se obter a razão peso líquido/peso seco.

### Análise estatística

Os resultados são relatados como medidas de posição e variabilidade de acordo com a distribuição dos dados. Os parâmetros morfológicos foram analisados utilizando o teste *t* de Student, quando a variável demonstrou aderência à distribuição de probabilidade normal, e utilizando o teste de Mann-Whitney, quando da ausência dessa característica. As comparações entre os grupos foram feitas utilizando ANOVA bifatorial de medidas repetidas com repetição

de um fator seguidas do procedimento de comparações múltiplas de Bonferroni. Para parâmetros não paramétricos, foram utilizados o teste de Friedman e ANOVA por postos. O nível de significância para todos os testes foi definido a 5% ( $p < 0,05$ ). Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o programa *SigmaStat 3.5 para Windows* (Copyright© 2006, Systat Software Inc.).

### Resultados

A tabela 1 resume os dados morfológicos. O peso corporal revelou-se similar no grupo controle (GC) e no grupo de estenose da aorta ascendente (EAo). VE/peso corporal, VD/peso corporal e A/peso corporal encontravam-se elevados no grupo EAo em comparação com o GC. Não houve diferença nos fragmentos de FÍGADO<sub>1/5</sub> e PULMÃO<sub>1/5</sub>.

A tabela 2 mostra os dados ecocardiográficos seriais dos parâmetros estruturais e funcionais em 6 e 18 semanas no GC e no grupo EAo. O índice de massa do ventrículo esquerdo diminuiu entre a semana 6 e a semana 18 no GC e permaneceu inalterado no grupo EAo; esse parâmetro se apresentou mais elevado no grupo EAo do que no GC nas semanas 6 e 18. A espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo permaneceu inalterada no GC, mas se apresentou mais elevada na semana 6 e na semana 18 no grupo EAo; essa variável se apresentou mais elevada no grupo EAo do que no GC nas semanas 6 e 18. A razão AE/PC diminuiu em ambos os grupos na semana 18 em comparação com a semana 6, tendo se apresentado mais elevada no grupo EAo do que no GC nos dois tempos avaliados. A fração de encurtamento

Tabela 1 - Dados morfológicos

	GC (n = 11)	Grupo EAo (n = 12)
PC, g	492 ± 69	453 ± 52
VE/PC, mg/g	1,76 ± 0,11	2,69 ± 0,47*
VD/PC, mg/g	0,60 ± 0,09	0,73 ± 0,15*
A/PC, mg/g	0,20 ± 0,03	0,39 ± 0,13*
FÍGADO <sub>ls</sub> †	3,14 ± 0,72	3,23 ± 0,44
PULMÃO <sub>ls</sub>	4,50 ± 0,21	4,47 ± 0,09

Os valores são médias ± DP; GC : grupo controle; EAo : grupo estenose da aorta ascendente; PC : peso corporal final; VE : peso do ventrículo esquerdo; VD : peso do ventrículo direito; A : peso atrial (direito + esquerdo); n : número de ratos; l/s : razão peso líquido/peso seco. Teste t de Student; (†) média ± meia amplitude, Teste U de Mann-Whitney; \*Grupo EAo vs. GC, p < 0,05.

Tabela 2 - Dados ecocardiográficos

	Grupos	PERÍODO DE AVALIAÇÃO	
		6 semanas	18 semanas
FC, batidas/min	GC	311 ± 34	327 ± 66
	EAo	327 ± 46	345 ± 48
IMVE, g/kg	GC	2,62 ± 0,36	2,14 ± 0,32 <sup>#</sup>
	EAo	3,29 ± 0,66*	3,01 ± 0,96*
ERPVE	GC	0,17 ± 0,01	0,19 ± 0,02
	EAo	0,23 ± 0,04*	0,28 ± 0,06**
AE/PC, mm/kg	GC	16,95 ± 2,29	11,83 ± 2,65 <sup>#</sup>
	EAo	20,40 ± 2,92*	14,43 ± 2,95**
ΔD endo, %	GC	48,20 ± 4,17	50,35 ± 3,00
	EAo	61,05 ± 5,04*	55,65 ± 9,20**
ΔD meso, %	GC	29,71 ± 3,51	31,41 ± 2,35
	EAo	37,07 ± 2,64*	31,60 ± 4,75 <sup>#</sup>
IC, ml/min.g <sup>-1</sup>	GC	0,47 ± 0,09	0,38 ± 0,07 <sup>#</sup>
	EAo	0,45 ± 0,11	0,33 ± 0,09 <sup>#</sup>
E/A	GC	1,76 ± 0,16	1,43 ± 0,36
	EAo	1,32 ± 0,30*	1,09 ± 0,54*

Os valores são médias ± DP; GC : grupo controle (n = 11); Grupo EAo : grupo estenose da aorta ascendente (n = 12); D : disfunção diastólica; S : disfunção sistólica; FC : frequência cardíaca; IMVE : índice de massa do ventrículo esquerdo; ERPVE : espessura relativa da parede; AE : átrio esquerdo; ΔD endo e meso : fração de encurtamento da parede média e endocárdica; IC : índice cardíaco; E : velocidade de pico de enchimento ventricular precoce; A : velocidade de pico do fluxo transmitral durante a contração atrial. \* : Grupo EAo vs. GC; #: 18 vs. 6 semanas; ANOVA bifatorial para medidas repetidas, seguida pelo teste de Bonferroni, p < 0,05.

endocárdico (ΔD endo) e da parede média (ΔD meso) não se alterou com o tempo no GC, mas ambas diminuíram entre a semana 6 e 18 no grupo EAo; a ΔD endo foi maior no grupo EAo do que no GC nas semanas 6 e 18; A ΔD meso da parede média apresentou-se maior no grupo EAo do que no GC na semana 6 e similar em ambos os grupos na semana 18. O índice cardíaco diminuiu em ambos os grupos entre a semana 6 e 18, tendo sido semelhante entre os dois grupos nos dois tempos avaliados. E/A mostrou-se semelhante nos dois grupos entre as semanas 6 e 18, no entanto, mostrou-se mais elevado no CG do que no grupo EAo nos dois momentos.

A tabela 3 mostra os resultados da avaliação da tolerância ao esforço físico. Nenhum dos grupos apresentou diferença significativa na velocidade na exaustão, tempo total do teste, velocidade no limiar de lactato, concentrações de lactato na VLL e VEx entre as semanas 6 e 18. Esses parâmetros foram semelhantes entre o GC e EAo em ambos os momentos.

## Discussão

A estenose aórtica utilizada neste estudo promoveu precoce hipertrofia ventricular e do átrio esquerdo, o que persistiu até ao final do experimento. Tal fato foi observado

Tabela 3 - Tolerância ao esforço físico

		PERÍODO DE AVALIAÇÃO	
		6 semanas	18 semanas
VEx <sup>t</sup> , m/min	GC	15,0 ± 3,0	15,0 ± 3,0
	EAO	15,0 ± 1,5	15,0 ± 4,5
TTT, sec	GC	680 ± 151	694 ± 132
	EAO	580 ± 107	609 ± 116
VLL <sup>t</sup> , m/min	GC	9,0 ± 4,5	12,0 ± 4,5
	EAO	9,0 ± 3,0	9,0 ± 4,5
[LAC] <sub>Li</sub> <sup>t</sup> , mmol/L	GC	1,59 ± 0,34	1,71 ± 0,44
	EAO	1,43 ± 0,38	1,50 ± 0,37
[LAC] <sub>Ex</sub> <sup>t</sup> , mmol/L	GC	3,74 ± 1,63	3,70 ± 1,37
	EAO	4,27 ± 1,51	3,89 ± 1,56

Os valores são médias ± DP; GC : grupo controle (n = 11); Grupo EAO : grupo estenose da aorta ascendente (n = 12); D : disfunção diastólica; S : disfunção sistólica; VEx : velocidade de exaustão; TTT : tempo total do teste; VLL : velocidade no limiar de lactato; [LAC]<sub>Li</sub> - concentração de lactato no limiar de lactato; [LAC]<sub>Ex</sub> : concentração de lactato na exaustão. ANOVA bifatorial para medidas repetidas, seguida do teste de Bonferroni, p < 0,05; <sup>t</sup> mediana ± meia amplitude, análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) por postos seguida do teste de Friedman.

por meio da massa atrial e ventricular na análise morfológica e ecocardiográfica. O aumento da espessura relativa da parede ventricular esquerda no grupo da estenose indica hipertrofia concêntrica. Os dados estão de acordo com estudos anteriores que mostraram a remodelação cardíaca nesse modelo experimental<sup>5,9,11,20</sup>. A remodelação da câmara esquerda consiste em uma resposta adaptativa ao aumento da pressão ventricular; o aumento da espessura da parede e diminuição do volume da cavidade normalizam o estresse parietal e, em consequência, a função ventricular esquerda<sup>1,21</sup>. Não foram observados sinais clínicos e morfológicos de insuficiência cardíaca, ou seja, taquipneia associada a edema, ascite, derrame pleuropericárdico, trombose no AE ou hipertrofia do VD. O achado isolado de um aumento da razão VD/PC não indica que os ratos do grupo EAO desenvolveram insuficiência cardíaca, o que foi confirmado pelo fato de que FÍGADO<sub>1/3</sub> e PULMÃO<sub>1/3</sub> mostraram-se semelhantes nos grupos controle e EAO.

A função sistólica do VE, avaliada pela ΔD endo e ΔD meso, mostrou-se elevada no grupo EAO quando comparado com o GC na semana 6, e se deteriorou durante a remodelação no grupo EAO (tab. 2). A ΔD endo observada na semana 6 mostrou-se semelhante à relatada por Bregagnollo e cols.<sup>7,22</sup>, Ribeiro e cols.<sup>11</sup> e Litwin e cols.<sup>9</sup>, que encontraram melhora na função sistólica nesse momento. Além disso, esses autores também observaram piora após 18 ou 21 semanas. A melhora da função sistólica observada no grupo EAO, em comparação com o GC na semana 6 pode estar relacionada com o desenvolvimento de hipertrofia concêntrica, normalização da tensão sistólica da parede, e manutenção do consumo de oxigênio do miocárdio em sua gama fisiológica<sup>9</sup>. A perda progressiva da função sistólica pode estar relacionada com a remodelação adversa da geometria ventricular, alterações na composição do miocárdio, insuficiência progressiva de contratilidade ou com todos esses elementos combinados<sup>22-24</sup>.

Diferentemente da função sistólica, o desempenho diastólico piorou precocemente no grupo EAO em comparação com o GC. Na semana 6, houve uma redução na razão E/A, que se manteve observável na semana 18. A razão E/A no grupo EAO, que se apresentou menor do que no GC, sugere a presença de disfunção diastólica. Nossos resultados diferem do autor<sup>9</sup> que não observou mudanças na razão E/A 6 semanas após a indução de EAO em ratos e investigadores que encontraram aumento da razão E/A nas semanas 12, 18 ou 21 após a indução de EAO<sup>7,9,22</sup>. Resultados conflitantes podem ocorrer devido aos diferentes níveis de hipertrofia ventricular esquerda ou dificuldades técnicas de obtenção de imagens adequadas para a análise do efeito Doppler; a alta frequência cardíaca em ratos funde as ondas E e A, dificultando a medição da função diastólica<sup>25</sup>. Apesar dos resultados inconsistentes encontrados na avaliação da função diastólica usando E/A de 6 semanas, um aumento no diâmetro do AE observado no presente estudo indica disfunção diastólica no VE, tendo em vista que uma melhora na função diastólica foi observada no grupo EAO em comparação com os controles. Durante a diástole ventricular, o AE está diretamente exposto a pressões intraventriculares através da valva mitral. Eventuais aumentos na pressão diastólica ventricular aumentam a pressão atrial e, assim, a remodelação da câmara. Estudos experimentais sobre a EAO têm associado a rigidez do miocárdio com um aumento das fibras de colágeno e alterações nas proteínas envolvidas na captação de cálcio para o meio intracelular, particularmente a bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático<sup>24</sup>. Assim, a depressão da função diastólica observada 6 e 18 semanas após a EAO pode estar relacionada com alterações nas propriedades elásticas e distúrbios no manuseio de cálcio.

Embora os dados ecocardiográficos tenham mostrado alterações funcionais e estruturais nas semanas 6 e 18, o teste de tolerância ao esforço não detectou alteração na

capacidade funcional em ambos os grupos. De acordo com o nosso conhecimento, esta é a primeira pesquisa que avaliou a tolerância ao exercício físico em ratos com estenose da aorta ascendente. O TTT foi o único parâmetro que mostrou uma forte tendência de diminuição em animais com EAo ( $0,05 < p < 0,10$ ). Respostas semelhantes ao esforço podem se dar em virtude de: 1) protocolo inadequado; 2) Parâmetros insensíveis para detectar mudanças na capacidade funcional; e 3) grau de disfunção ventricular. Com relação ao primeiro item, o teste de esforço físico utilizado pode ser considerado adequado pelas seguintes razões: i) métodos semelhantes têm sido utilizados em outros estudos experimentais<sup>17,26</sup>; ii) o teste permite submeter os animais a um programa de esforço físico individualizado; iii) o aumento gradual da carga interrompeu o padrão linear da curva de concentração de lactato e permitiu determinar o nível de LL; iv) não ocorreram óbitos durante o teste ou imediatamente após o teste, o que indica que, embora se trata de um teste máximo, ele pode ser usado no modelo experimental de EAo. Os parâmetros utilizados foram consideradas adequados porque: i) VLL e/ou VEx foram utilizados com sucesso em diversos trabalhos experimentais em ratos normais<sup>17,27,28</sup>, em ratos com estenose aórtica abdominal ou infarto do miocárdio<sup>18,27</sup>; ii) O TTT também tem sido usado para avaliar a capacidade funcional em animais infartados ou hipertensos<sup>26,29</sup>; em pacientes assintomáticos com EAo, foi considerado um bom preditor do aparecimento de sinais de insuficiência cardíaca<sup>30</sup>; iii)  $[LAC]_{LT}$  e  $[LAC]_{EX}$  têm sido utilizados em estudos experimentais em seres humanos como marcador de intensidade de treino físico<sup>28</sup>. Em relação ao item 3, a literatura mostra que o teste de esforço detectou redução da capacidade funcional em animais com disfunção ventricular diastólica induzida por hipertensão arterial<sup>29</sup> ou, mais comumente, com insuficiência cardíaca induzida por infarto do miocárdio<sup>26</sup>. Além disso, relata-se que o teste é negativo em ratos com estenose da aorta abdominal e hipertrofia ventricular compensada<sup>27</sup>, e em um modelo de ratos com hiperadrenalinemia induzida por comprimidos de adrenalina.

Neste estudo, não foram observados sinais de insuficiência cardíaca, muito embora o desempenho diastólico e sistólico estivesse prejudicado na EAo durante a remodelação. Uma vez que a literatura mostra que o teste de esforço é significativamente positivo em animais com insuficiência cardíaca<sup>14,15</sup>, a ausência de alterações observada aqui pode estar relacionada ao grau de disfunção ventricular, provavelmente moderado. Os dados semelhantes de índice cardíaco indicam perfusão do fluxo sanguíneo periférico equivalente entre os grupos. Outra explicação sobre a ausência de diferença entre os grupos pode estar relacionada à velocidade de exaustão dos ratos controle. O protocolo de teste de esforço físico mostrou baixos valores de velocidade de exaustão (15 m/min) e velocidade no limiar de lactato (9,0 m/min) em ratos controle.

De acordo com a literatura, seriam esperados valores mais elevados desses parâmetros. Ferreira e cols.<sup>31</sup> observaram a velocidade na exaustão de 28 m/min e velocidade no limiar de lactato de 15 m/min em ratos que não se

submeteram a testes de esforço físico. Carvalho e cols.<sup>17</sup> observaram a velocidade na exaustão de 19,5 m/min e velocidade no limiar de lactato de 14,9 m/min em ratos que não se submeteram a testes de esforço físico. Apesar dos dados controversos, a concentração de lactato no momento da exaustão observada por nós foi semelhante a 18 m/min à velocidade observada por Ferreira e cols.<sup>31</sup> e na velocidade de exaustão (19,5 m/min) observada por Carvalho e cols.<sup>17</sup>. Portanto, isso significa que os nossos ratos atingiram esforço máximo ou chegaram perto do esforço máximo durante o teste ergométrico.

Os mecanismos responsáveis pela redução da capacidade de exercício ainda não foram completamente elucidados. Dentre os possíveis fatores, podemos citar o fluxo insuficiente para o músculo esquelético secundário à disfunção sistólica e/ou diastólica e alterações no metabolismo da musculatura periférica<sup>29</sup>. Uma vez que a resposta ao esforço físico permaneceu inalterada durante os testes incrementais, os fatores mencionados acima ou estavam ausentes ou de magnitude insuficiente nos ratos com EAo avaliados neste estudo.

Algumas limitações sobre essa pesquisa devem ser citadas: 1) Teste de exercício físico máximo em ratos com hipertrofia ventricular podem ser perigosos devido ao risco de óbito, portanto, nossos ratos podem ter realizado esforço submáximo durante o teste; 2) Falta de parâmetros funcionais que estimam a intensidade do exercício durante o teste físico (ou seja, frequência cardíaca, pressão arterial, consumo de oxigênio); 3) Falta de dados da literatura sobre o tempo, corrida de velocidade, lactato em condições experimentais similares.

Em conclusão, não houve alterações na tolerância ao esforço físico na presença de disfunção diastólica isolada ou associada à disfunção sistólica. O grau de disfunção ventricular esquerda parece ser o principal determinante sobre os resultados do presente estudo. São necessários estudos adicionais, incluindo animais com disfunção ventricular maior ou insuficiência cardíaca, bem como a análise dos mecanismos que podem alterar a relação de tolerância ao esforço/remodelação cardíaca.

#### Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

#### Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

#### Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de mestrado de Olga de Castro Mendes da Silva pela Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

## Referências

1. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35(3):569-82.
2. Berenji K, Drazner MH, Rothmel BA, Hill JA. Does load-induced ventricular hypertrophy progress to systolic heart failure? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(1):H8-H16.
3. Kaplan NM. Systemic hypertension: mechanisms and diagnosis. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P (eds.). *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders Company; 2001. p. 941-1071.
4. Okoshi MP, Matsubara LS, Franco M, Cicogna AC, Matsubara BB. Myocyte necrosis is the basis for fibrosis in renovascular hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res*. 1997;30(9):1135-44.
5. Weinberg EO, Schoen FJ, George D, Kagaya Y, Douglas PS, Litwin SE, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure with pressure overload hypertrophy due ascending aortic stenosis. *Circulation*. 1994;90(3):1410-22.
6. Rossi MA, Peres LC. Effect of captopril on the prevention and regression of myocardial cell hypertrophy and interstitial fibrosis in pressure overload cardiac hypertrophy. *Am Heart J*. 1992;124(3):700-9.
7. Bregagnollo EA, Okoshi K, Bregagnollo IF, Okoshi MP, Padovani CR, Cicogna AC. [Effects of the prolonged inhibition of the angiotensin-converting enzyme on the morphological and functional characteristics of left ventricular hypertrophy in rats with persistent pressure overload]. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84(3):225-32.
8. Schunkert H, Orzechowski HD, Bocker W, Meier R, Riegger GA, Paul M. The cardiac endothelin system in established pressure overload left ventricular hypertrophy. *J Mol Med (Berl)*. 1999;77(8):623-30.
9. Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure overload hypertrophy chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation*. 1995;91(10):2642-54.
10. Moreira VO, de Castro AV, Yaegaschi MY, Cicogna AC, Okoshi MP, Pereira CA, et al. [Echocardiographic criteria for the definition of ventricular dysfunction severity in aortic banded rats]. *Arq Bras Cardiol*. 2006;86(6):432-8.
11. Ribeiro HB, Okoshi K, Cicogna AC, Bregagnollo EA, Rodrigues MA, Padovani CR, et al. Follow-up study of morphology and cardiac function in rats undergoing induction of supravalvular aortic stenosis. *Arq Bras Cardiol*. 2003;81(6):569-75.
12. Chalela WA, Moffa PJ. Teste ergométrico. In: Negrão CE, Barreto AC. (eds). *Cardiologia do exercício - do atleta ao cardiopata*. São Paulo: Barueri; 2005. p. 92-126.
13. Sullivan MJ, Hawthorne MH. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure. *Prog Cardiovasc Dis*. 1995;38(1):1-22.
14. Kitzman DW, Little WC, Brubaker PH, Anderson RT, Hundley WC, Marburger CT, et al. Pathophysiological characterization of isolated diastolic heart failure in comparison to systolic heart failure. *JAMA*. 2002;288(17):2144-50.
15. Kitzman DW. Exercise intolerance. *Prog Cardiovasc Dis*. 2005;47(6):367-79.
16. de Paiva SA, Zornoff LA, Okoshi MP, Okoshi K, Matsubara LS, Matsubara BB, et al. Ventricular remodeling induced by retinoic acid supplementation in adult rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;284(6):H2242-6.
17. Carvalho JF, Masuda MO, Pompeu FA. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2005;140(4):409-13.
18. Bech OM, Sorensen JD, Jensen MK, Diamant B, Steiness E. Effects of long-term Coenzyme Q<sub>10</sub> and captopril treatment on survival and functional capacity in rats with experimentally induced heart infarction. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990;255(1):346-50.
19. Svedahl K, MacIntosh BR. Anaerobic threshold: the concept and methods of measurement. *Can J Appl Physiol*. 2003;28(2):299-323.
20. Okoshi K, Ribeiro HB, Okoshi MP, Matsubara BB, Gonçalves G, Barros R, et al. Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy. *Jpn Heart J*. 2004;45(4):647-56.
21. Litwin SE, Raya TE, Anderson PG, Litwin CM, Breezier R, Goldman S. Induction of myocardial hypertrophy following coronary ligation in rats decreases left ventricular dilatation and improves systolic function. *Circulation*. 1991;84(4):1819-27.
22. Bregagnollo EA, Mestrinel MA, Okoshi K, Carvalho FC, Bregagnollo IF, Padovani CR, et al. Relative role of left ventricular geometric remodeling and of morphological and functional myocardial remodeling in the transition from compensated hypertrophy to heart failure in rats with supravalvular aortic stenosis. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88(2):225-33.
23. Boluyt MO, O'Neill L, Meredith AL, Bing OH, Brooks WW, Conrad CH, et al. Alterations in cardiac gene expression during the transition from stable hypertrophy to heart failure: marked upregulation of genes encoding extracellular matrix components. *Circ Res*. 1994;75(1):23-32.
24. Boluyt MO, Robinson KG, Meredith AL, Sen S, Lakatta EG, Crow MT, et al. Heart failure after long-term supravalvular aortic constriction in rats. *Am J Hypertens*. 2005;18(2 Pt 1):202-12.
25. Pritchett AM, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Rodeheffer RJ, Bailey KR, Redfield MM. Left atrial volume as an index of left atrial size: a population-based study. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(6):1036-43.
26. Bayat H, Swaney JS, Ander AN, Dalton N, Kennedy BP, Hammond HK, et al. Progressive heart failure after myocardial infarction in mice. *Basic Res Cardiol*. 2002;97(3):206-13.
27. Morris GS, Fitzsimons DP, Baldwin KM, Barbard RJ. Exercise capacity of rats remains unaffected by a chronic pressure overload. *Cardiovasc Res*. 1993;27(7):1346-9.
28. Contarteze RV, Manchado Fde B, Gobatto CA, De Mello MA. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2008;151(3):415-22.
29. Guazzi M, Brenner DA, Apstein CS, Saupe KW. Exercise intolerance in rats with hypertensive heart disease is associated with impaired diastolic relaxation. *Hypertension*. 2001;37(2):204-8.
30. Das P, Rimington H, Chambers J. Exercise testing to stratify risk in aortic stenosis. *Eur Heart J*. 2005;26(13):1309-13.
31. Ferreira JC, Rolim NP, Bartholomeu JB, Gobatto CA, Kokubun E, Brum PC. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007;34(8):760-5.