

RAQUEL DE ASSIS SIRVENTE

**Avaliação da função ventricular sistólica e diastólica pelo  
ecocardiograma transesofágico e da capacidade funcional em ratos  
espontaneamente hipertensos submetidos à desnervação sino-aórtica**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina  
da Universidade São Paulo para obtenção  
do título de doutora em Ciências.

Programa de Cardiologia  
Orientadora: Profa. Dra. Vera Maria Cury  
Salemi

São Paulo

2011

**RAQUEL DE ASSIS SIRVENTE**

**Avaliação da função ventricular sistólica e diastólica pelo  
ecocardiograma transesofágico e da capacidade funcional em ratos  
espontaneamente hipertensos submetidos à desnervação sino-aórtica**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina  
da Universidade São Paulo para obtenção  
do título de doutora em Ciências.

Programa de Cardiologia  
Orientadora: Profa. Dra. Vera Maria Cury  
Salemi

São Paulo

2011

## Ficha catalográfica

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Sirvente, Raquel de Assis

Avaliação da função ventricular sistólica e diastólica pelo ecocardiograma transesofágico e da capacidade funcional em ratos espontaneamente hipertensos submetidos à desnervação sino-aórtica / Raquel de Assis Sirvente. -- São Paulo, 2011. Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Cardiologia.

Orientadora: Vera Maria Cury Salemi.

Descritores: 1.Ecocardiografia transesofagiana 2.Ecocardiografia 3.Função ventricular 4.Hipertensão pulmonar 5.Denervação autônoma 6.Hipertensão 7.Barorreflexo 8.Ratos espontaneamente hipertensivos 9.Ratos 10.Cateterismo cardíaco 11.Teste de esforço

# RAQUEL DE ASSIS SIRVENTE

**Avaliação da função ventricular sistólica e diastólica pelo  
ecocardiograma transesofágico e da capacidade funcional em ratos  
espontaneamente hipertensos submetidos à desnervação sino-aórtica**

Presidente da Banca:

Prof Dr \_\_\_\_\_

## BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## Dedicatória

*Dedico a minha tese à minha mãe Rita e ao meu pai João.*

## **Agradecimentos**

---

## **Agradecimentos**

*À Profa. Dra. Vera Maria Cury Salemi,*

*agradeço muito pela a oportunidade de realizar esta tese. Obrigada pelo apoio, incentivo e ensinamentos nestes anos, nunca esquecerei a sua dedicação e a sua amizade.*

*À Profa. Dra. Maria Cláudia Irigoyen,*

*que abriu as portas para que tudo isso se tornasse realidade. Agradeço pelos conhecimentos compartilhados durante este estudo, pelo empenho e pela amizade.*

*Agradeço a minha família pelo incentivo e apoio, seus estímulos sempre me ajudaram a seguir em frente.*

*Ao Rafael, meu amor, agradeço por ter me confortado e estado ao meu lado em todos os momentos, sempre me fortalecendo e incentivando.*

*Aos amigos, alunos e funcionários do laboratório de hipertensão experimental, que estavam sempre dispostos a ensinar e a ajudar. Agradeço muito ao Leandro, ao Cristiano, a Raquel, a Ivana, a Georgia, a Pamella, a Iris, ao Fernando e ao Dudu. Também agradeço a Edna, que me apresentou ao laboratório.*

*Ao programa de pós-graduação de cardiologia da FMUSP, agradeço a Neusa, a Eva e a Juliana; também agradeço aos professores das disciplinas que cursei, pois ajudaram no ganho do meu conhecimento.*

## Sumário

---

## Sumário

	Lista de abreviaturas	
	Lista de figuras	
	Lista de tabelas	
	Resumo	
	Abstract	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1	Hipertensão Arterial Sistêmica e as Alterações no Controle Reflexo da Pressão Arterial.....	2
1.2	Barorreceptores arteriais.....	6
1.3	Hipertensão, Hipertrofia Cardíaca e Desnervação Sino-Aórtica.....	9
1.4	O uso do Ecocardiograma como Ferramenta e Avaliação de Função e da Estrutura cardíacas in vivo.....	13
1.4.1	Ecocardiograma Transtorácico.....	13
1.4.2	Ecocardiograma Transesofágico.....	15
1.5	Teste de Esforço Máximo como Marcador da Capacidade Funcional.....	16
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
3.1	Grupos Experimentais.....	22
3.2	Desnervação Sinoaórtica.....	23
3.3	Avaliação Ecocardiográfica.....	25
3.3.1	Ecocardiográfica Transesofágica.....	25
3.3.1.1	Avaliação dos volumes e fração de ejeção do ventrículo direito.....	27
3.3.1.2	Avaliação da função diastólica biventricular.....	27
3.3.1.2.1	Ventrículo esquerdo.....	27
3.3.1.2.2	Ventrículo direito.....	28
3.3.1.3	Avaliação da função sistólica e diastólica segmentar pelo Doppler tecidual.....	28
3.3.1.3.1	Anel mitral.....	28
3.3.1.3.2	Anel tricúspide.....	29
3.3.1.3.3	Avaliação da função cardíaca global obtida pelo índice de desempenho miocárdico ou índice de Tei.....	29
3.3.1.3.4	Obtido pelo Doppler pulsado.....	29
3.3.1.3.5	Obtido pelo Doppler tecidual.....	30
3.3.1.4	Estimativa do fluxo da via de saída do ventrículo direito.....	30

3.3.2	Ecocardiográfica Transtorácica.....	31
3.4	Avaliação da Capacidade de Esforço.....	32
3.5	Avaliações Hemodinâmicas Sistêmicas.....	33
3.5.1	Canulação.....	33
3.5.2	Registro de Pressão Arterial.....	35
3.5.3	Avaliação da Sensibilidade dos Barorreceptores.....	35
3.5.4	Avaliação da Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial.....	37
3.5.5	Canulação e Registro da Pressão Ventricular Esquerda e Direita.....	38
3.6	Eutanásia.....	38
3.7	Análise Estatística.....	39
4	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
4.1	Efeitos da desnervação sino-aórtica crônica em ratos Wistar e em ratos espontaneamente hipertensos.....	41
4.1.1	Peso corporal.....	41
4.1.2	Capacidade Funcional.....	42
4.2	Análises Ecocardiográficas.....	43
4.2.1	Ecocardiograma transesofágico.....	43
4.2.1.1	Análises dos volumes e fração de ejeção do ventrículo direito pelo ecocardiograma transesofágico.....	43
4.2.1.2	Análise da função diastólica biventricular.....	44
4.2.1.3	Análise da função sistólica e diastólica segmentar biventricular.....	46
4.2.1.4	Análise da função global ventricular.....	47
4.2.1.5	Análise do fluxo da via de saída do ventrículo direito pelo ecocardiograma transesofágico.....	48
4.2.2	Ecocardiograma transtorácico.....	49
4.2.2.1	Análise da morfologia e função cardíaca do ventrículo e átrio esquerdos.....	49
4.2.2.2	Análise do fluxo da via de saída do ventrículo direito pelo ecocardiograma transtorácico.....	51
4.3	Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	51
4.4	Sensibilidade Barorreflexa e Modulação Autonômica Cardiovascular.....	52
4.5	Medidas Invasivas de Pressão Diastólica Ventricular Esquerda e Direita.....	54
4.6	Relações entre Variáveis.....	55
4.6.1	Volume ventricular e pressão diastólica ventricular.....	55
4.6.2	Tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito e pressão diastólica ventricular direita.....	56
4.6.3	Massa ventricular esquerda e o volume diastólico ventricular direito.....	57

4.6.4	Tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito.....	57
5	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
5.1	Considerações finais.....	68
5.2	Limitações do estudo.....	69
6	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>70</b>
7	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>71</b>

## **Lista de abreviaturas**

---

## Lista de abreviaturas

HAS : hipertensão arterial sistêmica

SNA: sistema nervoso autônomo

PA : pressão arterial

DAS: desnervação sino-aórtica

ATRAMI: Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction

VE: ventrículo esquerdo

VPA: variabilidade da pressão arterial

FC: frequência cardíaca

SHR: ratos espontaneamente hipertensos

VD: ventrículo direito

ETT: ecocardiograma transtorácico

ETE: ecocardiograma transesofágico

TE: teste de exercício

VO<sub>2</sub>max: consumo máximo de oxigênio

W: ratos Wistar

GW: grupo Wistar

GWDSA: grupo Wistar com desnervação sino-aórtica

GSHR: grupo SHR

GSHRDSA: grupo SHR com desnervação sino-aórtica

onda E: velocidades máximas do enchimento ventricular precoce

onda A: velocidades máximas do enchimento ventricular tardio

E/A = relação entre pico de velocidades das ondas E e A obtidas no fluxo de entrada do ventrículo avaliado

TD = tempo de desaceleração da onda E

TRIV = tempo de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo

FEAE = fração de enchimento atrial esquerdo

FEAD = fração de enchimento atrial direito

FE VD = fração de ejeção do ventrículo direito

S' = pico de velocidade da onda sistólica obtida pelo Doppler tecidual

E' = pico de velocidade da onda diastólica precoce obtida pelo Doppler tecidual

A' = pico de velocidade da onda diastólica tardia obtida pelo Doppler tecidual

E'/A' = relação entre pico de velocidades das ondas E' e A'

IDM = Índice de desempenho miocárdica

TAc = Tempo de aceleração da artéria pulmonar

TT = via de saída do VD, tempo em que a valva fica aberta  
DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo  
DSVE = diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo  
Septo = espessura diastólica do septo interventricular  
PP = espessura diastólica da parede posterior do ventrículo esquerdo  
FS = fração de encurtamento  
DC = débito cardíaco  
MVE = massa do ventrículo esquerdo  
ERP = espessura relativa da parede  
Ao = diâmetro da aorta  
AE = diâmetro do átrio esquerdo  
PDF VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo  
PDF VD = pressão diastólica final do ventrículo direito  
GMP cíclico: 3', 5'-guanosina monofosfato  
PI = intervalo de pulso  
SD PI= desvio padrão do intervalo de pulso  
PAS = pressão arterial sistólica  
SD PAS= desvio padrão da pressão arterial sistólica  
VARRR = variância do intervalo de pulso  
LF ( $ms^2$ )= componente de baixo freqüência do intervalo de pulso  
HF ( $ms^2$ ) = componente de alta freqüência do intervalo de pulso  
LF (%)= componente de baixo freqüência do intervalo de pulso normalizado  
HF (%)= componente de alta freqüência do intervalo de pulso normalizado  
VARPAS = variabilidade da pressão arterial sistólica  
LF ( $mmHg^2$ ) = componente de baixo freqüência da pressão arterial sistólica  
IBR = índice de bradicardia reflexa  
ITR = índice de taquicardia reflexa  
FFT: transformada rápida de Fourier  
RMSSD: intervalos R-R adjacentes  
VLF: componente de muito baixa freqüência  
PDF: pressão diastólica final  
DP: desvio padrão  
ANOVA: teste de análise de variância  
VSVD: via de saída do VD

## **Lista de figuras**

---

## Lista de figuras

<b>Figura 1</b>	Determinantes primários da pressão arterial, débito cardíaco e resistência periférica, e interação dos mecanismos responsáveis pela sua manutenção em níveis ideais, a curto e longo prazo. Diante de anormalidades em um ou mais desses fatores, bem como influências ambientais e genéticas, instala-se a hipertensão arterial sistêmica primária.....	3
<b>3Figura 2</b>	Visão do feixe vaso - nervoso, após afastamento da musculatura do pescoço.....	24
<b>Figura 3</b>	Inervação na região da bifurcação da carótida. A: localização do nervo laringeo superior; B: detalhe da inervação do corpo carotídeo e dos pressorreceptores carotídeos.....	24
<b>Figura 4</b>	Ecocardiograma transesofágico de rato espontaneamente hipertenso mostrando valva tricúspide, ventrículo direito (VD) e via de saída de ventrículo direito (VSVD).	26
<b>Figura 5</b>	Ecocardiograma transesofágico: A) fluxo tricúspide com inversão E/A, B) Doppler tecidual da região lateral do anel tricúspide com E' menor que A', e C) fluxo da via da saída do ventrículo direito (VSVD).	26
<b>Figura 6</b>	Esquema mostrando a realização do teste de esforço.....	33
<b>Figura 7</b>	Esquema da canulação da artéria e veia femoral em posição anátomo-cirúrgica.....	34
<b>Figura 8</b>	Registro demonstrativo da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após a administração de drogas vasoativas.....	36
<b>Figura 9</b>	Velocidade máxima obtida no teste de esforço máximo.....	42
<b>Figura 10</b>	Fração de ejeção do ventrículo direito no quatro grupos de animais.....	44
<b>Figura 11</b>	Pico de velocidade da onda S' da parede lateral do ventrículo direito obtida pelo Doppler tecidual.....	47
<b>Figura 12</b>	Tempo de aceleração da artéria pulmonar nos quatro grupos de animais.....	49
<b>Figura 13</b>	Massa ventricular esquerda/peso e espessura relativa de parede nos quatro grupos.....	51
<b>Figura 14</b>	Sensibilidade barorreflexa: respostas bradicárdica e taquicárdica à infusão de drogas vaso ativas nos grupos.....	54
<b>Figura 15</b>	Pressões diastólicas finais biventriculares nos quatro grupos de animais.....	55
<b>Figura 16</b>	Correlação entre o volume diastólico ventricular direito e pressão diastólica final ventricular direita.....	56
<b>Figura 17</b>	Correlação entre o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito e pressão diastólica final ventricular direita.....	56
<b>Figura 18</b>	Correlação entre a massa ventricular esquerda e o volume diastólico ventricular direito.....	57
<b>Figura 19</b>	Correlação entre o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito obtido pelo ecocardiograma transtorácico com o transesofágico.....	58

**Lista de tabelas**

---

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1</b>	Peso corporal inicial e final dos grupos normotensos e hipertensos.....	41
<b>Tabela 2</b>	Análise do volume e fração de ejeção do ventrículo direito.....	43
<b>Tabela 3</b>	Análise da função diastólica biventricular pelo ecocardiograma transesofágico.....	45
<b>Tabela 4</b>	Avaliação da função sistólica e diastólica segmentar pelo Doppler Tecidual.....	46
<b>Tabela 5</b>	Função Cardíaca Global: Índice de desempenho miocárdica.....	48
<b>Tabela 6</b>	Avaliação do fluxo de via de saída do ventrículo direito.....	49
<b>Tabela 7</b>	Morfologia e função cardíaca do ventrículo e átrio esquerdos.....	50
<b>Tabela 8</b>	Avaliação do fluxo de via de saída do ventrículo direito.....	51
<b>Tabela 9</b>	Pressão arterial, frequência cardíaca, sensibilidade barorreflexa e modulação autonômica cardiovascular dos grupos normotensos e hipertensos.....	53
<b>Tabela 10</b>	Pressões diastólicas finais biventriculares.....	55

**Resumo**

---

## Resumo

Sirvente RA. *Avaliação da função ventricular sistólica e diastólica pelo ecocardiograma transesofágico e da capacidade funcional em ratos espontaneamente hipertensos submetidos à desnervação sino-aórtica* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

**INTRODUÇÃO:** Durante o desenvolvimento da hipertensão arterial sistêmica (HAS) ocorre a hiperatividade simpática, que está relacionada ao comprometimento dos sistemas baro e quimiorreflexo arteriais e disfunção ventricular esquerda (VE). Entretanto, a função ventricular direita (VD) tem sido pouco avaliada no contexto da HAS associada à desnervação sino-aórtica (DSA). **OBJETIVO:** Avaliar a função biventricular de forma não-invasiva e invasiva, a capacidade funcional, a sensibilidade barorreflexa e o controle autonômico cardiovascular em ratos Wistar (W) e ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos ou não à DSA. **MÉTODOS:** Após 10 semanas de DSA, a função cardíaca foi avaliada pelo teste de esforço (TE), ecocardiograma transtorácico e transesofágico, e a pressão diastólica final biventricular; as funções hemodinâmica e autonômica foram avaliadas pelo registro da pressão arterial (PA) e da frequência cardíaca (FC), variabilidade da PA e da FC e sensibilidade barorreflexa. Os ratos (n = 32) foram divididos em 4 grupos: 16 W com (n = 8) e sem DSA (n = 8), 16 SHR com (n = 8) ou sem DSA (n = 8). **RESULTADOS:** A PA e a FC não apresentaram alterações entre os grupos DSA e não-DSA, entretanto, os SHR apresentaram níveis mais elevados da PA comparado com W. O TE mostrou que os SHR apresentaram melhor capacidade funcional em relação ao DSA e SHRDSA (W:  $1,16 \pm 0,3$  m/s, DSA:  $0,9 \pm 0,15$  m/s, \*SHR:

1,46±0,29m/s, SHR-DISA: 1,02±0,31, \*p< 0,05 vs. DISA e SHRDISA). Os SHRs apresentaram aumento da variabilidade da PA comparados aos W. Após a DISA houve aumento da variabilidade PA em todos os grupos comparados ao W (W: 15±29 mmHg<sup>2</sup>, \*DISA: 49±27 mmHg<sup>2</sup>, \*SHR: 60±29 mmHg<sup>2</sup>, \*SHR-DISA: 137±76 mmHg<sup>2</sup>, \*p<0,05 vs. W). Foi observado hipertrofia concêntrica do VE; disfunção sistólica segmentar e diastólica global do VE; disfunção sistólica global e segmentar, e diastólica global do VD; sinais indiretos de hipertensão arterial pulmonar pela ecocardiografia, mas evidentes no grupo SHRDISA. A pressão diastólica final do VD mostrou aumento em todos os grupos comparados com W (W: 3±0.39mmHg, \*DISA:4,7±0,52mmHg, \*SHR: 6,6±1.1mmHg, \*SHRDISA: 7,8±0.87mmHg, \*p< 0,05 vs. W), enquanto a pressão diastólica final do VE mostrou aumento dos grupos SHR e SHRDISA em relação ao W, e dos SHRDISA em relação aos DISA (W: 5,83±0,19 mmHg, DISA: 8,98±1,2 mmHg, \*SHR: 12,51±4,73 mmHg, \*\*SHRDISA: 14,57±2.52 mmHg, \*p< 0,05 vs. W, #p< 0,05 vs. DISA). Houve relação entre medidas não- invasivas e invasivas do VD, mostrando uma boa acurácia das medidas ecocardiográficas. **CONCLUSÕES:** Nossos resultados sugerem que a disfunção baroreflexa compromete a função biventricular. Além disso, os achados observados nos índices ecocardiográficos do VD indicam que a DAS pode induzir a elevação da pressão arterial pulmonar, reforçando o papel da disfunção barorreflexa na patogênese da doença cardíaca hipertensiva.

**Abstract**

---

## Abstract

Sirvente RA. *Evaluation of the systolic and diastolic ventricular function by transesophageal echocardiogram and functional capacity in spontaneously hypertensive rats submitted to sinoaortic denervation* [thesis]. Faculty of Medicine, University of Sao Paulo, SP (Brazil); 2011.

**INTRODUCTION:** During the development of hypertension, sympathetic hyperactivity commonly seems to be related to the left ventricular (LV) dysfunction and baro and chemoreflexes impairment. However, right ventricle (RV) function has not been evaluated specially regarding the association of hypertension and baroreflex dysfunction. **OBJECTIVE:** To evaluate noninvasively and invasively the biventricular myocardial function, the functional capacity, the baroreflex sensitivity and the cardiovascular autonomic control in Wistar (W) rats and spontaneously hypertensive rats (SHR) submitted or not to sinoaortic denervation (SAD). **METHODS:** Ten weeks after DSA, cardiac function was evaluated by the maximal exercise test (MET), by transthoracic (TT) and transesophageal echocardiography (TEE) and the biventricular end diastolic pressures (EDP). Additionally, hemodynamic and autonomic functions were evaluated by the blood pressure (BP) and heart rate (HR) records, BP and HR variability and baroreflex sensitivity. The rats (n=32) were divided in 4 groups: 16 Wistar (W) with (n=8) or without SAD (n=8) and 16 SHR, with (n=8) or without SAD (n=8). **RESULTS:** Blood pressure and HR did not show any change between the groups SAD and without SAD, although, SHR showed higher BP levels in comparison to W. MET results showed that SHR had better functional capacity compared to SAD and SHRSAD (W:  $1,16 \pm 0,3$  m/s, DSA:

0,9±0,15m/s, \*SHR: 1,46±0,29m/s, SHR-DSA: 1,02±0,31, \*p< 0.05 vs. SAD and SHRSAD). BP variability was increased in SHR groups compared to W. After SAD, BP variability increased in all groups compared to W (W: 15±29 mmHg<sup>2</sup>, \*DSA: 49±27 mmHg<sup>2</sup>, \*SHR: 60±29 mmHg<sup>2</sup>, \*SHR-DSA: 137±76 mmHg<sup>2</sup>, \*p<0.05 vs. W). Left ventricular concentric hypertrophy; segmental systolic dysfunction and global diastolic LV dysfunction; segmental and global systolic dysfunction, and global diastolic RV dysfunction; indirect signals of pulmonary arterial hypertension were shown by echocardiography, mostly evident in SHRSAD. The RV-EDP increased in all groups compared to W (W: 3±0.39mmHg, \*SAD:4.7±0.52mmHg, \*SHR: 6.6±1.1mmHg, \*SHRSAD: 7.8±0.87mmHg, \*p<0.05 vs. W), and the LV-EDP increased in SHR and SHRSAD groups compared to W, and in SHRSAD compared to SAD (W: 5,83±0,19 mmHg, SAD: 8.98±1.2 mmHg, \*SHR: 12.51±4.73 mmHg, \*#SHRSAD: 14.57±2.52 mmHg, \*p<0.05 vs. W, #p<0.05 vs. DSA). There was a relation between invasive or noninvasive measurements of the RV showing good accuracy of echocardiographic measurements. **CONCLUSIONS:** Our results suggest that baroreflex dysfunction impaired biventricular function. Moreover, the findings of RV echocardiographic indices indicate that SAD may lead to increased pulmonary artery pressure, supporting a role for baroreflex dysfunction in the pathogenesis of the hypertensive cardiac disease.

**Introdução**

---

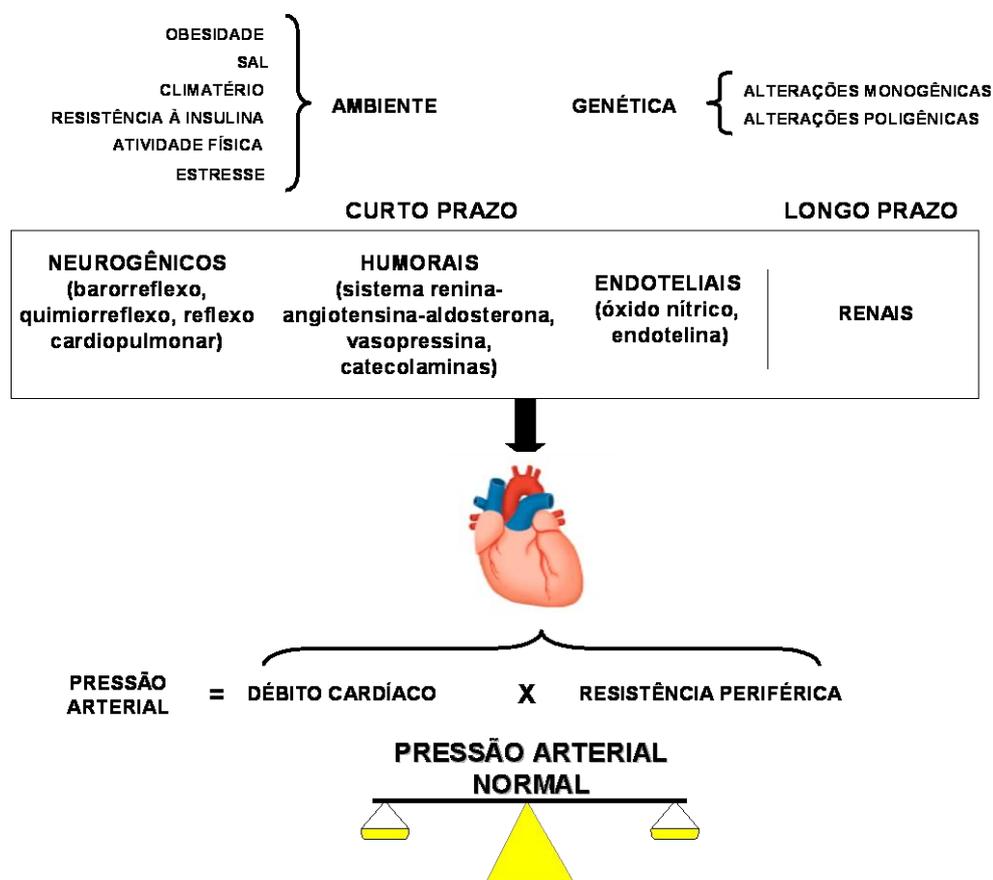
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Hipertensão Arterial Sistêmica e as Alterações no Controle Reflexo da Pressão Arterial

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é um dos maiores fatores de risco para as doenças cardiovasculares (Kannel, 1993; Chockalingam *et al.*, 2008). Por ser uma doença multifatorial na qual há interação de vários mecanismos fisiopatológicos, o estudo isolado de um ou de outro mecanismo se torna complicado, e é também complexo estabelecer exatamente qual dos mecanismos desencadeou a doença, uma vez que a principal forma de HAS é do tipo primária ou essencial, ou seja, sem causa determinada (Figura 1).

Embora seja improvável que todos esses fatores estejam alterados ao mesmo tempo num dado paciente, arranjos múltiplos podem ser encontrados, uma vez que o marcador hemodinâmico da HAS primária é o aumento persistente da resistência vascular periférica, o qual pode ser determinado através de diferentes associações desses fatores determinantes.

Dessa forma, os mecanismos que promovem desequilíbrio entre os fatores pressores e depressores e induzem alteração do calibre das arteríolas merecem atenção especial. Eles atuam basicamente na contração da musculatura que regula a luz do vaso ou na espessura da musculatura, ocupando maior ou menor parte do lúmen (Krieger *et al.*, 1999; Michelini *et al.*, 2008).



**Figura 1.** Determinantes primários da pressão arterial, débito cardíaco e resistência periférica, e interação dos mecanismos responsáveis pela sua manutenção em níveis ideais, a curto e longo prazo. Diante de anormalidades em um ou mais desses fatores, bem como influências ambientais e genéticas, instala-se a hipertensão arterial sistêmica primária. Modificado de Irigoyen et al., 2005.

A variação do tônus vascular depende de diferentes fatores funcionais. Dentre eles destaca-se a atividade simpática gerada centralmente e modulada por aferências de diferentes reflexos e por substâncias vasopressoras e vasodepressoras circulantes ou produzidas pelas células da musculatura lisa ou endoteliais. Um considerável número de evidências

dá suporte ao aumento da atividade simpática precocemente na HAS (Dequattro e Feng, 2002).

O sistema nervoso autônomo (SNA), por ter grande participação na regulação da pressão arterial (PA), é tido com fator importante na gênese e manutenção da PA elevada. Embora não estejam definitivamente comprovadas, inúmeras evidências apontam para a participação do aumento da atividade do sistema nervoso simpático na patogênese da HAS (Wyss, 1993). Usando-se diferentes métodos de avaliação da atividade simpática, pode-se detectar, nas fases iniciais da HAS primária, aumento do tônus simpático (Mancia *et al.*, 1993), embora os mecanismos envolvidos nessa alteração permaneçam pouco esclarecidos. Um dos mecanismos que tem recebido a atenção dos pesquisadores é a sensibilidade do baroreflexo, o reflexo comandado pelos pressorreceptores arteriais.

Os pressorreceptores arteriais (ou barorreceptores) são mecanorreceptores sensíveis às deformações da parede vascular. Estes mecanorreceptores estão localizados principalmente na crossa da aorta e no seio carotídeo, constituindo assim o mecanismo mais importante de controle da PA em curto prazo, ou seja, momento a momento (Franchini e Krieger, 1992). Além do controle reflexo da atividade autonômica, os pressorreceptores também exercem controle tônico sobre a atividade simpática (inibição) e parassimpática (estimulação). Assim, o comprometimento da função dos pressorreceptores poderia atuar como elemento permissivo ao estabelecimento de alterações primárias de outros

mecanismos de controle da função cardiovascular, por não modular a atividade simpática e parassimpática adequadamente (Irigoye *et al.*, 1995).

Uma característica importante dos barorreceptores em particular é a adaptação. Por esse processo, alterações para mais ou para menos, desde que sustentadas, deslocam a faixa de funcionamento dos barorreceptores para o novo nível de PA (hipertensão ou hipotensão), que passa a ser reconhecido como normal (Irigoyen *et al.*, 2003; Michelini *et al.*, 2008). Embora os barorreceptores arteriais sejam capazes de se adaptar aguda e cronicamente a altos níveis de PA (Krieger, 1989), a disfunção barorreflexa tem sido documentada na HAS e em outras doenças cardiovasculares em estudos clínicos e experimentais (Irigoyen e Krieger, 1998; Zanchetti e Mancia, 1991). Há dados na literatura sugerindo que a atenuação do barorreflexo pode ser causa e/ou consequência da HAS (Zanchetti e Mancia, 1991).

De fato, na HAS sustentada, esse processo de adaptação com deslocamento de sua faixa de funcionamento para um novo nível de PA, normalmente é acompanhado de redução da sensibilidade dos barorreceptores como já comentado anteriormente (Krieger *et al.*, 1982). Isso determina que, para uma variação similar da PA, os hipertensos têm uma menor quantidade de informações e, conseqüentemente, uma deficiência na regulação reflexa da PA. A menor sensibilidade dos barorreceptores é provavelmente o maior determinante do aumento da variabilidade da PA em indivíduos hipertensos (Irigoyen e Krieger, 1998;

Floras *et al.*, 1988) e, de forma indireta, associada às conseqüentes lesões dos órgãos-alvo (Floras *et al.*, 1988; Miao *et al.*, 2006).

## 1.2 Barorreceptores arteriais

Os barorreceptores exercem ação no controle reflexo sobre o débito cardíaco e a resistência periférica graças às múltiplas conexões no sistema nervoso central, conforme explicitado no item anterior. Além do controle reflexo da atividade autonômica, os barorreceptores também exercem controle tônico sobre a atividade simpática (inibição) e parassimpática (estimulação).

A comprovação da ação inibitória dos barorreceptores sobre a atividade simpática é dada pelo efeito hipertensor agudo após sua retirada. Por isso, uma das melhores maneiras de se estudar o papel dos barorreceptores é seccionando cirurgicamente suas fibras aferentes, procedimento denominado desnervação sino-aórtica (DSA) e descrito no rato por Krieger (1964). Na fase inicial da DSA, o aumento da PA e da atividade simpática é predominante (Irigoyen *et al.*, 1988). Na fase crônica, a normalização de ambos refletem o balanço entre efeitos inibitórios dos presso- e excitatórios dos quimiorreceptores (Irigoyen *et al.*, 1995). Uma característica importante deste modelo é o aumento da variabilidade da PA, que se mantém mesmo após a normalização da PA (Barres *et al.*, 1992). Maiores evidências sobre os efeitos crônicos desse aumento, oriundo da

disfunção crônica do mecanismo barorreflexo ainda são escassas, sobretudo em situações patológicas.

Embora os barorreceptores arteriais sejam capazes de se adaptar aguda e cronicamente às alterações dos níveis de PA (Krieger, 1989), a disfunção barorreflexa tem sido documentada em diversas doenças cardiovasculares (Zanchetti e Mancia, 1991; Dall'Ago *et al.*, 1997; Mancia *et al.*, 1997; Irigoyen e Krieger, 1998; La Rovere *et al.*, 1998; Harthmann *et al.*, 2007). Dessa forma, o controle reflexo da circulação comandado pelos barorreceptores tem sido reconhecido também como um importante preditor de risco após evento cardiovascular. De fato, o estudo ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) forneceu evidências clínicas do valor prognóstico da sensibilidade do barorreflexo e da variabilidade da frequência cardíaca na mortalidade pós-infarto agudo do miocárdio, independente da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (VE) e de arritmias ventriculares (La Rovere *et al.*, 1998). A evidência do caráter prognóstico do barorreflexo neste estudo pioneiro de La Rovere *et al.* (1998) foi acrescida por diversos estudos que também encontraram relação entre a sensibilidade do barorreflexo e alterações cardiovasculares. A sensibilidade barorreflexa diminuída foi também observada na insuficiência cardíaca (Mortara *et al.*, 1997). Mais recentemente, Liu *et al.* (2007) mostraram que a menor eficiência do barorreflexo foi preditor de acidentes vasculares cerebrais em ratos hipertensos da linhagem SHR-*stroke prone*. Adicionalmente, (Cai *et al.*, 2005) mostraram que a sensibilidade do barorreflexo diminuída em ratos

normotensos tratados com dieta rica em colesterol estava associada ao aumento da aterosclerose nestes animais.

Merecem destaque, alguns estudos que evidenciaram a redução da sensibilidade barorreflexa na HAS (Krieger *et al.*, 1982; Head e Adams, 1988; Piccirillo *et al.*, 1996), demonstrando sua importância nesta doença tão prevalente na sociedade. Também em hipertensos, (Milan *et al.*, 2007) mostraram que a disfunção barorreflexa está associada à hipertrofia do VE e disfunção diastólica.

A importância da hiperatividade simpática no aumento da resistência periférica em ratos com DSA tem sido confirmada pela reversão da HAS após bloqueio autonômico farmacológico. A outra alteração cardiovascular produzida pela DSA, conforme já comentado no parágrafo anterior, é o aumento na variabilidade da pressão arterial (VPA), caracterizada pelo aumento do desvio padrão e variância da PA obtidas de registros de longa duração (Trapani *et al.*, 1986).

Alterações neuro-humorais (especialmente dos sistemas renina-angiotensina e vasopressina) têm sido implicadas na geração e manutenção do aumento da VPA (Franchini *et al.*, 1994). De fato, a diminuição da VPA na HAS tem sido reconhecida como uma das estratégias importantes no tratamento desta patologia, ao lado da redução da própria PA, já que a VPA está associada às complicações decorrentes da HAS sobre os órgãos-alvo de maneira mais determinante do que a própria PA constantemente elevada.

Dados obtidos em nosso laboratório demonstraram que jovens normotensos, filhos de hipertensos, apresentam aumento da PA, dos níveis

séricos de catecolaminas e redução da resposta barorreflexa da frequência cardíaca (FC), quando comparados a jovens filhos de normotensos (Lopes *et al.*, 1997). Esses dados apontam para o envolvimento precoce do SNA na gênese da HAS bem como indicam que a predisposição genética para a HAS pode cursar com a redução da sensibilidade desse importante mecanismo de controle reflexo momento a momento.

### **1.3 Hipertensão, Hipertrofia Cardíaca e Desnervação Sino-Aórtica**

O remodelamento celular é um dos principais elementos envolvidos na patogênese de diversas doenças, incluindo a HAS (Kacimi e Gerdes, 2003). Esse processo engloba eventos complexos, como hipertrofia, alterações na expressão de diversos genes e no formato de cardiomiócitos, bem como modificações na matriz extracelular. Essas alterações resultam no espessamento da parede cardíaca, seguido por dilatação das suas câmaras e, conseqüentemente, disfunção miocárdica (Pfeffer *et al.*, 1995; Bristow *et al.*, 1998; Schwinger, Munch *et al.*, 1999).

A hipertrofia cardíaca é uma característica comum no processo de remodelamento, sendo uma adaptação inicial tanto às condições fisiológicas, como patológicas, associadas ao aumento do trabalho cardíaco. A resposta hipertrófica inicialmente normaliza o estresse da parede cardíaca e mantém a função ventricular (Kacimi e Gerdes, 2003).

A hipertrofia cardíaca pode ser classificada em fisiológica ou patológica de acordo com as adaptações miocárdicas e a natureza da carga imposta ao

coração (Richey e Brown, 1998). Esses padrões de hipertrofia apresentam diferentes características estruturais e funcionais, assim como fatores bioquímicos que influenciam no remodelamento cardíaco (Iemitsu *et al.*, 2003).

A sobrecarga pressórica ao coração na HAS induz a hipertrofia cardíaca patológica. Esse padrão de hipertrofia é uma adaptação compensatória ao aumento do trabalho cardíaco (Panidis *et al.*, 1984) e é acompanhado por modificações estruturais do miocárdio, incluindo perda de cardiomiócitos, desenvolvimento vascular defeituoso e fibrose (Fortuño *et al.*, 2001). A hipertrofia cardíaca patológica reduz a função miocárdica e sua progressão resulta em insuficiência cardíaca (Reddy, 1997).

No modelo genético de HAS experimental que utiliza ratos espontaneamente hipertensos (SHR), há aumento gradual da PA, sobrecarga pressórica, e conseqüente desenvolvimento de HAS. Esse modelo demonstra muitas similaridades com a HAS primária em humanos, com período pré-hipertensivo, e fases de desenvolvimento e de HAS sustentada (Bell *et al.*, 2004). Bell e colaboradores (2004), ao avaliarem o curso temporal da HAS em SHR, verificaram que a PA aumenta progressivamente a partir da 7<sup>o</sup> semana de vida até a 16<sup>o</sup> semana, quando então, é atingido o platô caracterizando a fase sustentada da HAS. A hipertrofia cardíaca acompanhou parcialmente a elevação da PA nesses animais, aumentando a partir da 16<sup>o</sup> semana, isto é, já na fase de sustentação da HAS.

O tamanho das células cardíacas, bem como a massa protéica dos cardiomiócitos é maior nos animais SHR, comparados com seus controles normotensos, indicando um padrão concêntrico de hipertrofia cardíaca (Brooksby *et al.*, 1993). No entanto, o desenvolvimento desse tipo de hipertrofia é considerado multifatorial nos animais SHR e reflete a contribuição adicional de mecanismos não hemodinâmicos, como fatores genéticos e neurohumorais.

A presença de mRNA da  $\alpha$ -actina em cardiomiócitos de SHR, a partir da 10ª semana de vida, indica alterações fenotípicas das fibras musculares ventriculares antes mesmo do estabelecimento da HAS (Masuzaki *et al.*, 1996).

Em ratos com DSA os relatos indicam que a hipertrofia VE é modesta e quando presente, apresenta aumento entre 11% e 16%, observados 6, 10 e 16 semanas após a cirurgia de DSA (Miao e Su, 2002), quando comparados com SHR com 30% de aumento (Lo *et al.*, 1990) e na HAS renal, com 32% de aumento (Jones e Floras, 1980). Esses dados indicam que a HAS mais do que a labilidade é o fator crítico para o desenvolvimento da hipertrofia VE.

Confirmando dados epidemiológicos que mostram que a sensibilidade do barorreflexo está relacionada com o prognóstico após evento cardiovascular (La Rovere *et al.*, 1998; Mostarda *et al.* 2006) mostraram que animais com DSA apresentam uma maior resposta hipertrófica à HAS renovascular assim como maior mortalidade quando submetidos à oclusão

coronariana. Esses dados em conjunto sugerem um papel protetor do barorreflexo na resposta de ganho de massa do VE à HAS.

Uma questão relevante no estudo desse modelo é a observação de que não só o VE, mas também o ventrículo direito (VD) poderia responder às alterações induzidas pela remoção do barorreflexo. De fato, alguns trabalhos ressaltam o desenvolvimento de hipertrofia VD induzida pela DSA e que estaria relacionada ao desenvolvimento de hipertensão pulmonar (Smith *et al.*, 1983). Neste sentido, Galinier *et al.* (1995) demonstraram que em cães a DSA causa hipertensão pulmonar transitória e aguda.

A hipertensão pulmonar é uma doença caracterizada pelo remodelamento vascular progressivo, produzindo disfunção do VD. A exposição prolongada à hipóxia induz mudanças fisiológicas nos vasos pulmonares e aumento no tônus vasomotor. Neste sentido, um modelo que parece se prestar bem a este estudo é o da DSA, já que provoca hipóxia, agudamente hipertensão pulmonar e cronicamente hipertrofia de VD.

Existe evidência na literatura de que a hipertrofia do VD na DSA seria consequência da desnervação carotídea, reforçando a idéia de que esse processo pudesse estar associado a alterações na circulação pulmonar (Van Vliet *et al.*, 1999). A ocorrência de hipertrofia do VD na DSA foi demonstrada pela primeira vez por Van Vliet *et al.* (1999). Entretanto, dados sobre peso corporal e diferentes espécies de ratos utilizados ainda levantam dúvidas quanto aos resultados de hipertrofia VD nesses animais, em períodos de um a dois meses após a DSA (Miao *et al.*, 2003).

## **1.4 O uso do Ecocardiograma como Ferramenta e Avaliação de Função e da Estrutura cardíacas *in vivo*.**

### **1.4.1 Ecocardiograma Transtorácico**

A imagem ultra-sonográfica das estruturas cardíacas e da velocidade do fluxo sanguíneo pelo ecoDopplercardiograma é largamente reconhecida por proporcionar uma das mais acuradas medidas não-invasivas para caracterização da morfologia cardíaca e análise das funções sistólica e diastólica em humanos (Devereux, 1987; Devereux *et al.*, 1986). Em animais de experimentação, o uso do ecocardiograma transtorácico (ETT) como metodologia não-invasiva da análise da função cardíaca, também vem se tornando rotina graças ao avanço tecnológico e desenvolvimento de transdutores ultra-sonográficos com frequências maiores, que proporcionam uma resolução adequada para avaliar pequenas estruturas localizadas em regiões próximas ao tórax (Pawlush *et al.*, 1993). Essa prática vem sendo amplamente utilizada em estudos que requeiram análise morfológica e funcional do sistema cardiovascular no curso temporal de determinada patologia, exatamente por permitir a sobrevivência do animal até o final do experimento. Moléstias como infarto do miocárdio, HAS, diabetes mellitus, entre outras, com tratamento associado ou não, podem ser avaliadas ao longo de períodos pré-estabelecidos pelo uso desta técnica. A ETT permite a quantificação da massa VE em humanos e pequenos animais, possibilitando assim, a determinação dos diferentes padrões geométricos, que são

classificados em: remodelamento concêntrico, hipertrofia concêntrica e hipertrofia excêntrica levando-se em consideração a massa e a espessura relativa da parede (Ganau *et al.*, 1992; Lang *et al.*, 2005). O modelo de SHR apresenta hipertrofia miocárdica concêntrica a partir do segundo mês de vida, sendo bem estabelecida com quatro meses de idade. Já o modelo apenas DSA é controverso, com alguns estudos mostrando HVE, e outros não.

A avaliação ecocardiográfica da morfologia e funções sistólica e diastólica do VE tem sido extensivamente estudada e os valores normais bem estabelecidos em humanos e animais de experimentação (Sahn *et al.*, 1978; Lang *et al.*, 2005; Salemi *et al.*, 2005; Scherrer-Crosbie e Kurtz, 2010). Entretanto, o estudo ecocardiográfico do VD é dificultado pelo seu formato em crescente, composto de três porções distintas como via de entrada, via de saída e região apical trabeculada. Além disso, a localização próxima ao esterno, a superfície endocárdica irregular e o mecanismo de contração complexo limitam imensamente para a avaliação ecocardiográfica em humanos. Recentemente, foram padronizados a metodologia de avaliação e os valores de normatização ecocardiográficos do coração direito em humanos (Rudski *et al.*, 2010). Já em pequenos animais, pela dificuldade da aquisição de imagem em corte apical quatro câmaras, e conseqüente análise da morfologia do VD, tem sido utilizada a estimativa indireta de avaliação do coração direito como a medida do fluxo da via de saída do VD, obtida pelo Doppler pulsátil (Thibault *et al.*, 2010). Não existem estudos

mostrando a função do coração direito em pequenos animais hipertensos submetidos à DAS pelo ETT e o ecocardiograma transesofágico (ETE).

#### **1.4.2 Ecocardiograma Transesofágico**

O ETE mudou a abordagem diagnóstica de várias doenças cardiovasculares, como na endocardite infecciosa, cardiopatias congênitas, dissecação de aorta e para detecção de trombos atriais esquerdo. O sucesso da ETE é resultado de vários fatores: proximidade do esôfago com o coração; ausência de osso e pulmão, permitindo obtenção de imagens de alta qualidade; e por ser uma técnica semi-invasiva é segura e bem tolerada pelos pacientes, mesmo em indivíduos criticamente doentes e em bebês (Shanewise *et al.*, 1999). Entretanto, existem algumas limitações como uso de anestesia tópica e sedação para a inserção da sonda, podendo causar trauma oral ou dentário, perfuração de esôfago e/ou reação vagal. Também podem ocorrer outras complicações tardias como aspiração e taquiarritmias.

Embora, em modelos de pequenos animais o ETT tenha sido utilizado para monitorar as mudanças morfológicas e funcionais, como na hipertrofia ou no infarto agudo do miocárdio, a reprodutibilidade pode ser limitada pela variabilidade do alinhamento com as estruturas cardíacas e a resolução espacial, especialmente da visualização do VD. Em 2002, foi desenvolvido um transdutor ecocardiográfico intracardíaco de alta frequência (AcuNav, Acuson-Siemens Corp, Mountain View, CA, EUA) em humanos (Packer *et al.*, 2002), podendo ser utilizado para realização de ETE em animais de pequeno porte (Hoit, 2006). Poucos estudos utilizaram o esse cateter em

pequenos animais, sendo o primeiro trabalho realizado por (Gao *et al.*, 2005), que avaliou a função cardíaca em ratos com taxas altas de sucesso nos vários cortes ecocardiográficos, mostrando o grande potencial de aplicação dessa técnica, permitindo a visualização das cavidades ventriculares e uso do Doppler pulsátil, colorido e tecidual.

O Doppler tecidual permite avaliar o movimento da parede miocárdica, oferecendo uma análise mais precisa das alterações segmentares sistólica e diastólica biventricular e ainda permite estimar de forma não-invasiva a pressão capilar pulmonar em humanos (Nagueh *et al.*, 1998). Esta técnica também tem sido utilizada no ETT em ratos, para avaliação segmentar do VE (Pires *et al.*, 2003). A aquisição das imagens do Doppler tecidual é mais adequada pelo TEE, pois possibilita melhor visualização da região lateral do anel mitral, e principalmente da região lateral do anel tricúspide, limitadas no ETT. Dessa forma, essa abordagem poderá fornecer informações adicionais no estudo da disfunção cardíaca sistólica e diastólica biventricular em SHR com DSA ou não.

### **1.5 Teste de Esforço Máximo como Marcador da Capacidade Funcional**

O teste de exercício (TE) máximo tem sido considerado o método adequado para avaliação da capacidade funcional, é seguro e bem tolerado. Permite avaliar a resposta clínica, hemodinâmica, autonômica, eletrocardiográfica e metabólica dos pacientes ao esforço físico com

detecção de isquemia miocárdica, arritmias cardíacas, distúrbios hemodinâmicos esforço-induzidos, diagnóstico e prognóstico das doenças cardiovasculares, prescrição de exercícios e avaliação dos resultados de intervenções terapêuticas (Meneghelo *et al.*, 2010).

A medida do consumo máximo de oxigênio ( $VO_2\text{max}$ ) representa o maior pico de captação de oxigênio atingido durante incrementos de esforço físico, e é um excelente parâmetro para quantificar a capacidade cardio-respiratória, bem como o nível de condicionamento físico (Lange *et al.*, 2001). A avaliação das respostas cardio-respiratórias ao exercício agudo e crônico, de forma semelhante ao realizado em humanos, tem sido uma prática comum na investigação de diferentes doenças em modelos animais. Tanto na abordagem clínica como na experimental, a medida do  $VO_2\text{max}$  é uma ferramenta de grande validade no estudo da capacidade funcional, entretanto, essa avaliação em animais de laboratório muitas vezes é limitada. Estudo prévio mostrou correlação positiva entre a velocidade máxima obtida no TE e o  $VO_2\text{max}$  tanto em animais wistar (W) ( $r= 0,87$ ,  $p< 0,05$ ) como nos animais diabéticos ( $r= 0,80$ ,  $p< 0,05$ ) (Rodrigues *et al.*, 2007), validando o TE como método adequado de avaliação da capacidade funcional em ratos.

Nesse contexto, elaboramos o estudo atual com o objetivo de utilizar ferramentas não-invasivas ou semi-invasivas como o ETT e o ETE, e o TE máximo, e invasivas como medidas hemodinâmicas e sensibilidade barorreflexo, para mostrar possíveis alterações ventriculares, com ênfase no coração direito, de animais hipertensos submetidos ou não à DSA. Essas

informações poderão contribuir para o melhor entendimento do papel da disfunção barorreflexa isoladamente ou da associação a HAS nos ajustes estruturais e funcionais do coração.

**Objetivos**

---

## 2. OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivos avaliar em animais normotensos, desnervados, hipertensos e hipertensos desnervados:

- Os índices ecocardiográficos transtorácicos e transesofágicos de função miocárdica biventricular;
- A capacidade funcional obtida pelo TE máximo;
- Medidas invasivas das pressões de enchimento biventriculares;
- A sensibilidade barorreflexa e controle autonômico cardiovascular;
- A relação entre índices não-invasivos e invasivos.

**Materiais e métodos**

---

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Grupos Experimentais

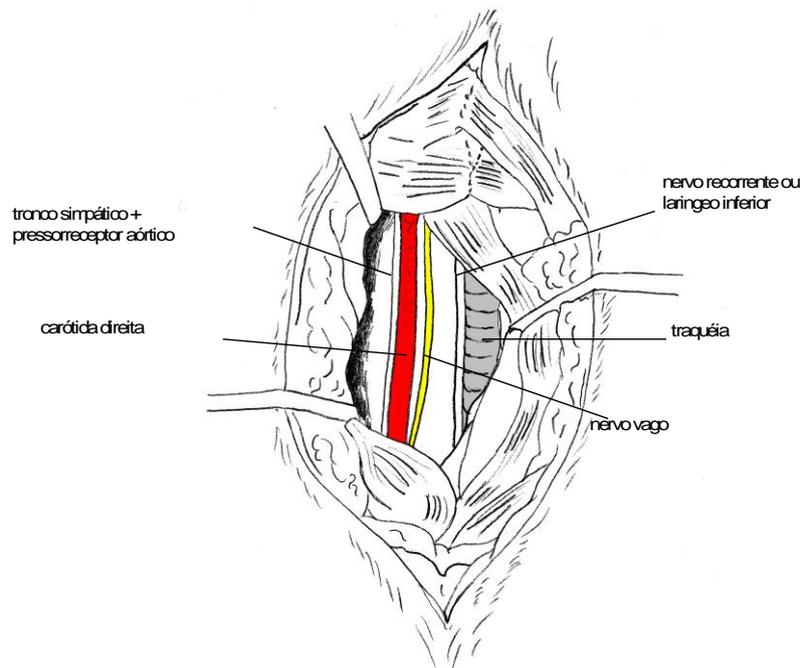
Foram utilizados ratos W e SHR machos, com dois a três meses de idade, adquiridos no Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Os animais foram mantidos agrupados, em ambiente com temperatura de 22<sup>o</sup> a 24<sup>o</sup>C e ciclo claro/ escuro de 12:12 horas controlados, com acesso irrestrito à água e comida (dieta normoprotéica com 12% proteínas). Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais e avaliados 10 semanas após a cirurgia de DSA:

- Grupo Wistar (GW) (n=8).
- Grupo Wistar com desnervação sino-aórtica (GWDSA) (n=8).
- Grupo SHR (GSHR) (n=8)
- Grupo SHR com desnervação sino-aórtica (GSHRDSA) (n=8);

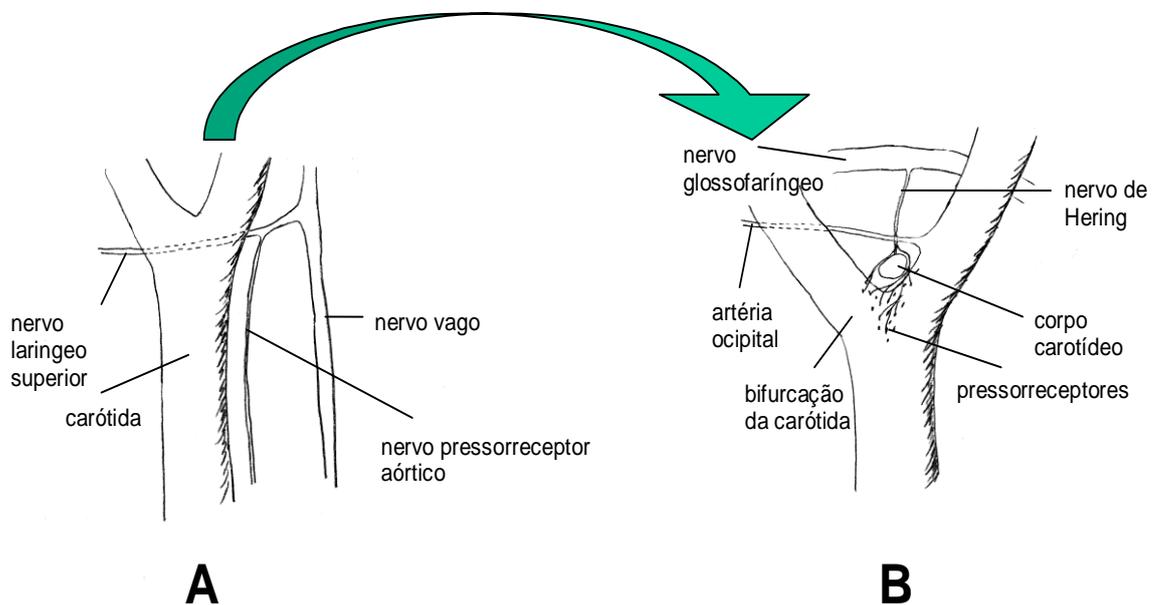
Este estudo (Protocolo de Pesquisa SDC 2901/06/146) foi aprovado pela Comissão de Científica do Instituto do Coração (InCor) e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Foram seguidas as recomendações internacionais para cuidados e manejo dos animais (National Institutes of Health publication no. 85-23, revised 1985).

### 3.2 Desnervação Sinoaórtica

Os animais dos grupos GWDSA e os GSHRDSA foram submetidos à DAS, sendo anestesiados com Ketamina (50mg/kg; i.p.) e Xilazina (12mg/kg; i.p.) e posicionados em decúbito dorso-ventral / crânio-sacral. Foi realizada incisão mediana na região cervical anterior, separando os músculos pré-traqueais, assim, localizando bilateralmente o feixe vaso-nervoso, constituído pela artéria carótida, nervo vago e tronco simpático (Krieger, 1964). As fibras pressorreceptoras aórticas que trafegam junto ao tronco simpático ou como nervo isolado foram seccionadas. A bifurcação da carótida comum foi localizada, exposta e dissecada completamente nos dois lados, seccionando-se as fibras carotídeas e destruindo-se o corpúsculo carotídeo (Fig. 2 e 3). Finalmente, o outro contingente de fibras pressorreceptoras aórticas que poderiam estar juntas ao laríngeo inferior foi interrompido quando foi seccionado o laríngeo superior (Krieger e Marseillan, 1963).



**Figura 2:** Visão do feixe vaso - nervoso, após afastamento da musculatura do pescoço.



**Figura 3:** Inervação na região da bifurcação da carótida. A: localização do nervo laringeo superior; B: detalhe da inervação do corpo carotídeo e dos pressorreceptores carotídeos.

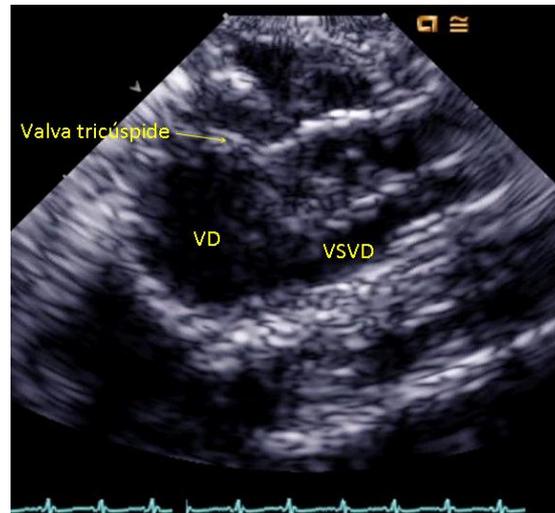
### 3.3 Avaliação Ecocardiográfica

#### 3.3.1 Ecocardiográfica Transesofágica

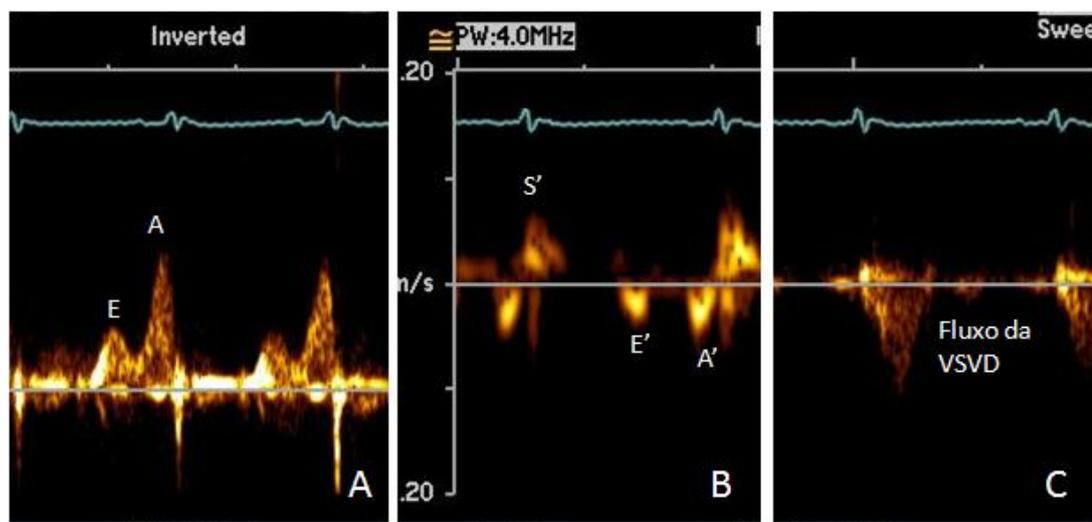
Os animais foram anestesiados por via intra-peritoneal com Ketamina (50mg/kg; i.p.) e Xilazina (12mg/kg; i.p.). Foi realizada tricotomia da região torácica, os animais foram colocados em decúbito dorsal, intubados com cateter intravenoso de 22gauge (BD Vialon, Franklin Lakes, NJ, EUA) e ventilado com respirador de pequenos animais, modelo 683 (Harvard Apparatus, Holliston, MA, EUA). Os animais foram colocados em uma mesa cirúrgica apropriada e foram fixados eletrodos descartáveis (3M, Sumaré, SP, Brasil) nos membros superiores direito e esquerdo e no membro inferior direito, para monitorização eletrocardiográfica simultânea. Em seguida, foi introduzido o transdutor transesofágico monopiano 10F (AcuNav, Acuson/Siemens, Mountain View, CA, USA), de frequência variável (5,5-10 MHz), com Doppler pulsátil e colorido, no esôfago em direção à posição imediatamente posterior ao átrio esquerdo. A partir dessa posição, pequenas manipulações do cateter foram realizadas sob visualização ecocardiográfica e os dados foram adquiridos no sistema de ultra-som Sequóia (Siemens, Mountain View, CA, EUA). Cada variável foi obtida a partir da média de três ciclos cardíacos.

A manipulação do cateter foi feita sob visualização ecocardiográfica no esôfago médio nos cortes apical quatro câmaras, apical três câmaras e duas câmaras e via de saída do VD em nível de esôfago médio (Figura 4 e 5). As imagens foram armazenadas em fitas de videocassete da marca

Sony (Nuevo Laredo, México), em discos ópticos regraváveis de 128Mb da marca Sony (Dothan, AL, EUA) e em DVD-R da marca Sony (Toronto, ON, Canadá).



**Figura 4:** Ecocardiograma transesofágico de rato espontaneamente hipertenso mostrando valva tricúspide, ventrículo direito (VD) e via de saída de ventrículo direito (VSVD).



**Figura 5:** Ecocardiograma transesofágico: A) fluxo tricúspide com inversão E/A, B) Doppler tecidual da região lateral do anel tricúspide com E' menor que A', e C) fluxo da via da saída do ventrículo direito (VSVD).

### 3.3.1.1. Avaliação dos volumes e fração de ejeção do ventrículo direito

Foram avaliados os volumes do VD em diástole e sístole máximas em corte bidimensional apical quatro câmaras, corrigidos pelo peso do animal. O endocárdio ventricular foi tracejado a partir do anel tricúspide, ao longo da parede livre, em direção ao ápice e então, de volta ao anel, junto ao septo interventricular. Os folhetos da valva tricúspide, as cordas e as trabéculas foram incluídas dentro do tracejado.

A fração de ejeção do VD foi obtida a partir dos volumes:

$$\text{Fração de Ejeção do VD (\%)} = \frac{\text{Volume ventricular máximo} - \text{mínimo}}{\text{Volume ventricular máximo}} \times 100$$

### 3.3.1.2. Avaliação da função diastólica biventricular

#### 3.3.1.2.1. Ventrículo esquerdo

A amostra de volume de 1 mm foi colocada na borda dos folhetos da valva mitral, paralelo e o mais próximo possível do centro do fluxo, com obtenção da velocidade máxima. Foram medidas as velocidades máximas do enchimento ventricular precoce (onda E), tardio (onda A) e relação E/A (Nagueh *et al.*, 2009). A fração de enchimento atrial esquerda foi calculada

a partir da integral da velocidade da onda A dividida pela integral da velocidade do fluxo diastólico total do VE. O tempo de desaceleração da onda E foi obtido por linha traçada do pico de velocidade da onda E, ao longo da borda externa do envelope de velocidade do Doppler pulsátil, até atingir a linha de base. O tempo de relaxamento isovolumétrico do VE (TRIV) foi obtido pelo Doppler pulsátil com a amostra de volume de 1mm de entre a valva mitral e a via de saída do VE, e medido pelo tempo entre o clique de fechamento da valva aórtica e abertura da valva mitral.

#### **3.3.1.2.2. Ventrículo direito**

Da mesma forma que foram adquiridos os índices de função diastólica do VE, foi utilizada metodologia semelhante para o VD, tendo como referência a valva tricúspide. Foram obtidos os seguintes índices de função diastólica do VD: onda E, onda A, relação E/A, tempo de desaceleração da onda E e fração de enchimento atrial direita (Figura 5).

#### **3.3.1.3. Avaliação da função sistólica e diastólica segmentar pelo Doppler tecidual**

##### **3.3.1.3.1. Anel mitral**

O ápice ventricular é relativamente fixo, e na sístole a base se move em direção a ele. Assim, com a colocação da amostra de volume de 1mm na região septal e lateral do anel mitral se obtém basicamente três ondas pelo Doppler pulsátil tecidual: onda S', que reflete a função sistólica da

região avaliada; onda E', que ocorre na fase de enchimento ventricular precoce e reflete o relaxamento ventricular segmentar; onda A', que ocorre na fase de enchimento ventricular tardio e reflete a função atrial segmentar; e a relação E'/A' (Nagueh *et al.*, 2009).

#### **3.3.1.3.2. Anel tricúspide**

Da mesma forma que foram adquiridos os índices de Doppler tecidual do VE, foi utilizada metodologia semelhante para a avaliação da região lateral do anel tricúspide (Rudski *et al.*, 2010).

#### **3.3.1.3.3. Avaliação da função cardíaca global obtida pelo índice de desempenho miocárdico ou índice de Tei**

#### **3.3.1.3.4. Obtido pelo Doppler pulsátil**

Este índice utiliza intervalos de tempo sistólico e diastólico, facilmente obtidos pelo Doppler pulsátil e refletem a função global biventricular (Tei *et al.*, 1995). É obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{Índice de desempenho miocárdico} = \frac{a + b}{b}$$

**b**

onde: **a** corresponde ao tempo entre o fechamento e a abertura da valva mitral ou tricúspide, e **b** corresponde ao tempo de ejeção do VE ou VD.

#### 3.3.1.3.5. Obtido pelo Doppler tecidual

O cálculo do índice de desempenho miocárdico pelo Doppler tecidual é adquirido em três regiões: septal e lateral do anel mitral e lateral do anel tricúspide (Rudski *et al.*, 2010). É obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{Índice de desempenho miocárdico} = \frac{\mathbf{a'} + \mathbf{b'}}{\mathbf{b'}}$$

onde: **a'** corresponde ao tempo entre o final da onda A' e o início da onda E', e **b** corresponde ao tempo do início ao final da onda S'.

Diferente do Doppler pulsátil, no Doppler tecidual todos os intervalos são medidos no mesmo ciclo cardíaco, e reflete a função miocárdica segmentar.

#### 3.3.1.4. Estimativa do fluxo da via de saída do ventrículo direito

Em indivíduos normais, o fluxo da via de saída do VD tem contorno simétrico, com a velocidade máxima ocorrendo na mesossístole. O tempo de

aceleração (TAc) do fluxo da via de saída do VD, que é o tempo entre o início do fluxo ao pico do mesmo; o tempo total (TT) do fluxo de via de saída do VD e a relação entre o Tac/TT foram obtidos pelo Doppler pulsátil com a amostra de volume de 1mm na via de saída do VD, em nível de esôfago médio. O tempo de aceleração quando reduzido, reflete o aumento da pressão arterial pulmonar.

### 3.3.2 Ecocardiográfica Transtorácica

O exame ecocardiográfico transtorácico (ETT) foi realizado após o ETE com os animais ainda anestesiados. O transdutor foi posicionamento no hemitórax esquerdo do animal anestesiado. Foi utilizado o equipamento SEQUOIA 512 (ACUSON Corporation, Mountain View, CA, EUA), com transdutor modelo 15L8, com freqüência de 15 MHz. Para registro das imagens foi utilizado gel de transmissão para ultrassom de viscosidade média/alta (General Imaging Gel, ATL, Reedsville, EUA). As imagens foram armazenadas em fitas de videocassete da marca Sony (Nuevo Laredo, México), em discos ópticos regraváveis de 128Mb da marca Sony (Dothan, AL, EUA) e em DVD-R da marca Sony (Toronto, ON, Canadá).

Foram realizados os seguintes cortes ecocardiográficos bidimensionais paraesternal eixo-longo, paraesternal eixo-curto em nível de aorta/átrio esquerdo e músculo papilar. Foi realizado o Modo-M da aorta/átrio esquerdo com medidas das suas dimensões e cálculo da sua relação. A partir da visualização do VE em corte transversal em nível dos

músculos papilares foi realizado o modo-M e obtidas as medidas das seguintes variáveis: diâmetro da câmara do VE em diástole (DDVE) e em sístole (DSVE), espessuras do septo interventricular esquerdo (SIVE) e parede posterior do ventrículo esquerdo (PPVE) em diástole. Com estas medidas, foram calculadas a massa do ventrículo esquerdo (MVE), validada pela necropsia (47) e recomendada pela Sociedade Americana de Ecocardiografia (50), e a espessura relativa da parede (ERP), utilizando-se as seguintes fórmulas:

$$\text{Massa do VE} = 0,8 \times \{1,04 [(DDVE + PPVE + SIVE)^3 - DDVE^3]\} + 0,6$$

$$\text{Espessura relativa de parede} = (2 \times PPVE) / DDVE$$

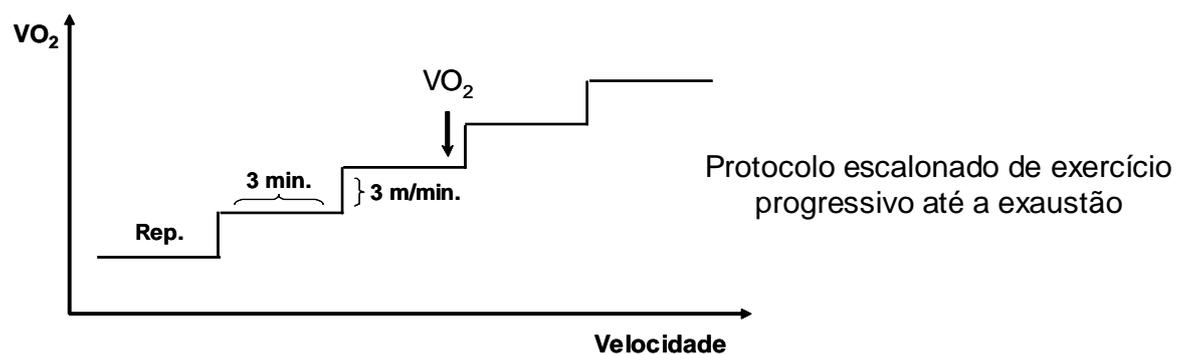
O tempo de aceleração (TAc) do fluxo da via de saída do VD; o tempo total (TT) do fluxo de via de saída do VD e a relação entre o Tac/TT foram obtidos pelo Doppler pulsátil com a amostra de volume de 1mm na via de saída do VD em corte paraesternal eixo-curto aorta/átrio esquerdo.

### 3.4 Avaliação da Capacidade de Esforço

Todos os grupos estudados foram submetidos a um protocolo de TE máximo em esteira ergométrica, conforme descrito em Rodrigues *et al.*(2007); De Angelis *et al.* (1997, 1999). O teste consistiu em colocar o animal correndo na esteira a 0,3 km/h por 3 minutos, sendo esta carga

incrementada em 0,3 km/h a cada 3 minutos até que o animal atingisse a exaustão. O tempo do teste e a velocidade da última carga foram considerados a capacidade máxima. Todos os animais foram previamente adaptados à esteira antes do teste por 5 dias consecutivos, durante 10 minutos, a uma velocidade de 0,3 Km/h (Figura 5).

A determinação metabólica de consumo de oxigênio está bem relacionado com o TE, sendo uma análise fidedigna da capacidade funcional (Rodrigues *et al.*, 2007).



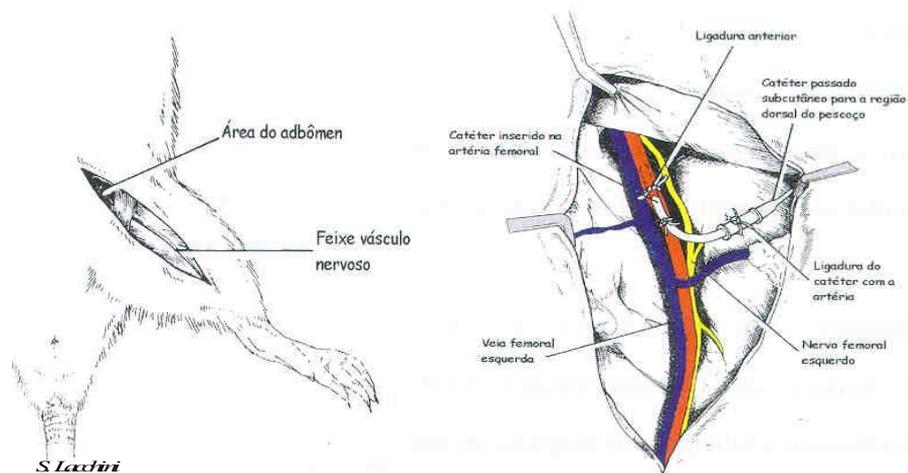
**Figura 6** – Esquema mostrando a realização do teste de esforço.

### 3.5 Avaliações Hemodinâmicas Sistêmicas

#### 3.5.1 Canulação

Ao final do período de acompanhamento, os animais foram anestesiados por via intra-peritoneal com Ketamina (50mg/kg; i.p.) e Xilazina (12mg/kg; i.p.) para a colocação dos cateteres de polietileno (PE-

10, com diâmetro interno de 0,01 mm que estava conectado ao PE-50, com diâmetro interno de 0,05 mm). As cânulas foram preenchidas com soro fisiológico, e posicionadas no interior da aorta abdominal e da veia cava inferior por uma pequena incisão na região inguinal esquerda, inserindo-os na artéria e veia femoral esquerda para registro da PA, FC e administração de drogas, respectivamente. As cânulas foram fixadas com fio de algodão, na artéria e na veia e suas extremidades mais calibrosas foram passadas subcutâneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas com fio de algodão na pele (Figura 6). Após o término da cirurgia os animais foram tratados com uma única injeção intramuscular de penicilina G (Benzetacil, Fontoura-Wyeth, 60.000 U). Cada rato foi mantido em uma caixa (Plexiglas, 25x15x10 cm) durante a realização do experimento.



**Figura 7:** Esquema da canulação da artéria e veia femoral em posição anátomo-cirúrgica.

### 3.5.2 Registro de Pressão Arterial

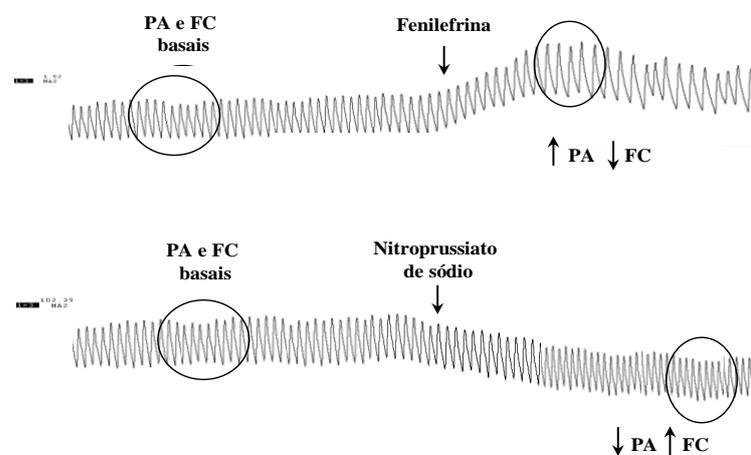
Vinte e quatro horas após a canulação, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm (PE-50), permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético (P23 Db, Gould-Statham, Oxnard, CA, EUA) que, por sua vez, estava conectado a um pré-amplificador (Hewlet-Packard 8805C, Puerto Rico, EUA). Sinais da PA foram gravados durante um período de 40 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (CODAS, 2Kz, DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA), permitindo análise dos pulsos de pressão, batimento-a-batimento, com frequência de amostragem de 2000 Hz por canal, para estudo dos valores de PA sistólica, PA diastólica, PA média e FC. Os valores de FC foram derivados do sinal pulsátil da PA.

### 3.5.3 Avaliação da Sensibilidade dos Barorreceptores

Após o registro da PA, os animais permaneceram em condições de repouso por 15 minutos, para depois testar a sensibilidade dos barorreceptores através da infusão de fenilefrina e nitroprussiato de sódio (Figura 7). A fenilefrina (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente estimulador  $\alpha_1$ , cuja ação predominante é a vasoconstrição das arteríolas periféricas, foi injetada em doses crescentes na cânula da veia femoral. Tal fármaco foi utilizado para causar aumento da PA, efeito que

provoca bradicardia reflexa subsequente, comandada pelos barorreceptores. Um efeito contrário, ou seja, redução da PA com resposta taquicárdica, também comandada pelos barorreceptores, foi provocada pela injeção de doses crescentes de nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente vasodilatador tanto de arteríolas como de veias, cuja ação se dá por meio da ativação da guanilato ciclase e aumento da síntese de 3', 5'-guanosina monofosfato (GMP cíclico) na musculatura lisa dos vasos e outros tecidos.

Para a avaliação da sensibilidade dos barorreceptores, o pico máximo ou mínimo da PA média foi reduzido dos valores de PA média do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da FC foi reduzida dos valores de FC do período controle, imediatamente antes da infusão das drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade baroreflexa foi avaliada pelo índice calculado através divisão da variação da FC pela variação da PA média (ITR = índice de taquicardia reflexa e IBR= índice de bradicardia reflexa).



**Figura 8.** Registro demonstrativo da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após a administração de drogas vasoativas.

### 3.5.4. Avaliação da Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial

A avaliação do SNA foi realizada a partir da análise das variabilidades da FC e da PA nos domínios do tempo e da frequência, pela análise espectral dos registros basais utilizando o método da transformada rápida de Fourier (FFT). Foram calculadas as variâncias totais do intervalo de pulso (PI) e da PA sistólica. Também foi calculado, como indicador da modulação vagal no domínio do tempo, a raiz quadrada da soma dos quadrados das diferenças sucessivas entre intervalos R-R adjacentes (RMSSD). A potência foi obtida usando-se o método do periodograma de Welch em séries de 16384 pontos das séries temporais decimadas de intervalo de pulso e PA, com uma janela Hanning de 512 pontos e com 50% de sobreposição (MATLAB 6.0, Mathworks, Inc). As potências para as frequências de bandas muito baixa (VLF, 0,0-0,20 Hz; modulação humoral), baixa (LF, 0,20-0,75 Hz; modulação simpática) e alta (HF, 0,75-3,0 Hz; modulação parassimpática) foram calculadas pela integração da potência nas bandas de interesse. Para a normalização, as potências das bandas de LF e HF foram divididas pela variância total e subtraída da potência da banda VLF (Pagani *et al.*, 1986). O acoplamento entre o PI e PA sistólica foi estimado pela função de coerência. Um valor de coerência (K) maior que 0,5 foi considerado significativo.

### 3.5.5 Canulação e Registro da Pressão Ventricular Esquerda e Direita

Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.p.) e um cateter de polietileno P50 foi utilizado para a canulação do VE, via artéria carótida direita. O cateter foi inserido até o ventrículo e sua posição determinada pela observação da característica da onda de pressão ventricular.

Antes da colocação do cateter P50 no ventrículo, a PA da carótida foi registrada durante 5 minutos através da conexão da cânula arterial a um transdutor de pressão (P23 Db, Gould-Statham, Oxnard, CA, EUA) que por sua vez, estava conectado a um pré-amplificador (Hewlet-Packard 8805C, Puerto Rico, EUA). Sinais de pressão VE foram gravados durante um período de 5 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (CODAS, DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA), permitindo a análise dos pulsos de pressão, batimento-a-batimento, com uma frequência de amostragem de 2000 Hz por canal, para estudo dos valores de pressão diastólica final (PDF). O mesmo foi feito em relação ao VD pela veia jugular.

A PDF foi determinada pela detecção manual do ponto de inflexão no traçado da onda de pressão diastólica do VE e do VD.

### 3.5 Eutanásia

Após o término do protocolo experimental, os animais foram decapitados e os tecidos coletados foram pesados e congelados a  $-80^{\circ}\text{C}$

para análises posteriores. Os cadáveres foram colocados em sacos específicos para lixo biológico e mantidos em refrigerador para posteriormente serem incinerados pela empresa responsável.

### **3.6 Análise Estatística**

Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (DP).

O Teste de análise de variância (ANOVA) de dois caminhos foi utilizado para a comparação entre os quatro grupos estudados, seguido do teste complementar de Student Newman Keuls e Kruskal-Wallis, devidamente aplicados para a análise dos dados.

Para se estudar de forma univariada as correlações lineares entre as variáveis, foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson (distribuição paramétrica) e Spearman (distribuição não-paramétrica).

O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

Todos os cálculos foram realizados por meio do sistema SPSS versão 17 (SPSS, Chicago, IL).

## **Resultados**

---

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Efeitos da desnervação sino-aórtica crônica em ratos Wistar e em ratos espontaneamente hipertensos

#### 4.1.1. Peso corporal

Após as 10 semanas de acompanhamento dos grupos, observamos aumento de peso corporal em todos os animais.

Este aumento, entretanto, foi maior nos animais controle do que nos animais hipertensos. A DSA não interferiu nesse ganho de peso (Tabela 1).

**Tabela 1-** Peso corporal inicial e final dos grupos normotensos e hipertensos

	<b>GW</b>	<b>GWDSA</b>	<b>GSHR</b>	<b>GSHRDSA</b>
<b>Inicial (g)</b>	190±11	196±13	208±12* <sup>\$</sup>	205±14* <sup>\$</sup>
<b>Final (g)</b>	351±13 <sup>#</sup>	401±44 <sup>#</sup>	304±21 <sup>#**\$</sup>	283±13 <sup>#**\$</sup>

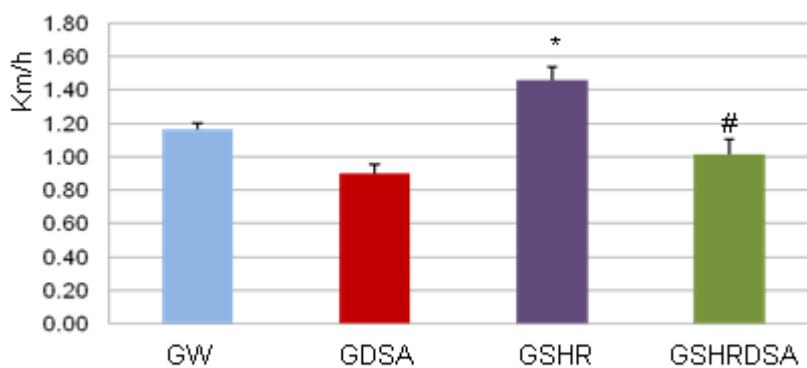
As variáveis estão expressas como média ± DP.

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado.

<sup>#</sup>p<0,05 vs. inicial, \*p<0,05 vs. GW, <sup>\$</sup>p<0,05 vs. GWDSA.

#### 4.1.2. Capacidade Funcional

Observando as velocidades máximas atingidas no TE máximo no final das 10 semanas, vimos que o GSHR atingiu maior velocidade máxima que os outros grupos (Figura 8). A DSA induziu redução da capacidade física, evidenciada por menor velocidade máxima obtida no TE. Os grupos GWDSA e GSHRDSA tiveram redução significativa na velocidade máxima quando comparados ao GSHR (Figura 8).



**Figura 9.** Velocidade máxima obtida no teste de esforço máximo.

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado.

\* $p < 0,05$  vs. GW e # $p < 0,05$  vs. GSHR.

## 4.2 Análises Ecocardiográficas

### 4.2.1. Ecocardiograma transesofágico

#### 4.2.1.1 Análises dos volumes e fração de ejeção do ventrículo direito pelo ecocardiograma transesofágico

O volume máximo do VD aumentou no GSHR em relação aos GW e GDSA, enquanto o volume mínimo aumentou no GSHR e GSHRDSA em relação ao GW (Tabela 2). A fração de ejeção estava reduzida no GSHRDSA em relação ao GW (Tabela 2; Figura 9).

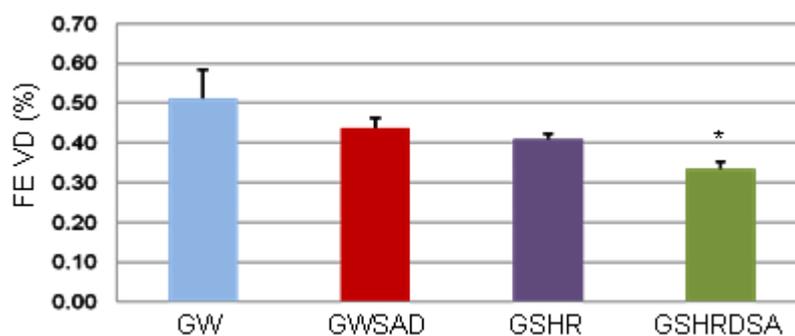
**Tabela 2 – Análise do volume e fração de ejeção do ventrículo direito**

Variáveis	GW	GDSA	GSHR	GSHRDSA
Volume máximo VD/ Peso (ml/kg)	1,50±0,14	1,51±0,18	1,76±0,22*#	1,62±0,15
Volume mínimo VD/ Peso (ml/Kg)	0,75±0,32	0,85±0,16	1,04±0,15*	1,07±0,12*
FE VD (%)	51±0,2	44±0,07	41±0,05	33±0,06*

As variáveis estão expressas como média ± DP

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; FE VD = fração de ejeção do ventrículo direito.

\*p<0,05 vs. GW, #p<0,05 vs. GWDSA.



**Figura 10:** Fração de ejeção do ventrículo direito no quatro grupos de animais. GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; FE VD = fração de ejeção do ventrículo direito. \* $p < 0,05$  vs. GW.

#### 4.2.1.2. Análise da função diastólica biventricular

Na função diastólica do VE foi observado que o GSHR apresentou aumento da relação E/A, do TRIV e da FEAE em relação ao GDSA. Além disso, o GSHR apresentou aumento do TRIV em relação ao GW. No GSHRDSA houve aumento do TRIV em relação ao GW e redução em relação ao GSHR (Tabela 4).

Na função diastólica do VD foi observado aumento da FEAD no GDSA e GSHR em relação ao GW (Tabela 3).

**Tabela 3** – Análise da função diastólica biventricular pelo ecocardiograma transesofágico

Variáveis	GW	GDSA	GSHR	GSHRDSA
<b>Função diastólica VE</b>				
E/A	1,99±0,50	1,38±0,44	2,29±0,88 <sup>#</sup>	1,81±0,31
TD (ms)	40±4	47±8	43±7	47±8
TRIV (ms)	25±1		37±5 <sup>#</sup>	31±6 <sup>**§</sup>
FEAE	0,25±0,04	0,37±0,10*	0,25±0,05 <sup>#</sup>	0,31±0,04
<b>Função diastólica VD</b>				
E/A	1,67±0,35	1,00±0,42	1,06±0,68	1,44±0,76
TD (ms)	47±11	57±17	59±12	63±21
FEAD	0,27±0,05	0,48±0,10*	0,44±0,11*	0,39±0,14

As variáveis estão expressas como média ± DP

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; E/A = relação entre pico de velocidades das ondas E e A obtidas no fluxo de entrada do ventrículo avaliado; TD = tempo de desaceleração da onda E; TRIV = tempo de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo; FEAE = fração de enchimento atrial esquerdo; FEAD = fração de enchimento atrial direito

\*p<0,05 vs. GW, <sup>#</sup>p<0,05 vs. GWDSA e <sup>§</sup>p<0,05 vs. GSHR.

#### 4.2.1.3. Análise da função sistólica e diastólica segmentar biventricular

S': No septo interventricular o GSHRDSA apresentou redução em relação ao GDSA e ao GSHR. Na região lateral do anel mitral, o mesmo grupo apresentou redução em relação ao GW. Enquanto, o S' da região lateral do anel tricúspide do GSHRDSA estava reduzido em relação ao GW e GDSA (Tabela 4, Figura 10).

E': Houve diferença apenas no septo interventricular, com redução no GSHRDSA em relação ao GSHR (Tabela 4).

A': O GDSA apresentou aumento em relação ao GW, enquanto o GSHR e GSHRDSA mostraram redução em relação ao GDSA (Tabela 4).

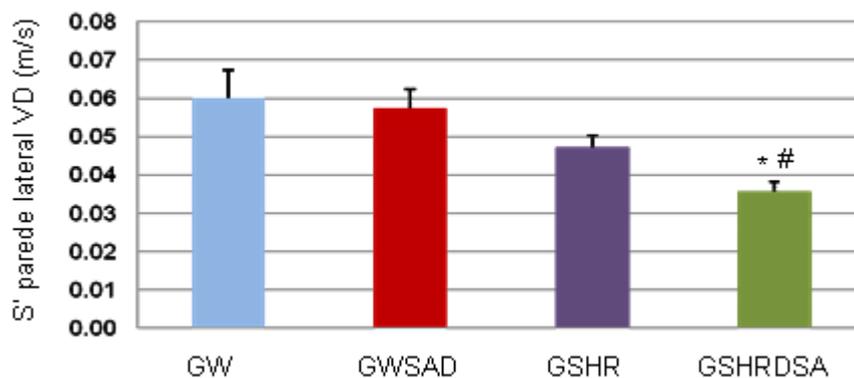
**Tabela 4 – Avaliação da função sistólica e diastólica segmentar pelo Doppler Tecidual**

Variáveis	GW	GDSA	GSHR	GSHRDSA
<b>Anel Mitral - Septo interventricular</b>				
S' (m/s)	0,048±0,015	0,064±0,019	0,054±0,013	0,038±0,008 <sup>#§</sup>
E' (m/s)	0,039±0,010	0,045±0,013	0,049±0,008	0,038±0,007 <sup>§</sup>
A' (m/s)	0,026±0,005	0,043±0,015*	0,029±0,007 <sup>#</sup>	0,025±0,008 <sup>#</sup>
E'/A'	1,50±0,44	1,129±0,34	1,726±0,37	1,679±0,77
<b>Anel Mitral - Parede Lateral</b>				
S' (m/s)	0,055±0,015	0,046±0,011	0,041±0,011	0,036±0,014*
E' (m/s)	0,035±0,01	0,039±0,015	0,034±0,011	0,035±0,009
A' (m/s)	0,028±0,008	0,036±0,021	0,028±0,008	0,026±0,011
E'/A'	1,23±0,20	1,24±0,52	1,35±0,68	1,49±0,58
<b>Anel Tricúspide – Parede Lateral</b>				
S' (m/s)	0,060±0,018	0,058±0,014	0,047±0,011	0,035±0,009* <sup>#</sup>
E' (m/s)	0,042±0,010	0,044±0,012	0,038±0,006	0,036±0,008
A' (m/s)	0,033±0,008	0,044±0,012	0,037±0,013	0,026±0,007 <sup>#</sup>
E'/A'	1,28±0,26	1,08±0,45	1,15±0,48	1,48±0,56

As variáveis estão expressas como média ± DP

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; S' = pico de velocidade da onda sistólica obtida pelo Doppler tecidual; E' = pico de velocidade da onda diastólica precoce obtida pelo Doppler tecidual; A' = pico de velocidade da onda diastólica tardia obtida pelo Doppler tecidual; E'/A' = relação entre pico de velocidades das ondas E' e A'

\*p<0,05 vs. GW, #p<0,05 vs. GWDSA e §p<0,05 vs. GSHR.



**Figura 11:** Pico de velocidade da onda S' da região lateral do anel tricúspide obtida pelo Doppler tecidual. GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; S' = Pico de velocidade da onda S' da região lateral do anel tricúspide obtida pelo Doppler tecidual..

\* $p < 0,05$  vs. GW e # $p < 0,05$  vs. GWDSA.

#### 4.2.1.4. Análise da função global ventricular

Doppler pulsado: O GSHR apresentou aumento do IDM em relação ao GDSA.

Doppler tecidual: Na região lateral do anel mitral, o GSHRDSA apresentou aumento em relação ao GSHR (Tabela 5).

**Tabela 5 – Função Cardíaca Global: Índice de desempenho miocárdica**

Variáveis	GW	GDSA	GSHR	GSHRDSA
<b>Doppler Pulsado</b>				
IDM VE	0,47±0,18	0,39±0,14	0,60±0,15 <sup>#</sup>	0,54±0,16
IDM VD	0,35±0,08	0,34±0,15	0,35±0,17	0,47±0,12
<b>Doppler Tecidual</b>				
IDM septal	1,08±0,48	0,98±0,38	0,78±0,19	0,96±0,51
IDM lateral VE	1,39±0,23	1,02±0,36	0,85±0,32	1,30±0,56 <sup>\$</sup>
IDM lateral VD	1,17±0,33	0,94±0,25	0,85±0,24	1,05±0,28

As variáveis estão expressas como média ± DP

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; IDM = Índice de desempenho miocárdica.

\*p<0,05 vs. GWDSA, <sup>#</sup>p<0,05 vs. GSHR.

#### 4.2.1.5. Análise do fluxo da via de saída do ventrículo direito pelo ecocardiograma transesofágico

Em todos os grupos houve redução do TAc em relação ao GW, sendo que o GSHRDSA apresentou redução em relação ao GDSA. O TAc/TT estava reduzido no GSHR e GSHRDSA em relação ao GW. Da mesma forma, o GSHRDSA estava diminuído em relação ao GDSA (Tabela 6, Figura 11).

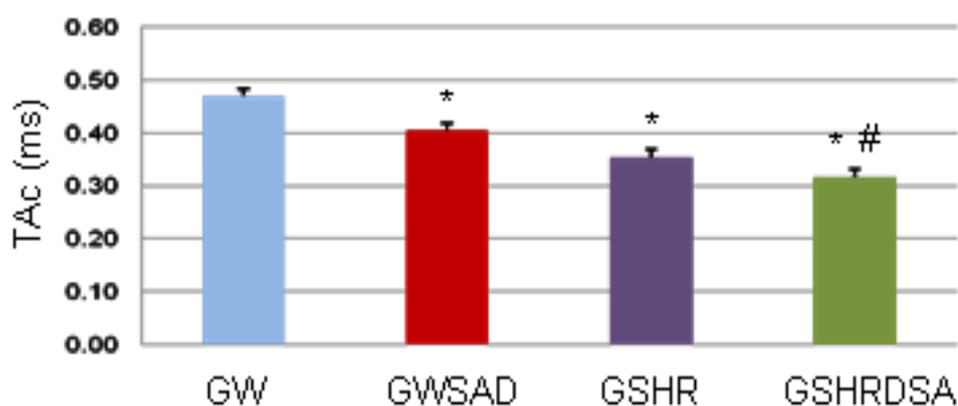
**Tabela 6** – Avaliação do fluxo de via de saída do ventrículo direito

Variáveis	GW	GDSA	GSHR	GSHRDSA
TAc (ms)	40±2,16	33±1,35*	32±1,03*	28±1,48*#
TAc/TT	47±0,04	40±0,02	0,35±0,03*	0,32±0,02*#

As variáveis estão expressas como média ± DP

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; TAc = Tempo de aceleração da artéria pulmonar; TT = via de saída do VD, tempo em que a valva fica aberta.

\*p<0,05 vs. GWDSA, #p<0,05 vs. GSHR.



**Figura 12:** Tempo de aceleração da artéria pulmonar nos quatro grupos de animais. GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; FE VD = fração de ejeção do ventrículo direito.

\*p<0,05 vs. GW e #p<0,05 vs. GWDSA.

## 4.2.2. Ecocardiograma transtorácico

### 4.2.2.1. Análise da morfologia e função cardíaca do ventrículo e átrio esquerdos

O Septo/peso, a MVE/peso e a ERP estavam com a espessura diastólica aumentada nos GSHR e GSHRSAD comparados ao GW e ao GDSA (Tabela 7, Figura 12), sugerindo padrão de remodelamento do tipo

hipertrofia concêntrica.

O AE/peso estava aumentado no GSHRSAD comparado ao GDSA (Tabela 7).

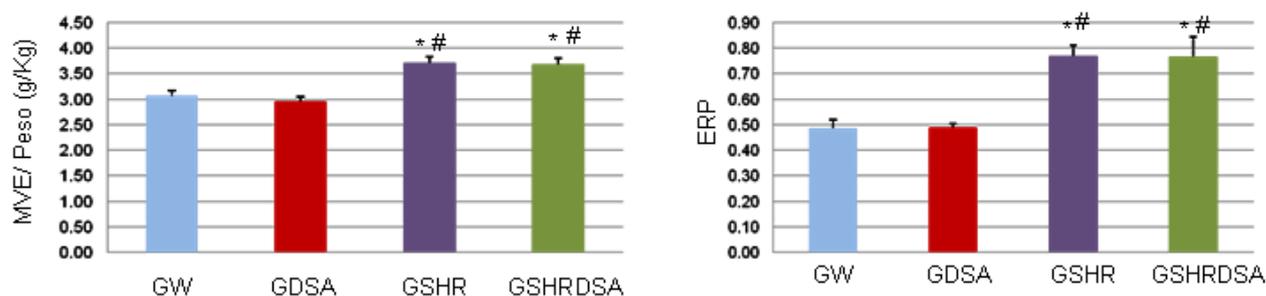
**Tabela 7 – Morfologia e função cardíaca do ventrículo e átrio esquerdos**

Variáveis	GW	GDSA	GSHR	GSHRDSA
<b>Ventrículo esquerdo</b>				
DDVE/Peso (mm/Kg)	1,84±0,30	1,71±0,17	1,71±0,19	1,79±0,44
DSVE/Peso (mm/Kg)	0,80±0,39	0,85±0,14	0,73±0,22	0,74±0,42
Septo/Peso (mm/Kg)	0,41±0,03	0,39±0,03	0,65±0,10 <sup>#</sup>	0,61±0,08 <sup>#</sup>
PP/Peso (mm/Kg)	0,43±0,03	0,42±0,04	0,65±0,10	0,60±0,22
FS (%)	58±14	50±6,7	58±11	59±15
DC (ml/min/Kg)	1,43±0,55	0,81±0,48	1,63±1,15	1,01±0,40
MVE/Peso (g/Kg)	3,06±0,29	2,95±0,29	3,71±0,48 <sup>#</sup>	3,54±0,43 <sup>#</sup>
ERP	0,48±0,09	0,49±0,03	0,77±0,14 <sup>#</sup>	0,76±0,27 <sup>#</sup>
<b>Átrio esquerdo</b>				
Ao (mm)	0,35±0,05	0,37±0,03	0,34±0,04	0,33±0,04
AE (mm)	0,37±0,07	0,40±0,03	0,35±0,04	0,35±0,02
AE/Peso (mm/Kg)	1,06±0,20	1,03±0,15	1,16±0,15	1,23±0,10 <sup>#</sup>
Ao/AE	0,96±0,13	0,93±0,06	0,96±0,09	0,94±0,11

As variáveis estão expressas como média ± DP

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE = diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; Septo = espessura diastólica do septo intervantricular; PP = espessura diastólica da parede posterior do ventrículo esquerdo; FS = fração de encurtamento; DC = débito cardíaco; MVE = massa do ventrículo esquerdo; ERP = espessura relativa da parede; Ao = diâmetro da aorta; AE = diâmetro do átrio esquerdo.

\*p<0,05 vs. GW, <sup>#</sup>p<0,05 vs. GDSA.



**Figura 13:** Massa ventricular esquerda/peso e espessura relativa de parede nos quatro grupos: GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; MVE = massa ventricular esquerda; ERP = espessura relativa de parede. \* $p < 0,05$  vs. GW, # $p < 0,05$  vs. GDSA.

#### 4.2.2.2. Análise do fluxo da via de saída do ventrículo direito pelo ecocardiograma transtorácico

Em todos os grupos houve redução do TAc e TAc/TT em relação ao GW, sendo que o GSHRDSA também apresentou diminuição em relação ao GDSA e ao GSHR. (Tabela 8).

**Tabela 8** – Avaliação do fluxo de via de saída do ventrículo direito

Variáveis	GW	GDSA	GSHR	GSHRDSA
TAc	41±3	32±3*	32±3*	26±4*#§
TA/VSVD	0,37±0,03	0,30±0,04*	0,29±0,05*	0,25±0,04*#§

As variáveis estão expressas como média ± DP

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; TAc = Tempo de aceleração da artéria pulmonar; TT = via de saída do VD, tempo em que a valva fica aberta.

\* $p < 0,05$  vs. GW, # $p < 0,05$  vs. GWDSA, § $p < 0,05$  vs. GSHR.

#### 4.3. Pressão Arterial e Freqüência Cardíaca

A PA e a FC não apresentaram alterações entre os grupos DSA (DSA: 97±5 mmHg; SHR-SAD 163±8 mmHg) e não-DSA (W: 98±6 mmHg;

SHR  $164 \pm 5$  mmHg) ( $p < 0.05$ ), embora os grupos SHR apresentassem níveis mais elevados de PA.

#### **4.4. Sensibilidade Barorreflexa e Modulação Autonômica Cardiovascular**

Conforme esperado, os animais SHR apresentaram sensibilidade barorreflexa diminuída em relação ao GW.

O GSHR apresentou variância aumentada da PAS e variância do PI diminuída, quando comparados ao GW.

Mais uma vez, a HAS mostrou que o sistema nervoso autônomo estava comprometido, uma vez que os animais do GSHR apresentaram maiores valores do componente LF do PI e da PAS quando comparados ao GW.

A DSA também comprometeu o mecanismo barorreflexo, tanto no GSHR quanto no GDSA (GSHRDSA e GDSA), pois os mesmos tiveram diminuição importante na sensibilidade barorreflexa. Essa redução não foi diferente entre o GW e o GSHR. (Figura 13)

Os ratos com a DSA também tiveram prejuízo nas variâncias da PAS e do PI. A DSA, por sua vez, acentuou tal disfunção autonômica em hipertensos, pois o grupo GSHRDSA apresentou aumento do componente LF do PI e da PAS e diminuição do componente HF do PI quando comparados ao GSHR. Adicionalmente, à DSA induziu a redução do componente HF do PI e o aumento do componente LF da PAS no GW. Vale

observar que a modulação autonômica do GW após a DSA (GDSA) foi semelhante a do GSHR (Tabela 9).

**Tabela 9** – Pressão arterial, frequência cardíaca, sensibilidade barorreflexa e modulação autonômica cardiovascular dos grupos normotensos e hipertensos

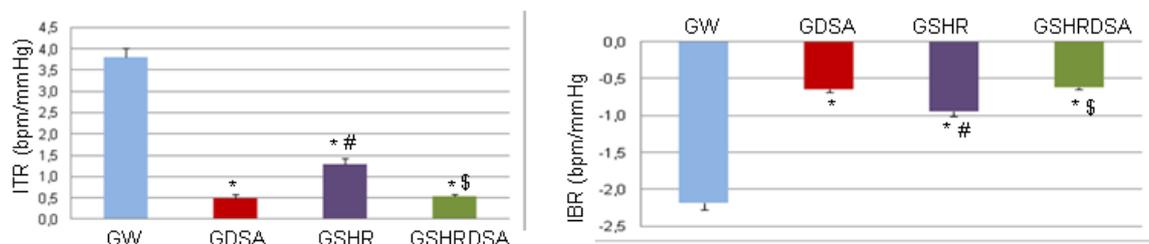
Variáveis	Grupos			
	GW	GSAD	GSHR	GSHRSAD
PI (ms)	180±5	183±4	173±3	167±4
SD PI(ms)	9±0.6	7±0.4*	8±0.8	7±0.9*
PAS (mmHg)	126±4	119±3	190±4* <sup>#</sup>	193±9* <sup>#</sup>
SD PAS(mmHg)	4±3	7±0.8*	7±0.6*	11±1*
VARRR (ms <sup>2</sup> )	91±11	52±7	70±13	60±12
LF (ms <sup>2</sup> )	2.0±0.9	3±0.9	12±3* <sup>#</sup>	9±0.8* <sup>#</sup>
HF (ms <sup>2</sup> )	10±1	9±0.7	30±6* <sup>#</sup>	25±6* <sup>#</sup>
LF%	17±1	23±6	27±4*	28±2*
HF%	82±1	76±6	72±4*	72±2*
LF/HF	0.22±0.02	0.35±0.1	0.41±0.08	0.34±0.05
VAR PAS (mmHg <sup>2</sup> )	16±2	50±11	60±10	137±28* <sup>#</sup> \$
LF (mmHg <sup>2</sup> )	3±0.6	6±2	14±2* <sup>#</sup>	20±5* <sup>#</sup>
IBR (bpm/mmHg)	2±0.09	0.7±0.04* <sup>\$</sup>	1±0.06*	0.6±0.03* <sup>\$</sup>
ITR (bpm/mmHg)	3.8±0.2	0.49±0.08* <sup>\$</sup>	1.29±0.15*	0.54±0.06* <sup>\$</sup>
FC (bpm)	334±10	327±8	347±6	358±9

As variáveis estão expressas como média ± DP.

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado. PI = intervalo de pulso; SD PI= desvio padrão do intervalo de pulso; PAS = pressão arterial sistólica; SD PAS= desvio padrão da pressão arterial sistólica; VARRR = variância do intervalo de pulso; LF (ms<sup>2</sup>)= componente de baixa frequência do intervalo de pulso; HF (ms<sup>2</sup>) = componente de alta frequência do intervalo de pulso; LF (%)= componente de baixa frequência do intervalo de pulso normalizado; HF (%)=

componente de alta frequência do intervalo de pulso normalizado; VARPAS = variabilidade da pressão arterial sistólica; LF ( $\text{mmHg}^2$ ) = componente de baixa frequência da pressão arterial sistólica; IBR = índice de bradicardia reflexa; ITR = índice de taquicardia reflexa; FC = frequência cardíaca.

\* $p < 0,05$  vs. GW, #  $p < 0,05$  vs. GDSA e \$  $p < 0,05$  vs. GSHR.



**Figura 14. - Sensibilidade barorreflexa:** respostas bradicárdica e taquicárdica à infusão de drogas vaso ativas nos grupos. GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; IBR = índice de bradicardia reflexa; ITR = índice de taquicardia reflexa.

\* $p < 0,05$  vs. GW, #  $p < 0,05$  vs. GDSA e \$  $p < 0,05$  vs. GSHR.

#### 4.5 Medidas Invasivas de Pressão Diastólica Ventricular Esquerda e Direita

Os animais dos três grupos apresentaram elevação das PDF VD e PDF VE em relação ao GW. Da mesma forma os grupos GSHRDSA apresentaram elevação das PDF VD e PDF VE em relação ao GDSA. Apenas na PDF VD, o GSHR estava menor que o GDSA (Tabela 10; Figura 14).

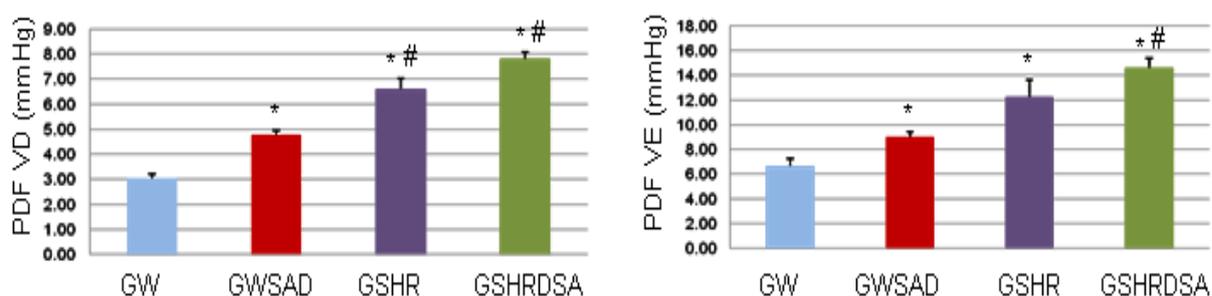
**Tabela 10** – Pressões diastólicas finais biventriculares

VARIÁVEL	GW	GWDSA	GSHR	GSHRDSA
PDF VD(mmHg)	3 ± 0,39	4,7 ± 0,52*	6,61 ± 1,16*#	7,8 ± 0,87*#
PDF VE(mmHg)	3 ± 0,19	8,98 ± 1,2*	12,51 ± 4,73*	14,57 ± 2,52*#

As variáveis estão expressas como média ± DP.

GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado; PDF VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; PDF VD = pressão diastólica final do ventrículo direito

\*p<0,05 vs. GW, #p<0,05 vs. GWDSA.



**Figura 15:** Pressões diastólicas finais biventriculares nos quatro grupos de animais.

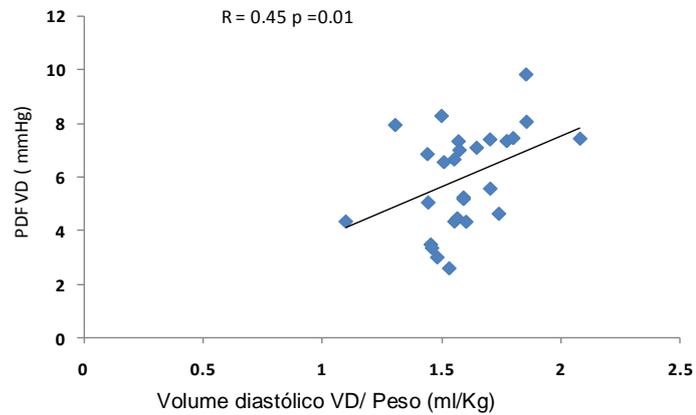
PDF VD = pressão diastólica final do ventrículo direito, PDF VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; GW= grupo Wistar; GWDSA= grupo Wistar desnervado; GSHR= grupo hipertenso; GSHRDSA= grupo hipertenso desnervado.

\*p<0,05 vs. GW, #p<0,05 vs. GWDSA.

#### 4.6. Relações entre Variáveis

##### 4.6.1. Volume ventricular e pressão diastólica ventricular

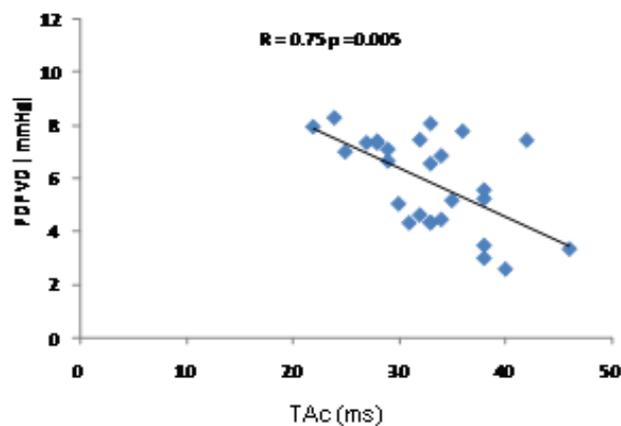
Houve correlação positiva entre o volume diastólico ventricular direito e pressão diastólica final ventricular direita ( $r= 0,45$ ;  $p= 0,01$ ) (Figura 15).



**Figura 16:** Correlação entre o volume diastólico ventricular direito e pressão diastólica final ventricular direita.

#### 4.6.2. Tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito e pressão diastólica ventricular direita

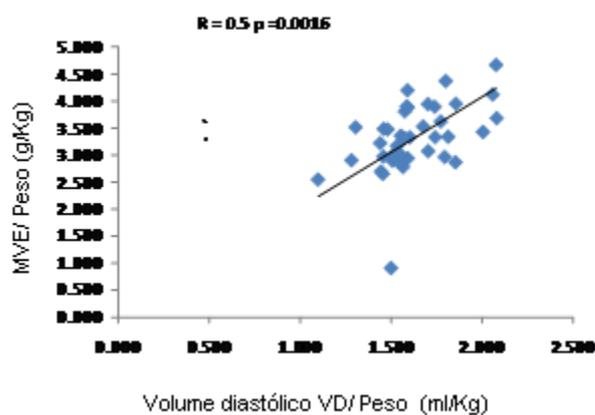
Houve correlação negativa entre o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito e pressão diastólica final ventricular direita ( $r = 0,75$ ;  $p = 0,005$ ) (Figura 16).



**Figura17:** Correlação entre o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito e pressão diastólica final ventricular direita.

#### 4.6.3. Massa ventricular esquerda e o volume diastólico ventricular direito

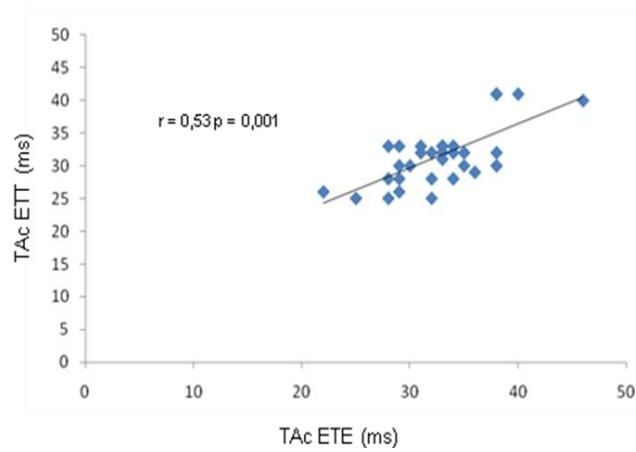
Houve correlação positiva entre a massa ventricular esquerda e o volume diastólico ventricular direito ( $r = 0,5$ ;  $p = 0,0016$ ) (Figura 17).



**Figura 18:** Correlação entre a massa ventricular esquerda e o volume diastólico ventricular direito.

#### 4.6.4. Tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito

Houve correlação positiva entre o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito obtido pelo ecocardiograma transtorácico com o transesofágico ( $r = 0,53$ ;  $p = 0,001$ ) (Figura 18).



**Figura 19:** Correlação entre o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito obtido pelo ecocardiograma transtorácico com o transesofágico.

**Discussão**

---

## 5. DISCUSSÃO

De fato, no presente estudo, verificamos que após 10 semanas de DSA o prejuízo da sensibilidade barorreflexa modificou significativamente as variáveis cardíacas, funcionais e autonômicas em ratos W, bem como acentuou os prejuízos já presentes na hipertensão.

Como esperado, o ganho de massa corporal ao longo do período não foi influenciado pela DSA. No entanto, os animais SHR ganharam menos peso, o que é característico desta linhagem (Bell *et al.*, 2004).

A DSA no rato descrita por Krieger (1964), tem sido utilizada como modelo para avaliar o papel do barorreflexo em diferentes situações fisiológicas e patológicas (Alexander *et al.*, 1990; Irigoyen e Krieger, 1998; Miao *et al.*, 2006; Ceroni *et al.*, 2009). Em sua primeira descrição foi apresentada como um modelo de hipertensão neurogênica, mas atualmente tem sido utilizada como um modelo de variabilidade da PA, uma vez que a hipertensão seguida de taquicardia, vistas agudamente (24h), retornavam a níveis de normalidade na fase crônica (Norman *et al.*, 1981; Vasquez e Krieger, 1982; Franchini e Krieger, 1992). Da mesma forma, a hiperatividade simpática para o território renal, detectada na fase aguda, também se restabelece e volta ao normal na fase crônica. Entretanto, o aumento da variabilidade da PA na DSA crônica se mantém (Irigoyen *et al.*, 1995). Este achado tem confirmado o uso da DSA como modelo de variabilidade da PA e da disfunção barorreflexa.

Em acordo com estes conceitos, nesse trabalho os grupos desnervados não apresentaram quaisquer mudanças na PA e FC basais e

mantiveram a variabilidade da PA aumentada. Adicionalmente, nos animais W, apesar do aumento numérico, não houve diferença significativa na modulação simpática avaliada pelo componente de baixa frequência (LF) da FC nos DAS e nos intactos. Por outro lado, os SHR mostraram um aumento deste componente que se manteve aumentado após a DSA, em comparação ao grupo controle. Em ambos os grupos DSA, houve redução da variabilidade do intervalo de pulso avaliada pelo desvio padrão da média, e aumento da variabilidade da PAS expressa pelo mesmo índice. A variabilidade da PAS expressa pela variância total, também foi maior nos grupos DSA, e adicionalmente aumentada no grupo SHRDSA. A sensibilidade do barorreflexo estava menor nos SHR, e adicionalmente reduzida nos grupos DSA, hipertensos ou não. Estes achados evidenciam o grau de disfunção autonômica observado nesses animais, o que provavelmente contribuiu para o desempenho inferior dos ratos SHRDSA quando comparados ao SHR no TE máximo. Além disso, a dificuldade de atuação do SNA para promover os ajustes durante o esforço (Collins, 2001; Chandler e Di Carlo, 1997; Moraes-Silva *et al.*, 2010; Chandler e Di Carlo, 1997), também devem ter contribuído para uma menor eficiência do sistema cardiovascular. Vale ressaltar que o controle periférico da atividade simpática pode ter sido afetado não só pela desaferentação dos barorreceptores, mas também pela desaferentação concomitante dos quimiorreceptores presentes na região aórtica e carotídea, característico da DSA (Van Vliet, 1999).

Essas evidências da disfunção autonômica (aumento do simpático, diminuição da sensibilidade do barorreflexo e variabilidade da PA constantemente aumentada) também podem explicar as alterações estruturais encontradas nos animais SHR e nos grupos submetidos à DSA. O aumento da variabilidade da PA pela interrupção das aferências carotídeas e aórticas, liberando o simpático de sua inibição tônica, tem sido associado com lesões de órgãos-alvo, mais do que a própria PA constantemente elevada (Miao *et al.*, 2006).

No presente estudo, os SHR com ou sem DSA apresentaram aumento da MVE, da espessura relativa da parede e do septo interventricular corrigido pelo peso, indicando claramente o processo de hipertrofia cardíaca concêntrica nesses grupos, provavelmente acompanhado de grande aumento da fibrose miocárdica (Carabello, 2002). Em adição, a redução da onda S' do septo interventricular e da região lateral do anel mitral no grupo SHRDSA em relação aos SHR não desnervados e ao controle desnervado indicam disfunção sistólica segmentar do VE, mesmo em presença da função sistólica preservada nesses animais. Saliente-se que esse é o primeiro trabalho a descrever a função sistólica e diastólica segmentar obtidas pelo Doppler tecidual nesse modelo.

Quanto à função diastólica do VE, não se observou diferença entre os grupos, com exceção do TRIV, que foi maior nos SHR com ou sem DAS em relação ao W, indicando disfunção diastólica nos hipertensos. Houve redução no grupo SHRDSA em relação aos SHR, o que poderia indicar disfunção diastólica mais avançada nesse grupo, visto que o tamanho do

átrio esquerdo também é maior em SHRDSA em relação aos não DSA. Estudo prévio de nosso grupo mostrou, de fato, prejuízo da função diastólica em animais normotensos DSA, independente da variação dos níveis pressóricos (Mostarda *et al.*, 2010).

A análise da função cardíaca global pelo IDM do VE, avaliado pelo Doppler pulsátil, foi maior no SHR em relação ao W, como esperado. Entretanto, esse mesmo índice avaliado pelo Doppler tecidual do VE, foi maior no SHRDSA quando comparado ao SHR, sugerindo que a disfunção barorreflexa pudesse induzir um prejuízo adicional nesse índice. A importância desse achado reside no fato desse índice ter valor prognóstico em várias cardiopatias, incluindo pacientes com hipertensão arterial pulmonar (Tei *et al.*, 1996), abrindo a possibilidade de ser usado futuramente como tal, frente à disfunção barorreflexa e sua repercussão funcional sobre o coração (Moller *et al.*, 2001). Outra vantagem é o fato de ser um índice reprodutível e não ser baseado em modelos geométricos da função ventricular. Vale lembrar que o Doppler tecidual pode ter produzido um resultado mais consistente, visto que a avaliação da função sistólica e diastólica foi realizada no mesmo ciclo cardíaco.

Diferentemente do encontrado previamente em nosso laboratório (Moraes-Silva, *et al.*, 2010), não se observou variações da morfologia do VE no WDSA no presente trabalho. Tal diferença pode ser atribuída ao processo de desnervação, que não necessariamente é homogêneo em todos os animais, visto haver fibras aferentes com trajetos diferenciados em direção ao sistema nervoso central, correndo dentro do nervo vago, por exemplo.

A hipertrofia ventricular esquerda é uma adaptação reconhecida do miocárdio para reduzir o estresse pressórico sobre as paredes da câmara ventricular (Bing *et al.*, 1995). A alteração na massa e na geometria da câmara permite que o ventrículo se adapte ao aumento de trabalho cardíaco mantendo a sua fração de ejeção. Se o estímulo for persistente, surgirão alterações na função miocárdica que levam à insuficiência cardíaca (Cicogna *et al.*, 1997). O remodelamento cardíaco, assim como o vascular, é uma alteração presente na hipertensão que pode estar relacionada a diferentes mecanismos fisiopatogênicos que se sobrepõem com o avanço da doença. Um deles é o aumento de angiotensina II (Laragh e Mancia, 1992). A hipertrofia ventricular esquerda observada em animais SHR, evidenciada pela relação peso ventricular esquerdo/peso corporal está aumentada em 20 semanas e associada com o aumento da expressão do gene da ECA (Schunkert *et al.*, 1990), sugerindo a participação do sistema renina-angiotensina no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. A compensação das sobrecargas hemodinâmicas pela hipertrofia pode ser vista como uma alça de retro-alimentação iniciada pelo aumento da tensão na parede das câmaras cardíacas, provocando aumento da síntese protéica, que, por sua vez, reduz a tensão provocada pela sobrecarga. As sobrecargas de pressão produzem sinais mecânicos que provocam a replicação dos sarcômeros em paralelo, o que leva a um aumento da espessura e à conseqüente redução na tensão da parede da câmara. Da mesma forma, a persistência do estímulo mecânico causada por resposta funcional ou fenotípica inapropriada dos cardiomiócitos leva à dilatação progressiva do VE e

alterações na estrutura do miocárdio, onde coexistem a hipertrofia e a degeneração dos cardiomiócitos (Braunwald e Bristow, 2000).

Considerando ainda a alta variabilidade da PA na hipertensão e na DSA, e quando essas condições estão associadas, a hipertrofia do VD também tem sido relatada (Van Vliet, 1999), embora nem sempre encontrada (Miao *et al.*, 2003). Os autores inclusive relatam que o aumento do VD encontrado por Van Vliet pode ser devido ao tipo de medida, pois o aumento do peso do VD está correlacionado à redução do peso corporal. Associado a isso, Miao e cols, em 2003 fazem referência a dados não publicados de seu laboratório, no qual encontraram aumento de 22% no VD e redução de 6% no peso corporal dos ratos normotensos após a DSA.

A avaliação dos resultados morfológicos e da função do VD, pelo uso do eco transesofágico, demonstraram que tanto o volume máximo (diástole), como o volume mínimo (sístole) do VD estão maiores nos hipertensos, desnervados ou não, sugerindo que a HAS associada ou não a disfunção do VE, pode estar relacionada a essas alterações morfológicas do VD. Nesse sentido vale ressaltar que embora a recomendação da sociedade americana de ecocardiografia (Rudski *et al.*, 2010) seja de que se use as áreas nas avaliações morfológicas de VD, e não o volume, conforme mostrado nesse trabalho, que pode também ser um indicador dessas alterações, uma vez que foi obtido pelo eco bidimensional. Além disso, houve uma correlação positiva entre a MVE e o volume máximo do VD, dando suporte a hipótese anterior. Adicionalmente, a fração de ejeção

do VD estava reduzida nos SHRDSA, indicando um prejuízo da função maior nesse grupo.

A PDF do VD foi maior nos grupos experimentais em relação ao grupo controle intacto, indicando que tanto a desnervação como a hipertensão associada ou não a DSA, promoveram disfunção diastólica do VD. Além disso, foi obtida uma boa correlação entre a PDF do VD e o volume máximo do VD, indicando disfunção do VD por ambas abordagens: invasiva e não invasiva.

É possível que a diminuição do tempo de aceleração do fluxo da via de saída do VD nos grupos DSA, SHR e SHRDSA, tenha levado à hipertensão pulmonar, e conseqüentemente à hipertrofia do VD, especialmente porque a DSA realizada incluiu a remoção das aferências quimiorreceptoras. De fato, trabalho prévio de nosso grupo, ainda não publicado mostrou aumento da expressão de genes fetais no VD de animais desnervados, hipertensos ou não, indicando fortemente o desencadeamento de um processo de hipertrofia das paredes dessa cavidade (Flues K, 2011, submetido). Além disso, nossas considerações anteriores estão de acordo com a hipótese de Van Vliet (1999), a qual indica que na DSA a hipertrofia do VD está presente devido à desnervação concomitante dos quimiorreceptores, havendo, inclusive repercussões sobre a circulação pulmonar, o que aumentaria o estímulo para a hipertrofia da câmara direita do coração. Em acordo com essas idéias, as medidas de TAc obtidas no presente estudo, tanto pela ecocardiografia ETT quanto ETE, foram sinalizadoras indiretas de hipertensão pulmonar, que associada

com a queda da fração de ejeção do VD e da velocidade sistólica da região lateral do anel tricúspide pelo Doppler tecidual, reforçam a possibilidade da elevação da pressão pulmonar no grupo SHRDSA. Acrescente-se a essa informação, a boa correlação obtida entre as medidas efetuadas pelo eco TT e TE ( $r= 0,53$ ,  $p= 0.001$ ). Fica, entretanto, uma questão não bem resolvida: não se sabe qual a importância relativa da disfunção do VE e do papel da provável hipertensão pulmonar sobre a disfunção do VD nesse grupo.

A fibrose miocárdica é um acúmulo desproporcional de fibras colágenas no tecido cardíaco. Como estrutura protéica, o colágeno pode ser considerado tecido inerte, repositório de necrose, num processo denominado fibrose reparativa. Estudos mostraram que o acúmulo reativo de colágeno ocorre no miocárdio e é expresso como fibrose perivascular das artérias coronárias intramiocárdicas, se estendendo para as regiões vizinhas. Esta fibrose reativa aumenta a rigidez tecidual (Montes, 1996).

As fibras elásticas são também componentes importantes nas estruturas cardíaca e vascular, conferindo-lhes maior elasticidade. Há muito se sabe que a elasticidade presente no tecido conjuntivo exerce importante função protetora ao atuar como uma mola tênsil durante o trabalho muscular (Montes, 1996). Na HAS pode haver uma maior destruição de fibras elásticas decorrentes do processo fisiopatológico da hipertensão ou mesmo uma alteração na elastogênese (Arribas *et al.*, 2006). Assim, a HAS poderia contribuir para uma menor concentração de fibras elásticas, tanto cardíacas quanto vasculares, conferindo ao coração uma estrutura menos elástica, o

que dificultaria a contratilidade. Esta morfologia do coração seria, portanto, responsável pela condição da estrutura do coração na insuficiência cardíaca, que não por acaso, pode ser uma consequência da hipertensão crônica. As alterações do sistema elástico ocorrem concomitantemente ao acúmulo de colágeno. Na HAS, achados de Deyl e cols. (1985, 1987), sugerem haver diferentes tipos de elastina, cuja proporção estaria alterada na HAS. Muitos estudos, embora não conclusivos, sobre vias gênicas regulatórias dos processos de hipertrofia patológica e fisiológica podem ser encontrados na literatura (Wakatsuki *et al.*, 2004; Heineke e Molkentin, 2006; McMullen e Jennings, 2007). Vale lembrar que a disfunção do VE é estruturalmente verificada pelo desequilíbrio entre elementos contráteis e elásticos, os quais podem ter como causa principal a disfunção autonômica. As alterações autonômicas e cardiovasculares decorrentes da hipertensão, bem como da DSA, têm sua gênese em mecanismos neurogênicos semelhantes, ou seja, devido à perda de um controle ideal do tamponamento das variações pressóricas.

### **5.1. Considerações finais**

Em síntese, observamos que a ausência do controle reflexo da circulação exercido predominantemente pelos barorreceptores, induz prejuízos funcionais e estruturais tanto em animais normotensos quanto em hipertensos. A hipertensão associada ou não a DSA induz a hipertrofia cardíaca concêntrica de VE, enquanto a DAS associada à hipertensão reduz

o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do VD. Nossos resultados sugerem que a disfunção baroreflexa participa do comprometimento da função VD. Além disso, as mudanças observadas nos índices ecocardiográficos sugerem que a DSA pode induzir hipertensão pulmonar, reforçando o papel da disfunção barorreflexa na patogênese da doença cardíaca hipertensiva.

## **5.2. Limitações do estudo**

Para realização do ecocardiograma transesofágico foi necessária a intubação orotraqueal dos animais, pela depressão respiratória que ocorre durante a manipulação do transdutor transesofágico no esôfago médio.

**Conclusões**

---

## 6. Conclusões

Este estudo permitiu identificar as seguintes ocorrências em ratos Wistar normotensos e ratos espontaneamente hipertensos com e sem desnervação sino-aórtica (10 semanas):

- hipertrofia concêntrica do VE; disfunção sistólica segmentar e diastólica global do VE; disfunção sistólica global e segmentar, e diastólica global do VD; sinais indiretos de hipertensão arterial pulmonar, avaliados pela ecocardiografia, e mais evidentes no grupo espontaneamente hipertenso com desnervação sino-aórtica;
- os ratos espontaneamente hipertensos apresentaram melhor capacidade funcional em relação aos ratos wistar desnervado, enquanto os ratos espontaneamente hipertensos desnervados mostraram diminuição em relação aos ratos espontaneamente hipertensos;
- elevação das pressões de enchimento biventriculares em todos os grupos, comparados com o grupo Wistar;
- aumento da modulação da atividade simpática e redução da parassimpática cardíaca; desequilíbrio do controle autonômico cardiovascular, mais evidente nos animais desnervados;

- relação negativa entre pressão diastólica final do VD com o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do VD, e positiva com o volume máximo de VD, sugerindo boa acurácia do ecocardiograma na avaliação do VD em pequenos animais.

**Referências bibliográficas**

---

## 7. Referências bibliográficas

ALEXANDER N, KANEDA N, ISHII A, MOGI M, HARADA M, NAGATSU T. Right-left asymmetry of tyrosine hydroxylase in rat median eminence: influence of arterial baroreflex nerves. *Brain Res*1990 23;523(2):195-8.

ARRIBAS SM, HINEK A, GONZALEZ MC. Elastic fibres and vascular structure in hypertension. *Pharmacol Ther* 2006;111(3):771-91.

BARRES C, LEWIS SJ, JACOB HJ, BRODY MJ. Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. *Am J Physiol*1992;263(3 Pt 2):R639-46.

BELL D, KELSO EJ, ARGENT CC, LEE GR, ALLEN AR, MCDERMOTT BJ. Temporal characteristics of cardiomyocyte hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. *Cardiovasc Pathol*2004;13(2):71-8.

BING OH, BROOKS WW, ROBINSON KG, SLAWSKY MT, HAYES JA, LITWIN SE, *et al.* The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27(1):383-96.

BRISTOW MR, ZISMAN LS, LOWES BD, ABRAHAM WT, BADESCH DB, GROVES BM, *et al.* The pressure-overloaded right ventricle in pulmonary hypertension. *Chest*1998;114(1 Suppl):101S-6S.

BROOKSBY P, LEVI AJ, JONES JV. Investigation of the mechanisms underlying the increased contraction of hypertrophied ventricular myocytes isolated from the spontaneously hypertensive rat. *Cardiovasc Res* 1993;27(7):1268-77.

- CAI GJ, MIAO CY, XIE HH, LU LH, SU DF. Arterial baroreflex dysfunction promotes atherosclerosis in rats. *Atherosclerosis* 2005;183(1):41-7.
- CARABELLO BA. Concentric versus eccentric remodeling. *J Card Fail* 2002;8(6 Suppl):S258-63.
- CERONI A, CHAAR LJ, BOMBEIN RL, MICHELINI LC. Chronic absence of baroreceptor inputs prevents training-induced cardiovascular adjustments in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Exp Physiol* 2009;94(6):630-40.
- CHOCKALINGAM A, CHALMERS J, WHITWORTH J, ERDINE S, MANCIA G, MENDIS S, et al. Antalya statement of the International Society of Hypertension on the prevention of blood pressure-related diseases. *J Hypertens* 2008;26(12):2255-8.
- CICOGNA AC, ROBINSON KG, CONRAD CH, SQUIRE R, OKOSHI MP, BING OH. [Role of myocardial contractile status and relaxation in ventricular dysfunction during the transition of heart hypertrophy to failure]. *Arq Bras Cardiol* 1997;69(6):381-4.
- COLLINS SM. Emerging methods for the physiological assessment of occupational stress. *Work* 2001;17(3):209-19.
- DEQUATTRO V, FENG M. The sympathetic nervous system: the muse of primary hypertension. *J Hum Hypertens* 2002;16 Suppl 1:S64-9.
- DEVEREUX RB, ALONSO DR, LUTAS EM, GOTTLIEB GJ, CAMPO E, SACHS I, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 1986 15;57(6):450-8.

DEVEREUX RB. Detection of left ventricular hypertrophy by M-mode echocardiography. Anatomic validation, standardization, and comparison to other methods. *Hypertension* 1987;9(2 Pt 2):119-26.

DEYL Z, HORAKOVA M, MACEK K. Changes in elastin composition in aorta of spontaneously hypertensive rats (SHR). *Biochem Biophys Res Commun* 1985 31;129(1):179-86.

DEYL Z, JELINEK J, MACEK K, CHALDAKOV G, VANKOV VN. Collagen and elastin synthesis in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Blood Vessels* 1987;24(6):313-20.

FLORAS JS, HASSAN MO, JONES JV, OSIKOWSKA BA, SEVER PS, SLEIGHT P. Factors influencing blood pressure and heart rate variability in hypertensive humans. *Hypertension* 1988 ;11(3):273-81.

FLORAS JS, HASSAN MO, JONES JV, OSIKOWSKA BA, SEVER PS, SLEIGHT P. Consequences of impaired arterial baroreflexes in essential hypertension: effects on pressor responses, plasma noradrenaline and blood pressure variability. *J Hypertens* 1988;6(7):525-35.

FORTUNO MA, RAVASSA S, FORTUNO A, ZALBA G, DIEZ J. Cardiomyocyte apoptotic cell death in arterial hypertension: mechanisms and potential management. *Hypertension* 2001 1;38(6):1406-12.

FRANCHINI KG, CESTARI IA, KRIEGER EM. Restoration of arterial blood oxygen tension increases arterial pressure in sinoaortic-denervated rats. *Am J Physiol* 1994;266(3 Pt 2):H1055-61.

FRANCHINI KG, KRIEGER EM. Carotid chemoreceptors influence arterial pressure in intact and aortic-denervated rats. *Am J Physiol*1992;262(4 Pt 2):R677-83.

GALINIER M, ROUGE P, ALBENQUE JP, ASSOUN B, MASSABUAU P, FAUVEL JM, *et al.* [Absence of the effect of nitric oxide on pulmonary and systemic hypertension induced by sino-aortic denervation]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1995;88(8):1209-12.

GANAU A, DEVEREUX RB, ROMAN MJ, DE SIMONE G, PICKERING TG, SABA PS, *et al.* Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*1992;19(7):1550-8.

GAO Z, LI J, KEHOE V, DAVIDSON WR, JR., SINOWAY L, Pu M. An initial application of transesophageal Doppler echocardiography in experimental small animal models. *J Am Soc Echocardiogr* 2005;18(6):626-31.

HEAD GA, ADAMS MA. Time course of changes in baroreceptor reflex control of heart rate in conscious SHR and WKY: contribution of the cardiac vagus and sympathetic nerves. *Clin Exp Pharmacol Physiol*1988;15(4):289-92.

HOIT BD. Echocardiographic characterization of the cardiovascular phenotype in rodent models. *Toxicol Pathol* 2006;34(1):105-10.

IRIGOYEN M, LARUSSA P, FINDLEY SE, CHEN S, CAESAR A, TESLER P. Impact of the Advisory Committee on Immunization Practices' 4-day grace period in a low-income community. *Am J Prev Med* 2003;25(3):245-50.

- IRIGOYEN MC, CESTARI IA, MOREIRA ED, OSHIRO MS, KRIEGER EM. Measurements of renal sympathetic nerve activity in conscious sinoaortic denervated rats. *Braz J Med Biol Res* 1988;21(4):869-72.
- IRIGOYEN MC, KRIEGER EM. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. *Braz J Med Biol Res* 1998;31(9):1213-20.
- IRIGOYEN MC, MOREIRA ED, IDA F, PIRES M, CESTARI IA, KRIEGER EM. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 1995;26(6 Pt 2):1111-6.
- JONES JV, FLORAS JS. Baroreflex sensitivity changes during the development of Goldblatt two-kidney one-clip hypertension in rats. *Clin Sci (Lond)* 1980;59(5):347-52.
- KACIMI R, GERDES AM. Alterations in G protein and MAP kinase signaling pathways during cardiac remodeling in hypertension and heart failure. *Hypertension* 2003;41(4):968-77.
- KANNEL WB. Hypertension as a risk factor for cardiac events--epidemiologic results of long-term studies. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;21 (2):S27-37.
- KRIEGER EM, BRUM PC, NEGRAO CE. State-of-the-Art lecture: influence of exercise training on neurogenic control of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1999;34(4 Pt 2):720-3.
- KRIEGER EM, MARSEILLAN RF. Aortic Depressor Fibers in the Rat: An Electrophysiological Study. *Am J Physiol* 1963;205:771-4.
- KRIEGER EM, SALGADO HC, MICHELINI LC. Resetting of the baroreceptors. *Int Rev Physiol* 1982;26:119-46.

KRIEGER EM. Arterial baroreceptor resetting in hypertension (the J. W. McCubbin memorial lecture). *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl* 1989;15:3-17.

KRIEGER EM. Neurogenic Hypertension in the Rat. *Circ Res*1964;15:511-21.

LA ROVERE MT, BIGGER JT, JR., MARCUS FI, MORTARA A, SCHWARTZ PJ. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Lancet*1998 14;351(9101):478-84.

LANG RM, BIERIG M, DEVEREUX RB, FLACHSKAMPF FA, FOSTER E, PELLIKKA PA, *et al.* Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005;18(12):1440-63.

LANGE B, CLOSE P, BURY T. [Exercise spirometry in medical practice]. *Rev Med Liege* 2001;56(4):228-32.

LARAGH JH, MANCIA G. A symposium: systemic hypertension: contribution of trandolapril, a new angiotensin-converting enzyme inhibitor, toward patient protection. Introduction. *Am J Cardiol* 1992; 29;70(12):1D-3D.

LO M, JULIEN C, MICHEL JB, VINCENT M, CERUTTI C, GOMEZ-SANCHEZ CE, *et al.* Antirenin immunization versus angiotensin converting enzyme inhibition in rats. *Hypertension* 1990;16(1):80-8.

LOPES HF, SILVA HB, SOARES JA, FILHO B, CONSOLIM-COLOMBO FM, GIORGI DM, *et al.* Lipid metabolism alterations in normotensive subjects with positive family history of hypertension. *Hypertension* 1997 30(3 Pt 2):629-31.

MANCIA G, GRASSI G, PARATI G, DAFFONCHIO A. Evaluating sympathetic activity in human hypertension. *J Hypertens Suppl* 1993;11(5):S13-9.

MASUZAKI H, JINGAMI H, MATSUOKA N, NAKAGAWA O, OGAWA Y, MIZUNO M, *et al.* Regulation of very-low-density lipoprotein receptor in hypertrophic rat heart. *Circ Res* 1996;78(1):8-14.

MIAO CY, SU DF. The importance of blood pressure variability in rat aortic and left ventricular hypertrophy produced by sinoaortic denervation. *J Hypertens* 2002;20(9):1865-72.

MIAO CY, XIE HH, ZHAN LS, SU DF. Blood pressure variability is more important than blood pressure level in determination of end-organ damage in rats. *J Hypertens* 2006 24(6):1125-35.

MIAO CY, YUAN WJ, SU DF. Comparative study of sinoaortic denervated rats and spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2003;16(7):585-91.

MICHELINI FM, BERRA A, ALCHE LE. The in vitro immunomodulatory activity of a synthetic brassinosteroid analogue would account for the

improvement of herpetic stromal keratitis in mice. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008;108(1-2):164-70.

MILAN A, CASERTA MA, DEL COLLE S, DEMATTEIS A, MORELLO F, RABBIA F, *et al.* Baroreflex sensitivity correlates with left ventricular morphology and diastolic function in essential hypertension. *J Hypertens* 2007;25(8):1655-64.

MOLLER JE, SONDERGAARD E, POULSEN SH, SEWARD JB, APPLETON CP, EGSTRUP K. Color M-mode and pulsed wave tissue Doppler echocardiography: powerful predictors of cardiac events after first myocardial infarction. *J Am Soc Echocardiogr* 2001;14(8):757-63.

MONTES GS. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biol Int* 1996;20(1):15-27.

MORAES-SILVA IC, DE LA FUENTE RN, MOSTARDA C, ROSA K, FLUES K, Damaceno-Rodrigues NR, *et al.* Baroreflex deficit blunts exercise training-induced cardiovascular and autonomic adaptations in hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 37(3):e114-20.

MORTARA A, LA ROVERE MT, PINNA GD, PARZIALE P, MAESTRI R, CAPOMOLLA S, *et al.* Depressed arterial baroreflex sensitivity and not reduced heart rate variability identifies patients with chronic heart failure and nonsustained ventricular tachycardia: the effect of high ventricular filling pressure. *Am Heart J* 1997;134(5 Pt 1):879-88.

MOSTARDA C, MORAES-SILVA IC, MOREIRA ED, MEDEIROS A, PIRATELLO AC, CONSOLIM-COLOMBO FM, CALDINI EG, BRUM PC, KRIEGER EM, IRIGOYEN MC. Baroreflex sensitivity impairment is

associated with cardiac diastolic dysfunction in rats *J Card Fail.* 2011;17(6):519-25.

NAGUEH SF, APPLETON CP, GILLEBERT TC, MARINO PN, OH JK, SMISETH OA, *et al.* Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr* 2009;10(2):165-93.

NAGUEH SF, MIKATI I, KOPELEN HA, MIDDLETON KJ, QUINONES MA, ZOGHBI WA. Doppler estimation of left ventricular filling pressure in sinus tachycardia. A new application of tissue doppler imaging. *Circulation* 1998 20;98(16):1644-50.

NORMAN RA, JR., COLEMAN TG, DENT AC. Continuous monitoring of arterial pressure indicates sinoaortic denervated rats are not hypertensive. *Hypertension* 1981;3(1):119-25.

PACKER DL, STEVENS CL, CURLEY MG, BRUCE CJ, MILLER FA, KHANDHERIA BK, *et al.* Intracardiac phased-array imaging: methods and initial clinical experience with high resolution, under blood visualization: initial experience with intracardiac phased-array ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2002 6;39(3):509-16.

PAGANI L, PERDUCA M, MILLS V, ROMERO E. Fluorescence polarization immunoassay to determine aminoglycoside modifying enzymes activity. *Microbiologica* 1986;9(4):423-30.

PANIDIS IP, KOTLER MN, REN JF, MINTZ GS, ROSS J, KALMAN P. Development and regression of left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 1984;3(5):1309-20.

- PAWLUSH DG, MOORE RL, MUSCH TI, DAVIDSON WR, Jr. Echocardiographic evaluation of size, function, and mass of normal and hypertrophied rat ventricles. *J Appl Physiol* 1993;74(5):2598-605.
- PFEFFER JM, FISCHER TA, PFEFFER MA. Angiotensin-converting enzyme inhibition and ventricular remodeling after myocardial infarction. *Annu Rev Physiol* 1995;57:805-26.
- PICCIRILLO G, MUNIZZI MR, FIMOIGNARI FL, MARIGLIANO V. Heart rate variability in hypertensive subjects. *Int J Cardiol* 1996;53(3):291-8.
- PIRES MD, SALEMI VM, CESTARI IA, PICARD MH, LEIRNER AA, MADY C, *et al.* Noninvasive assessment of hemodynamic parameters in experimental stenosis of the ascending aorta. *Artif Organs* 2003;27(8):695-700.
- RICHEY PA, BROWN SP. Pathological versus physiological left ventricular hypertrophy: a review. *J Sports Sci* 1998;16(2):129-41.
- RODRIGUES B, FIGUEROA DM, MOSTARDA CT, HEEREN MV, IRIGOYEN MC, DE ANGELIS K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol* 2007;6:38.
- RUDSKI LG, LAI WW, AFILALO J, HUA L, HANDSCHUMACHER MD, CHANDRASEKARAN K, *et al.* Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of

Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2010;23(7):685-713; quiz 86-8.

SAHN DJ, DEMARIA A, KISSLO J, WEYMAN A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 1978;58(6):1072-83.

SALEMI VM, BILATE AM, RAMIRES FJ, PICARD MH, GREGIO DM, KALIL J, *et al.* Reference values from M-mode and Doppler echocardiography for normal Syrian hamsters. *Eur J Echocardiogr* 2005;6(1):41-6.

SCHERRER-CROSBIE M, KURTZ B. Ventricular remodeling and function: insights using murine echocardiography. *J Mol Cell Cardiol* ;48(3):512-7.

SCHUNKERT H, DZAU VJ, TANG SS, HIRSCH AT, APSTEIN CS, LORELL BH. Increased rat cardiac angiotensin converting enzyme activity and mRNA expression in pressure overload left ventricular hypertrophy. Effects on coronary resistance, contractility, and relaxation. *J Clin Invest* 1990;86(6):1913-20.

SCHWINGER RH, MUNCH G, BOLCK B, KARCZEWSKI P, KRAUSE EG, ERDMANN E. Reduced Ca(2+)-sensitivity of SERCA 2a in failing human myocardium due to reduced serin-16 phospholamban phosphorylation. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31(3):479-91.

SHANEWISE JS, CHEUNG AT, ARONSON S, STEWART WJ, WEISS RL, MARK JB, *et al.* ASE/SCA guidelines for performing a comprehensive intraoperative multiplane transesophageal echocardiography examination: recommendations of the American Society of Echocardiography Council for Intraoperative Echocardiography and the Society of Cardiovascular

Anesthesiologists Task Force for Certification in Perioperative Transesophageal Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1999;12(10):884-900.

SMITH LJ, LAWRENCE JB, KATZENSTEIN AA. Vascular sarcoidosis: a rare cause of pulmonary hypertension. *Am J Med Sci* 1983;285(1):38-44.

TEI C, LING LH, HODGE DO, BAILEY KR, OH JK, RODEHEFFER RJ, *et al.* New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: a simple and reproducible measure of cardiac function--a study in normals and dilated cardiomyopathy. *J Cardiol* 1995;26(6):357-66.

THIBAUT HB, KURTZ B, RAHER MJ, SHAIK RS, WAXMAN A, DERUMEAUX G, *et al.* Noninvasive assessment of murine pulmonary arterial pressure: validation and application to models of pulmonary hypertension. *Circ Cardiovasc Imaging*;3(2):157-63.

TRAPANI AJ, BARRON KW, BRODY MJ. Analysis of hemodynamic variability after sinoaortic denervation in the conscious rat. *Am J Physiol* 1986;251(6 Pt 2):R1163-9.

VASQUEZ EC, KRIEGER EM. Decreased chronotropic responses to adrenergic stimulation following sinoaortic denervation in the rat. *Braz J Med Biol Res* 1982;15(6):377-87.

WAKATSUKI T, SCHLESSINGER J, ELSON EL. The biochemical response of the heart to hypertension and exercise. *Trends Biochem Sci* 2004;29(11):609-17.

WYSS JM. The role of the sympathetic nervous system in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1993 2(2):265-73.

ZANCHETTI A, MANCIA G. Cardiovascular reflexes and hypertension.

*Hypertension* 1991;18(5 Suppl):III13-21.