PETRONIO GENEROSO THOMAZ

**Avaliação de modelo experimental de
falência crônica isolada do ventrículo direito**

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

Área de concentração: Cirurgia Torácica e
Cardiovascular

Orientador: Prof. Dr. Renato Samy Assad

SÃO PAULO

2007

“As palavras aí estão, uma por uma:

Porém minh’alma sabe mais.”

Cecília Meireles (Interpretação)

Dedicatória

*À memória do meu pai que, mesmo em curta
convivência, soube incutir em mim a importância do
conhecimento.*

*À minha mãe, que abriu mão de uma vida plena para se
dedicar à criação dos filhos, fazendo das vitórias deles motivo
suficiente de sua realização e felicidade.*

*Aos meus irmãos, Sandra, Pedro, Patrícia e Santuza;
todos vocês, de alguma forma, foram importantes para o meu
crescimento pessoal e humanitário.*

À Thatiane, pelo amor e companheirismo.

*A toda minha família, pelo apoio sempre recebido nos
momentos mais difíceis e pela alegria que se compartilha a cada
vitória.*

Agradecimento Especial

Ao Professor Dr. Renato Samy Assad, orientador e amigo, entusiasta incondicional da ciência; foi ele o grande incentivador nos momentos de maiores dificuldades deste trabalho. Como orientador, soube cumprir com zelo a tarefa de ajudar, criticar e elogiar. Como amigo, vai muito além.

Agradecimientos

*Aquelas pessoas que foram importantes na realização desta
tese:*

*À Dra. Maria Cristina Donadio Abduchi, amante
incontestada dos animais, sempre disposta a ajudar, e nunca
preocupada com a carga de trabalho; sem sua ajuda não seria possível
concluir este trabalho.*

*À Dra. Vera Demarchi Aiello, pela cordialidade e
orientações precisas durante a fase de avaliação dos dados
morfológicos.*

*Ao Dr. Euclides Marques, pelas importantes sugestões
repassadas durante o desenvolvimento deste trabalho; sua incansável
dedicação à pesquisa experimental foi um estímulo para
continuarmos nesta linha de pesquisa.*

*À amiga Dra. Virgínia Mara Pereira, pelas contribuições
durante a fase de revisão desta tese.*

*Ao amigo Dr. Leonardo Augusto Miana, pelo auxílio nas
cirurgias experimentais.*

À equipe da divisão de Fisiologia Aplicada do Instituto do Coração, na pessoa de seu diretor, Professor Dr. Maurício Rocha e Silva, e dos funcionários, Eliete, Elenice, Richard, Nelson, Pedro, Vicente, Dário, Anderson, Henrique, Renato; foi gratificante trabalhar com vocês.

À Neusa Dini, Juliana Lattari e Eva Malheiros, por serem sempre prestativas e por tornarem menos árduas as tarefas burocráticas da pós-graduação.

À Adriana Moreira de Quadros, pela importante ajuda na elaboração desta tese.

A toda a equipe do Hospital Márcio Cunha, de Ipatinga/MG, em especial ao Dr. José Carlos Gallinari, que soube compreender a importância e apoiou a realização deste trabalho.

A Rosane, Roberta e Rodolfo, que compreenderam e aceitaram a ausência do marido e do pai, enquanto este se dedicava à tarefa de orientar-me nesta tese; agradeço-lhes também pela agradável acolhida em sua residência.

A Deus, por me permitir estar aqui.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas	
Lista de Tabelas	
Lista de Figuras	
Resumo	
Summary	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Revisão da Literatura	4
1.1.1. Modelos experimentais de falência ventricular	4
1.1.2. Modelos de Sobrecarga Volumétrica	6
1.1.3. Modelos de Sobrecarga Pressórica	7
1.1.3.1. Bandagem Aórtica	7
1.1.3.2. Monocrotalina	7
1.1.3.3. Hipertensão Arterial Sistêmica Espontânea	8
1.1.4. Estimulação ventricular rápida com marcapasso	8
1.1.5. Uso de drogas cardiotoxícas	9
1.1.5.1. Doxirrubicina	10
1.1.5.2. Beta-bloqueadores	10
1.1.5.3. Catecolaminas	11
1.1.5.4. Imipramina	11
1.1.6. Indução de isquemia	12
1.1.6.1. Microembolização	12
1.1.6.2. Ligadura das coronárias	13
1.1.6.3. Constritores coronarianos	13
1.1.7. Manipulação genética	14
1.1.8. Cardiomiopatia natural	14
1.1.9. Tipos de animais utilizados	15
1.1.10. Modelos de falência ventricular regional	16
1.1.11. Anatomia e Fisiologia do Ventrículo Direito	17

1.2.	Importância do modelo de falência crônica isolada do ventrículo direito.....	20
2.	OBJETIVOS.....	22
3.	MÉTODO.....	24
3.1.	Avaliação Pré-operatória.....	25
3.2.	Anestesia.....	26
3.3.	Procedimento Cirúrgico.....	27
3.4.	Indução da Falência Ventricular Direita.....	29
3.5.	Cuidados Pós-operatórios.....	30
3.6.	Medidas Hemodinâmicas.....	30
3.7.	Medidas Bioquímicas.....	31
3.8.	Avaliação Ecocardiográfica.....	31
3.9.	Avaliação Morfológica.....	33
3.10.	Análise Estatística.....	35
4.	RESULTADOS.....	37
4.1	Dados Hemodinâmicos.....	39
4.2.	Dados Bioquímicos.....	45
4.3.	Dados Ecocardiográficos.....	48
4.4.	Achados Morfológicos.....	54
5.	DISCUSSÃO.....	59
5.1.	Dados Hemodinâmicos.....	62
5.2.	Dados Bioquímicos.....	64
5.3.	Dados Ecocardiográficos.....	65
5.4.	Dados Morfológicos.....	66
5.5.	Implicações clínicas do modelo de falência ventricular isolada	68
5.6.	Limitações do estudo.....	69
6.	CONCLUSÕES.....	70
7.	ANEXOS.....	72
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

Lista de Abreviaturas e Siglas

IC – Insuficiência cardíaca

SUS – Sistema Único de Saúde

EUA – Estados Unidos das Américas

VD – Ventrículo direito

AE – Átrio esquerdo

AD – Átrio direito

TP – Tronco pulmonar

AO – Aorta

PO – Pós-operatório

IV – Intravenosa

IM - Intramuscular

FEVD – Fração de ejeção do ventrículo direito

VOLDVD – Volume diastólico do ventrículo direito

VOLSVD – Volume sistólico do ventrículo direito

DDVD – Diâmetro diastólico do ventrículo direito

FEVE – Fração de ejeção do ventrículo esquerdo

HE – Hematoxilina-Eosina

Lista de Tabelas

	Pág.
Tabela 1. Modelos animais de insuficiência cardíaca.....	5
Tabela 2. Dados do débito cardíaco sistêmico (ml/min).....	39
Tabela 3. Dados do débito cardíaco pulmonar (ml/min).....	41
Tabela 4. Dados da pressão média no ventrículo direito (mm Hg).	43
Tabela 5. Valores das pressões medidas no AE, AD e TP.....	44
Tabela 6. Medidas de lactato venoso em diferentes momentos (mmol/l).....	46
Tabela 7. Dados da saturação venosa de oxigênio (%).....	47
Tabela 8. Dados do volume diastólico final do VD (ml).....	49
Tabela 9. Dados do volume sistólico final do ventrículo direito (ml).....	50
Tabela 10. Dados do diâmetro diastólico do VD (cm).....	51
Tabela 11. Dados da fração de ejeção do ventrículo direito.....	52
Tabela 12. Dados da fração de ejeção do VE.....	53
Tabela 13. Avaliação microscópica do miocárdio.....	56

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Desenho esquemático mostrando cateteres posicionados no ventrículo direito, átrio esquerdo e tronco pulmonar. Fluxômetro posicionado no tronco pulmonar.....	28
Figura 2. Coração fixado e seccionado transversalmente em três diferentes planos.....	34
Figura 3. Evolução do débito cardíaco sistêmico durante o protocolo de estudo.....	39
Figura 4. Evolução do débito cardíaco pulmonar durante os diferentes momentos do protocolo de estudo.....	41
Figura 5. Evolução da pressão média em VD durante os diferentes momentos do protocolo de estudo.....	43
Figura 6. Representação gráfica dos valores de lactato venoso dos diferentes momentos do experimento.....	46
Figura 7. Representação gráfica dos valores da saturação venosa nos diferentes momentos do protocolo.....	47
Figura 8. Representação gráfica das variações do volume diastólico do ventrículo direito durante o protocolo.....	49
Figura 9. Representação gráfica das variações do volume sistólico do ventrículo direito.....	50
Figura 10. Representação gráfica das variações do diâmetro diastólico do ventrículo direito.....	51
Figura 11. Representação gráfica da fração de ejeção do VD durante o estudo.....	52
Figura 12. Representação gráfica da fração de ejeção do VE durante o estudo.....	53
Figura 13. Imagem da superfície de corte do miocárdio mostrando área com lesão pelo etanol na parede livre do VD.....	54

Figura 14. Fotomicrografia da periferia de lesão miocárdica pelo etanol, exibindo infiltrado inflamatório histiocitário com células gigantes (seta) em meio a fibrose. Notam-se também miócitos necróticos (asteriscos) (HE; 40x).....	57
Figura 15. Fotomicrografia de periferia de lesão miocárdica pelo etanol, exibindo reação cicatricial, infiltrado inflamatório histiocitário e miócitos necróticos (HE; 10x).....	57
Figura 16. Fotomicrografia de lesão miocárdica pelo etanol, mostrando pequena artéria (seta) com trombose organizada (HE; 10x).....	58
Figura 17. Fotomicrografia de lesão miocárdica provavelmente isquêmica, mostrando artéria com trombose recente (seta). Na metade superior notam-se hemorragia (asteriscos) e necrose miocárdica (HE; 10x).....	58

RESUMO

THOMAZ PG. Avaliação de modelo experimental de falência crônica isolada do ventrículo direito [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007.

Os modelos experimentais de falência do ventrículo direito (VD) descritos são de difícil execução, por envolverem procedimentos cirúrgicos complexos e dispendiosos, com alta mortalidade e baixa reprodutividade. Também são raros aqueles que promovem falência ventricular exclusiva do ventrículo direito. Com o objetivo de simular a situação clínica de falência ventricular exclusiva do VD, desenvolvemos um modelo experimental de falência crônica isolada do VD, feito através da injeção de etanol intramiocárdico.

A disfunção do VD foi induzida em treze cães adultos, através de múltiplas injeções de etanol a 96% (dose total 1ml/kg), na via de entrada e na porção trabecular do VD. Foram analisados parâmetros hemodinâmicos, metabólicos e ecocardiográficos, em condições basais e após indução da falência. Os animais foram mantidos vivos por um período de 14 dias, após o qual foram reoperados e mortos para análise morfológica dos corações. As pressões foram aferidas na artéria femoral, átrio esquerdo (AE), átrio direito (AD), tronco pulmonar (TP) e VD. O fluxo sanguíneo foi medido na aorta e no tronco pulmonar. Na primeira operação, os dados hemodinâmicos foram registrados antes e imediatamente após a indução da falência do VD. Estes parâmetros também foram coletados na reoperação (14 dias pós-indução da falência). Amostras de sangue arterial e venoso foram colhidas simultaneamente ao registro dos parâmetros hemodinâmicos para avaliação dos gases sanguíneos e dosagem de lactato. Foram feitas avaliações ecocardiográficas no pré-operatório, no sexto e no 13^o dia pós-operatório (PO).

Houve uma mortalidade de 15,4% (2/13). Observou-se uma queda significativa no débito cardíaco pulmonar após a indução da falência e na reoperação (14º PO), quando comparado aos valores medidos no momento basal ($p=0,002$). Esta queda do desempenho ventricular direito ocasionou um aumento nos valores do lactato venoso, quando comparados os valores basais contra aqueles do pós infusão de etanol ($p=0,0001$) e com os da reoperação ($p=0,0003$). Os dados ecocardiográficos revelaram um aumento no volume diastólico do VD, quando comparados os dados basais com aqueles da primeira semana de seguimento ($p=0,0001$) e com aqueles medidos duas semanas após a indução da falência ($p=0,0084$). Houve uma queda significativa da fração de ejeção do VD na primeira e segunda semanas em comparação aos valores basais ($p=0,0001$). A avaliação microscópica feita a partir de amostras retiradas do VD revelou infartos transmuraais, com características histológicas compatíveis com infarto de duas semanas de evolução.

A injeção de etanol intramiocárdio permitiu a criação de um modelo simples, econômico e reprodutível de falência crônica isolada do VD. A avaliação dos dados hemodinâmicos, ecocardiográficos e bioquímicos medidos nos diferentes momentos do experimento é compatível com a indução de falência grave do VD. Este modelo pode ser útil no estudo da fisiopatologia da falência isolada do VD, bem como na avaliação de assistência ventricular.

Descritores: Insuficiência cardíaca congestiva, Disfunção ventricular direita, Isquemia miocárdica / induzida quimicamente, Modelos animais.

SUMMARY

THOMAZ PG. Evaluation of experimental model of isolated chronic right ventricle failure [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007.

Isolated chronic right ventricle (RV) dysfunction is difficult to achieve in experimental models, and sometimes very expensive. Some models require complex surgical procedures, with a high mortality rate and low reproducibility. In order to simulate the clinical status of RV failure, we have developed an experimental model of chronic RV failure by injecting local intramyocardial ethanol 96%.

A severe RV dysfunction was induced in 13 mongrel dogs by means of multiple intramyocardial injections of ethanol 96% (total dose of 1ml/kg), in the inlet and trabecular portions of the RV. The hemodynamics, metabolic and ecocardiografic parameters were evaluated at baseline condition and after RV failure. The animals were followed for a 14-day period. After that, they were reoperated for pressure measurements, taken from femoral artery, left atrium (LA), right atrium (RA), RV and main pulmonary artery (PA). Blood flow was measured in the aorta (AO) and PA. Metabolic parameters were assessed simultaneously to pressure measurements, with arterial and venous blood samples withdrawn for gas and lactate analysis, and then, they were killed for morphological evaluation of the heart. All the animals were submitted to echocardiographic evaluation before the first operation, on sixth and on de 13th postoperative day.

The mortality rate was 15,4% (2/13). There was a significant decrease in the pulmonary blood flow after RV failure induction ($p=0,0018$), as well as in the reoperation ($p=0,002$), as compared to baseline. This decrease in RV

performance caused an increase in the venous lactate level, when baseline values are compared with pos infarction values ($p=0,001$) and reoperation ($p=0003$). The echocardiografic findings revealed an increased RV diastolic volume on the 6th ($p=0,0001$) and 13th postoperative day ($p=0,0084$), as compared to baseline values. Conversely, there was a significant decrease in the RV ejection fraction on the 6th and 13th postoperative day, when compared with baseline values ($p=0,0001$). Microscopic evaluation of RV samples showed transmural infarctions with histological characteristics aged of two weeks.

Intra myocardial ethanol injection has allowed the creation of a simple, inexpensive and reproducible model of chronic RV failure. The hemodynamic, metabolic and echocardiographic parameters assessed in different moments of the protocol are compatible with severe RV failure. It may be useful for RV physiology studies of isolated right sided heart failure, as well as in the assessment of ventricular assist devices.

Descriptors: Heart failure congestive, Ventricular dysfunction right, Myocardial ischemia/chemically induced, Model animal.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca (IC) é uma importante causa de morte nos países ocidentais. Aproximadamente 23 milhões de pessoas em todo o planeta são portadoras de IC, sendo a prevalência desta doença estimada em 1% a 2% da população nos países desenvolvidos. Estima-se que 4,9 milhões de norte-americanos estejam em tratamento da IC, e cerca de 550.000 novos casos são diagnosticados a cada ano¹. No Brasil, não existem estudos epidemiológicos envolvendo a incidência e a prevalência da IC. Segundo dados do DATASUS, pode-se estimar que cerca de 6,4 milhões de brasileiros sofram de IC, sendo que esta doença representa cerca de um terço das internações do SUS por doenças do aparelho circulatório, além de constituir a principal causa de internação em pacientes com mais de 60 anos de idade^{2,3}. Apesar da significativa melhora nas terapias médicas, ainda hoje a mortalidade em consequência da insuficiência cardíaca excede 50% em cinco anos⁴.

A doença está associada a múltiplas alterações fisiopatológicas e mecanismos adaptativos, que incluem disfunção ventricular grave, aumento da resistência vascular sistêmica, dilatação e hipertrofia ventriculares. Estas alterações adaptativas desencadeiam um desequilíbrio nos sistemas neuroendócrino cardíaco e renina-angiotensina^{5,6,7}, contribuindo para

ativação dos mecanismos desencadeadores de necrose e apoptose celular, além de aumentar a produção de peptídeos natriuréticos, endotelinas, citocinas inflamatórias e óxido nítrico. Juntas, estas alterações levam a um complexo emaranhado de alterações responsáveis pela manutenção e progressão da doença^{8,9,10}.

Modelos animais são fundamentais para estudos da IC. Através deles, pode-se compreender melhor os mecanismos fisiopatológicos, validar novas propostas terapêuticas clínicas e cirúrgicas, além de possibilitar o estudo dos estágios de progressão da doença¹¹. Portanto, a escolha de um bom modelo animal é de extrema importância para a pesquisa da insuficiência cardíaca.

1.1. Revisão da Literatura

1.1.1. Modelos experimentais de falência ventricular

De acordo com Muders & Elsner¹¹, o modelo animal ideal de insuficiência cardíaca deve contemplar alguns requisitos:

- 1- Mimetizar o mais próximo possível a insuficiência cardíaca humana;
- 2- Permitir a realização de estudos na fase aguda e, sobretudo, no estágio crônico da doença;
- 3- Permitir a avaliação dos parâmetros hemodinâmicos, bioquímicos e cardiovasculares;
- 4- Ser relativamente econômico e reprodutível;
- 5- Respeitar os princípios éticos do uso de animais de laboratório;
- 6- Reproduzir o quadro clínico da doença.

A insuficiência cardíaca pode ser induzida em diferentes espécies animais, com o uso de sobrecarga de volume, sobrecarga de pressão, estimulação ventricular rápida com marcapasso, indução de infarto do miocárdio, uso de drogas cardiotoxícas, entre outros (Tabela 1). Atualmente, modelos de cardiomiopatia induzida por alterações genéticas em animais de pequeno porte encontram-se disponíveis¹². Nenhum desses modelos,

porém, reproduz completamente a história natural da IC, cada um apresentando limitações e interesses específicos. Assim, é importante conhecer cada modelo, a fim de podermos escolher o que melhor reproduz o aspecto da doença a investigar.

Tabela 1. Modelos animais de insuficiência cardíaca.

Modelo	Método
Sobrecarga volumétrica	Infusão rápida de soluções cristalóides ou colóides Fístulas arteriovenosas Insuficiências valvares agudas Comunicação interatrial Anemia
Sobrecarga pressórica	Bandagem pulmonar Bandagem aórtica Hipertensão arterial sistêmica Hipertensão arterial pulmonar
Drogas cardiotóxicas	Doxirrubicina Beta-bloqueadores Catecolaminas Imipramina Barbitúricos Álcool Cobalto
Indução de isquemia	Microembolização Ligadura das coronárias Constritores coronarianos Hipoxemia crônica
Outros	Marcapasso atrial rápido Marcapasso ventricular rápido Cardiomiopatia natural Manipulação genética Radiação ionizante

Dentre os vários modelos descritos na literatura, aqueles mais freqüentemente utilizados na pesquisa da insuficiência cardíaca serão brevemente descritos a seguir.

1.1.2. Modelos de Sobrecarga Volumétrica

Modelos de sobrecarga volumétrica são ideais para avaliação da disfunção diastólica ventricular^{11,12}.

Os modelos de sobrecarga volumétrica aguda, produzidos a partir do uso de soluções cristalóides isotônicas ou colóides, são usados para reproduzir o cenário hemodinâmico encontrado na insuficiência cardíaca^{13,14}. Eles são comumente usados em associação com outros modelos de indução da falência ventricular, com o objetivo de exacerbar as modificações nos parâmetros hemodinâmicos medidos.

Já os modelos de sobrecarga volumétrica crônica, tais quais os que causam insuficiência mitral por lesão valvar mecânica, ou os que criam cirurgicamente fístulas arteriovenosas de alto débito, induzem IC com aumento das pressões de enchimento ventricular e dilatação ventricular^{15,16,17}. A função sistólica não é alterada e não há alterações estruturais nos cardiomiócitos, diferentemente do observado na insuficiência cardíaca causada por isquemia ou hipertrofia miocárdica^{11,12,18}. Assim, os modelos de sobrecarga volumétrica crônicos mostram-se adequados para

estudar os mecanismos compensatórios associados à IC diastólica, mas não servem para o estudo da insuficiência cardíaca sistólica.

1.1.3 Modelos de Sobrecarga Pressórica

1.1.3.1. Bandagem Aórtica

Este modelo, de fácil execução e baixa mortalidade, causa acentuada hipertrofia ventricular esquerda, mas não reproduz a ativação neuro-hormonal e a disfunção sistólica da IC. Para a criação do modelo, provoca-se uma estenose da aorta ascendente, através do implante de um anel constritor metálico, fita de material sintético ou bandagem ajustável, reduzindo o seu diâmetro interno, para criar um gradiente pressórico de pico entre o VE e aorta de aproximadamente 50 a 60 mm Hg¹⁹. O modelo é de grande utilidade para o estudo da progressão e regressão da hipertrofia ventricular²⁰.

1.1.3.2. Monocrotalina

A monocrotalina é um alcalóide encontrado na planta da espécie *Crotalaria spectabilis*. Sua ministração causa uma síndrome vascular pulmonar caracterizada por vasculite pulmonar proliferativa, hipertensão

pulmonar e *cor pulmonale*²¹. A droga é usada em cães e ratos para induzir hipertensão pulmonar e hipertrofia ventricular direita^{22,23}. Este modelo é adequado para avaliar a proliferação neointimal, a hipertrofia ventricular e a modulação neuroendócrina induzidas pela hipertensão pulmonar.

1.1.3.3. Hipertensão Arterial Sistêmica Espontânea

A hipertensão arterial sistêmica espontânea em ratos é um modelo genético bem estabelecido de IC induzido por sobrecarga pressórica. A função cardíaca dos animais encontra-se preservada até um ano de vida, sofrendo rápida deterioração após 20 meses de idade²⁴. Este modelo é ideal para estudar a insuficiência cardíaca induzida por hipertensão arterial, bem como avaliar a transição de hipertrofia para falência, nas fases evolutivas da doença²⁵. Outra grande vantagem deste modelo é o fato de não necessitar procedimento cirúrgico ou uso de drogas para a indução da falência.

1.1.4. Estimulação ventricular rápida com marcapasso

A estimulação ventricular rápida com marcapasso é utilizada para produzir IC em diferentes espécies animais²⁶. Em cães, o uso de marcapasso endocavitário com alta frequência é um modelo bem estabelecido e pouco invasivo, capaz de gerar um cenário de IC biventricular

crônica e estável²⁷. Com frequências entre 180 a 200 bpm, a insuficiência cardíaca é induzida em três a quatro semanas^{28,29}. Com frequências maiores (400 bpm), os ventrículos direito e esquerdo dilatam-se sem sofrer hipertrofia³⁰. Uma vez interrompido o estímulo, as funções sistólica e diastólica do coração recuperam-se em um período de duas a três semanas. Semelhante ao que ocorre na insuficiência cardíaca humana, este modelo é caracterizado por ativação neuro-hormonal e vasoconstrição periférica^{31,32,33}. Não ocorre hipertrofia ou isquemia miocárdica, componentes importantes da insuficiência cardíaca humana. O modelo é útil para análise dos mecanismos compensatórios da IC, bem como para avaliar estratégias farmacológicas e cirúrgicas no tratamento da doença^{34,35,36}.

1.1.5. Uso de drogas cardiotoxicas

Varias são as drogas capazes de produzir efeitos tóxicos sobre o músculo cardíaco. Dentre elas destacam-se a doxirrubicina, beta-bloqueadores, catecolaminas e imipramina como as mais usadas para indução de insuficiência cardíaca em modelos animais.

1.1.5.1. Doxirrubicina

A cardiotoxicidade desta droga é devida à formação de um radical livre e peroxidação de lípidos, que resulta em mudanças nos lisossomos, sarcolemas, mitocôndrias e retículo sarcoplasmático³⁷. Estas mudanças provocam o acúmulo de cálcio intracelular, ativação de enzimas hidrolíticas e redução da produção energética. A redução da função cardíaca é resultado da perda da integridade estrutural do cardiomiócito³⁸. A droga pode ser ministrada por via intravenosa sistêmica ou através de injeções intracoronárias, o que permite a redução dos efeitos sistêmicos. Ocorre insuficiência cardíaca irreversível e progressiva, com cardiomegalia global, adelgaçamento da parede ventricular e redução da fração de ejeção ventricular ao ecocardiograma³⁹. Este modelo apresenta várias limitações, como a indução de falência ventricular de grau variável, alta incidência de arritmias cardíacas, toxicidade medular e gastrointestinal. O modelo é adequado para a avaliação de protocolos que utilizam células-tronco e cardiomioplastia^{40,41}.

1.1.5.2. Beta- bloqueadores

Propranolol é um beta-bloqueador de efeito inotrópico negativo intenso e prolongado. A infusão desta droga por via intravenosa, na dose de 2 a 3 mg/kg, induz a uma significativa redução na pressão arterial sistêmica e

no débito cardíaco, produzindo um modelo agudo, previsível e estável de falência biventricular⁴². Este modelo não apresenta dilatação ventricular, o que pode limitar seu uso.

1.1.5.3. Catecolaminas

A ministração de altas doses de noradrenalina em cães provoca uma queda na pressão arterial e na fração de ejeção do ventrículo esquerdo, paralelamente a um aumento do seu diâmetro diastólico. Entretanto, todas estas mudanças são transitórias e há completa recuperação após 48 horas de interrupção da infusão da droga⁴³. A viabilidade de se criar um modelo crônico de insuficiência cardíaca com o uso de catecolaminas ainda é incerto.

1.1.5.4. Imipramina

A imipramina bloqueia os canais de sódio e os receptores alfa-adrenérgicos, interfere com o fluxo de cálcio trans-membrana e tem efeito anticolinérgico. A ministração de imipramina intravenosa em cães mostrou-se capaz de produzir um modelo de IC de curta duração. Com a interrupção da infusão da droga, ocorre a restauração parcial da função cardíaca em 60 minutos⁴⁴. O modelo de IC, assim produzido, serve para avaliar medidas de

suporte hemodinâmico, tais quais a cardiomioplastia dinâmica, balão intra-aórtico e dispositivos de assistência circulatória.

1.1.6. Indução de isquemia

A isquemia miocárdica é a principal causa de IC em humanos. Ela desencadeia as respostas neuro-hormonais e celulares responsáveis pela iniciação e manutenção dos mecanismos adaptativos do sistema cardiovascular frente a um quadro de insuficiência cardíaca. Na tentativa de entender melhor os mecanismos de progressão da IC isquêmica, vários modelos animais foram desenvolvidos, usando diferentes técnicas para indução da isquemia.

1.1.6.1. Microembolização

A embolização coronariana com microesferas de poliestireno causa redução do débito cardíaco, aumento na pressão de enchimento do ventrículo esquerdo, na resistência vascular sistêmica e nos níveis plasmáticos de noradrenalina^{45,46}. A isquemia miocárdica é obtida através de múltiplas embolizações feitas na artéria coronária esquerda, através de cateter colocado na raiz da aorta, a partir de uma punção na artéria femoral ou na carótida. São necessárias múltiplas embolizações feitas em intervalos

semanais para se alcançar um grau estável de IC, o que torna o modelo bastante trabalhoso. Este modelo causa IC global e irreversível, com uma mortalidade que varia de 30 a 50%⁴⁷.

1.1.6.2. Ligadura das coronárias

A ligadura dos ramos diagonais da artéria interventricular anterior foi descrita como técnica para criação de modelos de IC pós-infarto, sendo usada em várias espécies de animais^{48,49}. Variações técnicas permitem a criação de modelos de insuficiência cardíaca com aneurisma do ventrículo esquerdo⁵⁰ ou insuficiência valvar mitral isquêmica⁵¹. Apesar de mimetizar bem a IC isquêmica humana, este modelo tem como inconveniente sua alta mortalidade, a necessidade de um procedimento cirúrgico e a grande variabilidade da anatomia coronariana em algumas espécies animais, principalmente em cães e ratos.

1.1.6.3. Constritores coronarianos

Os constritores coronarianos são anéis metálicos que, quando colocados em torno de um grande ramo coronariano, promovem a constrição gradual da artéria, causando isquemia^{52,53}. O dispositivo é preenchido por caseína hidrofílica, que absorve água e reduz a luz do vaso. A oclusão

coronariana ocorre em três a seis semanas, com formação de circulação colateral em grau variável⁵⁴. Quando a circulação colateral é intensa o bastante para garantir a viabilidade do músculo cardíaco, a função cardíaca pode manter-se normal⁵⁵. As limitações deste modelo devem-se à imprevisibilidade do grau de falência ventricular promovida, bem como a necessidade de um procedimento cirúrgico para implante do anel.

1.1.7. Manipulação genética

Para reproduzir diferentes aspectos da cardiomiopatia dilatada, utilizando recursos de engenharia genética, foram criadas subespécies de ratos e hamsters com mutações genéticas nas cadeias pesadas de miosina ou nas proteínas estruturais do músculo cardíaco. Dependendo da localização da mutação genética, os animais podem desenvolver uma cardiopatia hipertrófica (mutação na cadeia pesada da miosina) ou cardiomiopatia dilatada (mutação nas proteínas do citoesqueleto)⁵⁶.

1.1.8. Cardiomiopatia natural

Algumas raças de cães de grande porte desenvolvem IC idiopática naturalmente com idade de 5 a 7 anos. Por ocasião do diagnóstico, os animais em sua maioria encontram-se em fibrilação atrial ou com taquicardia

ventricular. Há dilatação uni ou biventricular importante, com aumento da pressão diastólica final e ativação neuro-hormonal^{57,58}. Pela similaridade com a doença humana e pela rápida evolução para insuficiência cardíaca grave, este é um bom modelo para avaliação de novas estratégias terapêuticas clínicas e cirúrgicas^{59,60}.

1.1.9. Tipos de animais utilizados

A escolha do modelo animal representa importante aspecto da pesquisa. A heterogeneidade dos animais de laboratório é um inconveniente durante a experimentação, mas ela pode ser diminuída, usando-se linhagens puras de espécies obtidas por reprodução endogâmica e criados em condições uniformes. Geralmente, um grupo experimental é constituído por animais da mesma idade e sexo e com pesos compreendidos entre estreitos limites. As diferentes espécies animais disponíveis para pesquisa atendem melhor a um ou outro objetivo de estudo. Enquanto roedores de pequeno porte possuem a vantagem de produzirem modelos de menor custo, animais de grande porte apresentam características anatômicas, fisiológicas e hemodinâmicas mais próximas de humanos. Entretanto, estes apresentam o inconveniente de serem mais dispendiosos, representando um modo relativamente menos econômico de se gerar novos conhecimentos. Além do mais, seu uso pode incorrer em maiores problemas éticos.

Modelos de isquemia miocárdica devem levar em consideração o padrão de circulação coronariana do animal utilizado, pois a presença de rica rede de circulação colateral é um fator limitante para a indução da

isquemia. Cães têm extensa rede de circulação colateral miocárdica. Neles, o tronco da artéria coronária esquerda é muito curto, sendo que esta artéria supre 90% de todo miocárdio⁶¹. Ovinos e suínos têm uma anatomia coronariana mais parecida com a humana. Eles desenvolvem menos circulação colateral miocárdica quando comparados com caninos, sendo assim uma alternativa interessante para modelos de indução de isquemia⁶². Além disto, a dominância é geralmente esquerda nos ovinos e bilateral nos suínos.

1.1.10. Modelos de falência ventricular regional

A grande maioria dos modelos existentes promove IC biventricular, e são raros aqueles capazes de produzir falência ventricular exclusivamente direita ou esquerda.

Em 1970, Ratliff et al⁶³ descreveram um modelo de infarto do ventrículo direito em suínos, através da indução de hipertrofia ventricular direita, associada à isquemia miocárdica em porção inicial da artéria coronária direita. A indução da hipertrofia ventricular, feita através da bandagem pulmonar, promoveu um desequilíbrio na relação de oferta/consumo de oxigênio, tornando o miocárdio mais susceptível à indução de isquemia. A isquemia miocárdica, induzida pela ligadura da artéria coronária direita em sua porção inicial, produziu infartos que em sua grande maioria envolviam a parede apical e lateral do VD, a parede posterior do VE, e o septo interventricular posterior. Foram raros os casos de infarto exclusivo do ventrículo direito (um em 18 animais).

Em 1988, Morris et al⁶⁴ criaram um modelo de falência ventricular predominantemente direita, com graus variáveis de disfunção do ventrículo esquerdo. Os autores utilizaram cães adultos, submetidos à circulação extracorpórea normotérmica. Para induzir a falência regional, após a parada anóxica do coração, o ventrículo esquerdo foi resfriado a dois graus Celsius, enquanto o ventrículo direito era mantido em normotermia. Esta técnica de proteção miocárdica seletiva permitiu criar modelos de falência ventricular predominantemente direita com variáveis graus de disfunção ventricular esquerda. Este cenário pode ser encontrado em algumas situações clínicas, tais como infarto da parede inferior do ventrículo esquerdo associado a infarto de ventrículo direito. Os autores sugerem este modelo para testar novas abordagens clínicas e cirúrgicas direcionadas à falência ventricular predominantemente direita.

No ano de 2000, Marques et al⁶⁵ descreveram um modelo agudo de IC biventricular, obtido através da injeção intramiocárdica de etanol. A avaliação hemodinâmica confirmou o baixo débito cardíaco induzido pela lesão miocárdica gerada. Os autores chamam a atenção para a simplicidade e baixo custo do modelo, sugerindo seu uso na avaliação de dispositivos de assistência circulatória mecânica.

1.1.11. Anatomia e Fisiologia do Ventrículo Direito

O ventrículo direito apresenta formato basicamente triangular (lua crescente), com três porções bem definidas: via de entrada, porção trabecular e via de saída. Apesar de apresentar uma massa muscular de

aproximadamente 15% do ventrículo esquerdo, os dois ventrículos geram débito cardíaco similares. Isto se deve ao fato da resistência vascular pulmonar corresponder a um décimo da resistência vascular sistêmica^{66,67}. Os dois ventrículos trabalham em serie, o que cria uma interdependência hemodinâmica entre eles. Há também a interdependência mediada pelo septo interventricular e pelo pericárdio ao redor dos mesmos⁶⁸. Isto faz com que alterações hemodinâmicas ou volumétricas ocorridas em um ventrículo tenham conseqüências no ventrículo contralateral.

Na ausência de hipertrofia ventricular, o fluxo coronariano para o ventrículo direito é peculiar, pois ocorre durante a sístole e diástole⁶⁹. A maior parte do fluxo sanguíneo é proveniente da artéria coronária direita que, através de seus ramos marginais agudos, irriga a parede lateral, através do ramo interventricular posterior, ela irriga a parede posterior e o septo interventricular posterior. A via de saída do VD é irrigada pelo ramo do cone, enquanto pequena parte da parede anterior é irrigada por ramos da artéria interventricular anterior⁷⁰.

A incidência de infarto do VD em associação com infarto do VE varia entre 14 a 84%, dependendo da população em estudo e dos critérios patológicos usados^{71,72,73}. O infarto isolado do ventrículo direito é responsável por menos de 3% de todos os casos de infarto, mas pode resultar em alta morbi-mortalidade^{74,75}.

Algumas vezes, a completa oclusão da artéria coronária direita, proximal aos ramos marginais agudos, ocasiona infarto na parede inferior do ventrículo esquerdo, não acompanhado de infarto do ventrículo direito.

Várias teorias foram levantadas para explicar esta discrepância⁷⁶. O ventrículo direito tem uma relação de oferta/consumo de oxigênio mais favorável que o ventrículo esquerdo, pois apresenta menor massa muscular, bem como conta com maior oferta de oxigênio, devido à natureza bifásica do fluxo coronariano durante a sístole e diástole. Foi demonstrado que o VD tem uma capacidade aumentada de extração de oxigênio em condições de estresse hemodinâmico, além de contar com extensa rede de circulação colateral. Supõe-se que o miocárdio ventricular direito seja também perfundido diretamente a partir da cavidade ventricular direita pelas veias de Tebesio, fato ainda não completamente confirmado⁷⁷.

Diante do exposto acima, são evidentes as limitações da utilização dos modelos animais descritos para reprodução do quadro de falência ventricular exclusiva direita.

1.2. Importância do modelo de falência crônica isolada do ventrículo direito

O ventrículo direito, que até recentemente era considerado apenas um conduto passivo de sangue, tem hoje sua função hemodinâmica reconhecida e valorizada. Sabe-se que a função ventricular direita é um fator preditivo independente de morbi-mortalidade no pós-infarto agudo do miocárdio^{78,79}, bem como em vários procedimentos cirúrgicos, incluindo o transplante cardíaco e a assistência ventricular mecânica do ventrículo esquerdo⁸⁰.

A utilização de modelos animais de falência ventricular direita é uma maneira de contornar algumas das limitações éticas e legais que envolvem estudos clínicos em humanos. Com eles é possível, entender as alterações fisiopatológicas encontradas na insuficiência ventricular direita, medir o impacto da disfunção do VD na morbi-mortalidade, testar novas técnicas cirúrgicas, novos tratamentos clínicos e novas tecnologias de assistência ventricular direita. Assim, um modelo experimental simples e reproduzível de falência ventricular crônica exclusivamente direita seria uma alternativa eficaz para estudar e melhor compreender o ventrículo direito e, a partir dos conhecimentos gerados, propor alternativas de tratamento.

O objetivo inicial deste trabalho foi criar uma linha de pesquisa para estudar o tratamento cirúrgico para a insuficiência cardíaca direita. Mesmo contando com inúmeros modelos animais de insuficiência cardíaca, nenhum se mostrou ideal para o objetivo específico de avaliar a falência crônica

exclusiva do VD. Assim, com o objetivo de criar uma linha de pesquisa, o primeiro passo deste estudo foi validar e padronizar um modelo de insuficiência cardíaca direita exclusiva, que possibilitasse a posterior avaliação de dispositivos de assistência circulatória mecânica e da cirurgia de Glenn bidirecional (redirecionamento da veia cava superior para a artéria pulmonar direita) no tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca direita.

Visando a criação de um modelo de falência crônica ventricular direita exclusiva de baixo custo, reprodutível e com baixa mortalidade, foi iniciado um protocolo, baseado no estudo de Marques et al⁶⁵, com o objetivo de verificar as alterações hemodinâmicas, bioquímicas, ecocardiográficas e morfológicas causadas pela infusão de etanol no miocárdio do ventrículo direito de cães.

Objetivos

2. OBJETIVOS

- 2.1. Desenvolver e padronizar um modelo animal de falência crônica exclusiva do ventrículo direito.
- 2.2. Analisar este modelo de falência ventricular direita sob os aspectos hemodinâmico, bioquímico, ecocardiográfico e morfológico.

Método

3. MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e está de acordo com as normas de uso de animais para pesquisa estabelecida pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

3.1. Avaliação Pré-operatória

Neste estudo foram utilizados 13 cães machos adultos de raça mestiça, com peso médio de 13,04 kg $\pm$ 1,27 kg, fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Os animais foram avaliados clínica e ecocardiograficamente no período pré-operatório. Aqueles com alterações relevantes da função ventricular e/ou alterações valvares foram excluídos do estudo.

3.2. Anestesia

A intervenção cirúrgica foi realizada sob anestesia geral e em condições estéreis. Os animais foram pré-anestesiados com quetamina (20 mg/kg) intramuscular (IM), o que permitiu a intubação oro-traqueal, realização de tricotomia, seguida de punção venosa com jelco 16G (veia jugular) e punção arterial com jelco 20G (artéria femoral). A antibióticoprofilaxia foi realizada com gentamicina (40 mg) e cefalotina (1 g) em injeção intravenosa (IV) lenta.

Após intubados, os animais foram ventilados sob pressão (Ventilador Harvard 708, South Natick, MA, EUA), com fração inspirada de oxigênio de 100%. A anestesia foi mantida com ministração intermitente de fentanil (0,04 mg/kg, IV) e midazolan (0,1 mg/kg, IV), de acordo com a necessidade. Isto garantiu um plano anestésico estável, evitando-se assim a indução de taquicardia, hipotensão e/ou depressão miocárdica grave. O ritmo cardíaco e a pressão arterial sistêmica foram continuamente monitorados através do programa ACQ Knowledge 3.01 (Biopac Systems, Inc., Goleta, CA, EUA).

3.3. Procedimento Cirúrgico

Os cães foram operados através de uma toracotomia feita no quarto espaço intercostal direito. Para garantir uma boa exposição do VD, tronco pulmonar (TP) e aorta, o saco pericárdio foi amplamente aberto anteriormente ao nervo frênico e tracionado, tomando-se o devido cuidado com este nervo. Para tomada de medidas hemodinâmicas, três cateteres (Intracath 17G) foram implantados temporariamente, na via de saída do VD, na junção da veia pulmonar superior direita com o átrio esquerdo (AE) e átrio direito (AD) e mantidos no local com torniquete de fio polipropileno 5.0. O cateter do AD era facilmente introduzido no VD, pela sua mobilização através da valva tricúspide, servindo para medidas de pressões nas duas câmaras. As medidas de pressões da artéria pulmonar foram obtidas pelo cateter da via de saída do VD, introduzido no TP pelo seu avanço através da valva pulmonar. Ao final da cirurgia, os cateteres foram retirados, e as suturas em bolsa, amarradas. Na ocasião da reoperação, novas suturas em bolsas foram feitas nos mesmos locais anteriormente utilizados.

As medidas hemodinâmicas foram anotadas em condições basais e após a indução da falência do VD. Depois do registro das medidas pressóricas basais, o TP e a aorta foram então dissecados e isolados, para implante do fluxômetro ultrassônico T106 (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, EUA) para medida do fluxo sanguíneo pulmonar e aórtico (figura 1). O fluxômetro foi implantado primeiro na aorta ascendente e posteriormente no tronco da artéria pulmonar, e as medidas de fluxo foram feitas de forma seqüencial.

Figura1. Desenho esquemático mostrando cateteres posicionados no ventrículo direito, átrio esquerdo e tronco pulmonar. Fluxômetro posicionado no tronco pulmonar.

Ao término do procedimento cirúrgico, procedeu-se ao fechamento do tórax por planos e drenagem pleural direita em selo d'água. Os animais foram então encaminhados ao biotério para recuperar-se da anestesia.

Todos os animais foram reoperados 14 dias após a primeira intervenção cirúrgica para novas medidas hemodinâmicas e coleta de amostra sanguínea para exames. A seguir, os animais foram mortos e os corações foram retirados para avaliação morfológica.

3.4. Indução da Falência Ventricular Direita

Após o registro dos dados hemodinâmicos e coleta de amostras de sangue para análise bioquímica, a falência ventricular direita foi obtida através de múltiplas injeções de etanol 96%, na dose de 1ml/kg de peso corpóreo, utilizando-se seringa de insulina com agulha hipodérmica (25x8). As injeções foram realizadas na camada subepicárdica de toda a parede livre do VD, com exceção de sua via de saída. Injeções intravasculares e/ou intra-cavitárias foram cuidadosamente evitadas. Para isso, tomou-se o cuidado de introduzir a agulha hipodérmica sempre paralela à superfície epicárdica do VD. As injeções somente foram feitas durante o movimento de recuo da agulha. Não houve grande perda sanguínea através dos locais de punção, e naqueles pontos onde houve punção acidental de vasos, a simples compressão local foi suficiente para controlar o sangramento. Para completa exposição do ápice do VD, o coração foi elevado, colocando-se algumas gazes dentro do saco pericárdico.

Ao final das injeções de etanol, depois de atingida a estabilidade hemodinâmica do animal, foram realizadas novas medidas pressóricas, bem como coleta de amostra de sangue para nova avaliação bioquímica.

3.5. Cuidados Pós-operatórios

Por se tratar de estudo crônico, os cuidados pós-operatórios foram minuciosamente dispensados aos animais estudados. Para garantir uma boa analgesia no pós-operatório, todos os animais foram medicados com Dipirona (20 mg/kg IV) ao término da cirurgia. Naqueles raros casos de dor pós-operatória refratária, uma dose suplementar de morfina (2 mg) foi ministrada por via intramuscular.

Foi mantido um dreno torácico em selo d'água nas primeiras horas de pós-operatório. Durante este período, com os animais já completamente recuperados da anestesia e extubados, os mesmos foram mantidos em maca especial para quadrúpedes, medida que garantiu maior conforto aos animais e menor risco de deslocamento do dreno torácico.

Uma vez retirado o dreno torácico, e estando os animais estáveis, os mesmos foram colocados em suas gaiolas e, nas horas subseqüentes, mantidos sob observação rigorosa.

3.6. Medidas Hemodinâmicas

Imediatamente após o implante dos cateteres intracavitários, precedendo a indução da falência ventricular direita, foram registradas as pressões médias basais nos átrios, VD e TP, seguidas pelas medidas de

fluxos sanguíneos sistêmico e pulmonar, feitos de forma seqüencial e utilizando o mesmo fluxômetro (momento basal).

Para leitura definitiva dos valores pressóricos, dos fluxos sistêmico e pulmonar, os animais foram desconexionados da ventilação mecânica por um período mínimo de 20 segundos. Todas as medidas foram repetidas após a indução da falência do VD (momento pós-infarto) e no 14º dia pós-operatório (momento reoperação).

3.7. Medidas Bioquímicas

Foram colhidas amostras de sangue (arterial e venosa) para análise bioquímica, antes (momento basal) e após a indução da falência ventricular direita (momento pós-infarto) e no 14º dia pós-operatório (momento reoperação). Foram dosados os gases sanguíneos e lactato (Nova Biomedical – Stat Profile Ultra; Waltham, MA, EUA).

3.8. Avaliação Ecocardiográfica

Todos os exames foram feitos pelo mesmo observador, com os animais sedados (quetamina, 20 mg/kg,IM). Os animais foram avaliados no pré-operatório (momento basal), no 6º dia (momento semana 1) e no 13º dia pós-operatório (momento semana 2), quanto aos seguintes parâmetros:

- 1- Fração de ejeção ventricular direita e esquerda
- 2- Volume diastólico do VD
- 3- Volume sistólico do VD
- 4- Débito cardíaco sistêmico e pulmonar
- 5- Diâmetro diastólico do ventrículo direito.

Foram utilizados transdutores de 7,5 MHz para a obtenção das imagens e de 2.5 MHz para análise dos fluxos. A fração de ejeção ventricular esquerda foi avaliada pelo método de Teichholz⁸¹. Os volumes sistólico final (VSF) e diastólico final (VDF) do ventrículo direito foram obtidos através da fórmula área x comprimento, no corte apical quatro câmaras. Neste método, para o cálculo da área, realiza-se a planimetria de todo o endocárdio ventricular direito, indo de um extremo a outro do anel da valva tricúspide. O comprimento é medido do ápice até o ponto que intercepte uma linha imaginária ligando os dois lados do anel valvar tricúspide. Estes parâmetros são mensurados no final da diástole e da sístole. A eficiência hemodinâmica foi avaliada através da fração de ejeção do VD (FEVD), que foi obtida a partir da diferença dos volumes assim medidos, de acordo com a fórmula^{82,83}:

$$FEVD = (VDF - VSF) \times VDF^{-1}$$

Os débitos sistêmico e pulmonar foram avaliados através da seguinte fórmula:

$$DC = FC \times AST \times VTI \text{ (l/min)}$$

Onde: DC= débito cardíaco

FC= frequência cardíaca

AVS= área de secção transversa da via de saída do VE ou do VD

IVT= integral velocidade-tempo

Considerando que a via de saída do VE e do VD apresentam anatomia circular, a área de secção transversa é calculada como $(D/2)^2 \times \pi$. A partir do corte paraesternal longitudinal, mede-se o diâmetro da via de saída do VE e do VD. Sendo o diâmetro o dobro do raio, assume-se que a área é igual a $2r^2/4 \times \pi$.

A integral velocidade-tempo, que representa a media de todas as velocidades de pico da curva espectral, é estimada pelo Doppler pulsado, colocando-se o volume da amostra na via de saída do VE e do VD.

3.9. Avaliação Morfológica

Completado o protocolo de estudo (14 dias), os animais foram mortos, seguindo-se os princípios de cuidados com animais de laboratório. Após atingir o plano anestésico profundo obtido com dose excessiva de midazolan + fentanil, os animais foram heparinizados para evitar a formação de coágulos intramurais. Procedeu-se então à injeção de solução de cloreto de potássio endovenoso até que ocorresse parada cardíaca. A seguir, os corações foram extraídos e fixados em formaldeído a 10%.

Após um período mínimo de fixação de sete dias, os corações foram seccionados transversalmente em um plano localizado a média distância

entre o anel valvar tricúspide e a ponta do VD, para quantificar a extensão do infarto. As duas partes obtidas foram subdivididas em partes iguais (figura 2).

Figura 2. Coração fixado e seccionado transversalmente em três diferentes planos.

Usando sistema de análise de imagem com microscópio estereoscópico (lupa), interligado a programa de computador capaz de fazer medida de área (Quantimet – Leica, Leica Cambridge Ltd, Cambridge, Reino Unido), foram quantificadas com aumento de 2,5 vezes, em cada superfície de corte, as áreas proporcionais de lesão pelo etanol em relação às áreas de músculo sadio. Também foram preparadas lâminas de amostras coletadas nas superfícies de cada corte das porções basal, média e apical da parede livre do ventrículo direito, preferencialmente nas áreas do miocárdio lesado pelo etanol. Cortes histológicos com espessura de 5 mm foram corados pela Hematoxilina-Eosina, para avaliação microscópica.

3.10. Análise Estatística

A normalidade da distribuição das variáveis foi avaliada por meio de teste de Kolmogorov-Smirnov.

As variáveis hemodinâmicas, bioquímicas e ecocardiográficas foram apresentadas descritivamente em tabelas contendo média, desvio padrão, mediana, valores mínimos e máximos. Os dados morfológicos foram analisados de forma descritiva.

As médias das variáveis mensuradas em mais de uma condição de avaliação (basal e momentos 1 e 2) foram avaliadas com análise de variância para medidas repetidas. Atingindo o nível de significância estabelecido, foi realizado pós-teste de comparações múltiplas com

contrastes para discriminar as diferenças. As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico SAS⁸⁴.

Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Resultados

4. RESULTADOS

Dos treze cães operados, dois foram a óbito (mortalidade: 15,4%). Um óbito ocorreu durante a reoperação, por hemorragia durante a tentativa de posicionamento do fluxometro ultrassônico nos grandes vasos. O outro animal evoluiu para o óbito no 13º dia após a indução da falência ventricular direita. A lesão ventricular direita quantificada neste animal foi de 78% de área infartada do VD, semelhante aos demais (média do grupo = 74% $\pm$ 0,06%). A avaliação *post-mortem* não mostrou pneumotórax, nem coleções purulentas pleurais ou pericárdicas. Na reoperação (14º dia pós-operatório), todos os animais apresentaram algum grau de derrame pleural. Dos doze animais reoperados, dois encontravam-se em ritmo de fibrilação atrial (16,7%). As aderências encontradas na reoperação não dificultaram tecnicamente a instrumentação cirúrgica e registro de dados.

Foram colhidos dados hemodinâmicos completos de onze animais, coletas de amostras sanguíneas para dosagem de lactato nos três diferentes momentos do experimento em doze animais e para dosagem de saturação venosa em onze deles. Em doze animais foram feitas todas as três avaliações ecocardiográficas, e todos eles tiveram os corações retirados para avaliação morfológica.

4.1. Dados Hemodinâmicos

A tabela 2 e a figura 3 mostram os dados do débito cardíaco sistêmico medido através de fluxômetro colocado na aorta do animal. Houve diferença estatística entre os momentos basal, imediatamente após a indução da falência do VD e na reoperação.

Tabela 2. Dados do débito cardíaco sistêmico (ml/min).

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
BASAL	11	810,91	97,82	810	650	950
PÓS INFARTO	11	713,45	82,38	700	620	860
REOPERAÇÃO	11	762,73	97,89	780	600	910

$p=0,0016$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Pós-infarto = 0,0004

Basal x Reoperação = 0,0011

Pós-infarto x Reoperação = 0,0105

Figura 3. Evolução do débito cardíaco sistêmico durante o protocolo de estudo.

A tabela 3 mostra queda no débito cardíaco pulmonar (de 786,3 ml/min $\pm$ 111,7 ml/min para 709,6 ml/min $\pm$ 96,1 ml/min; $p=0,0018$) após a indução da falência quando comparada aos valores medidos no momento basal. Também foi observada uma queda com significância estatística quando comparamos os valores basais aos valores medidos na reoperação (de 786,3 ml/min $\pm$ 111,7 ml/min para 711,8 ml/min $\pm$ 98,6 ml/min; $p=0,0021$). Não há diferença estatística quando comparamos os momentos pós-indução de falência e reoperação. Estes dados estão representados no gráfico da figura 4.

Tabela 3: Dados do débito cardíaco pulmonar (ml/min).

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
BASAL	11	786,27	111,65	780	580	960
PÓS INFARTO	11	709,55	96,14	700	580	850
REOPERAÇÃO	11	711,82	98,57	690	580	880

$p=0,0045$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Pós-infarto = 0,0018

Basal x Reoperação = 0,0021

Pós-infarto x Reoperação = 0,9034

Figura 4. Evolução do débito cardíaco pulmonar durante os diferentes momentos do protocolo de estudo.

Os dados da tabela 4 mostram um aumento da pressão média no VD, quando comparamos os valores basais com os medidos imediatamente após indução da falência do VD (11,82 mm Hg $\pm$ 2,48 mm Hg para 15,18 mm Hg $\pm$ 3,52 mm Hg; $p=0,0046$) e com aqueles medidos durante a reoperação (11,82 mm Hg $\pm$ 2,48 mm Hg para 14,73 mm Hg $\pm$ 3,88 mm Hg; $p=0,022$). Não houve diferença estatística entre os valores medidos imediatamente após a indução do infarto de VD com aqueles registrados na reoperação (15,18 mm Hg $\pm$ 3,52 mm Hg versus 14,73 mm Hg $\pm$ 3,88 mm Hg; $p=0,75$). Estes dados estão representados graficamente na figura 5.

Tabela 4. Dados da pressão média no ventrículo direito (mm Hg).

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
BASAL	11	11,82	2,48	11	9	17
PÓS INFARTO	11	15,18	3,52	16	8	21
REOPERAÇÃO	11	14,73	3,88	14	8	22

$p=0,0067$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Pós-infarto = 0,0046

Basal x Reoperação = 0,0220

Pós-infarto x Reoperação = 0,7549

Figura 5. Evolução da pressão média em VD durante os diferentes momentos do protocolo de estudo.

Não houve diferenças significativas entre os diferentes momentos de avaliação em relação às medidas de pressões médias registradas no tronco pulmonar ($p=0,68$), no AE ($p=0,46$), no AD ($p=0,09$) e na artéria femoral ($p=0,43$), conforme mostrado na tabela 5.

Tabela 5. Valores das pressões medidas no AE, AD e TP (mm Hg).

Medidas	N	Basal	Pós IAM	Reop	Valor p
AE	11	7,45 ± 3,11	7,91 ± 3,21	7,09 ± 1,87	0,46
AD	11	5,91 ± 2,30	7,09 ± 1,97	7,18 ± 1,99	0,084
TP	11	16,45 ± 4,01	17,27 ± 3,04	16,73 ± 4,24	0,68

Valores = média ± DP (mm Hg); AE = átrio esquerdo; AD = átrio direito; TP = tronco pulmonar; Basal = Medidas das pressões tomadas antes da indução da falência de VD; Pós IAM = Medidas das pressões tomadas após a indução da falência de VD; Reop = Medidas das pressões tomadas no 14º dia pós-operatório da indução da falência de VD.

4.2. Dados Bioquímicos

Os resultados das medidas do lactato venoso nos diferentes momentos da indução da falência do ventrículo direito encontram-se expressos na tabela 6. Estes dados mostram um aumento nos valores do lactato venoso quando comparamos os tempos basal e pós-infarto (de $0,95 \text{ mmol/l} \pm 0,76 \text{ mmol/l}$ para $3,69 \text{ mmol/l} \pm 1,85 \text{ mmol/l}$; $p=0,0001$). Observou-se também um aumento deste parâmetro quando comparados os valores basais com aqueles da reoperação (de $0,95 \text{ mmol/l} \pm 0,76 \text{ mmol/l}$ para $2,19 \text{ mmol/l} \pm 0,91 \text{ mmol/l}$; $p=0,0003$). Estes dados estão representados graficamente na figura 6.

Tabela 6. Medidas de lactato venoso em diferentes momentos (mmol/l).

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
BASAL	12	0,95	0,74	0,65	0,5	2,9
PÓS INFARTO	12	3,69	1,85	3	2,1	8,2
REOPERAÇÃO	12	2,19	0,91	2,05	0,8	3,7

$p=0,0002$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Pós-infarto = 0,0001

Basal x Reoperação = 0,0003

Pós-infarto x Reoperação = 0,0034

Figura 6. Representação gráfica dos valores de lactato venoso dos diferentes momentos do experimento.

Os resultados das medidas da saturação venosa nos diferentes momentos da indução da falência do ventrículo direito encontram-se expressos na tabela 7. Estes dados mostram uma queda nos valores da saturação venosa, quando comparamos os tempos basal e pós-infarto (de $80,1\% \pm 15,3\%$ para $64,8\% \pm 20,0\%$; $p=0,0012$). Quando comparados os

valores basais com aqueles da reoperação, não houve diferença estatística ($80,1\% \pm 15,3\%$ versus $77,6\% \pm 12,9\%$; $p=0,565$). Estes dados estão representados graficamente na figura 7.

Tabela 7. Dados da saturação venosa de oxigênio (%).

Momento	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
BASAL	11	80,06	15,25	81,5	53,9	100
PÓS INFARTO	11	64,83	20,02	67	15,7	87,4
REOPERAÇÃO	11	77,59	12,92	76	63,2	100

$p=0,0067$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Pós-infarto = 0,0012

Basal x Reoperação = 0,5655

Pós-infarto x Reoperação = 0,0402

Figura 7. Representação gráfica dos valores da saturação venosa nos diferentes momentos do protocolo.

4.3. Dados Ecocardiográficos

Os dados ecocardiográficos referentes às medidas do volume diastólico do ventrículo direito (VOLDVD) encontram-se na tabela 8. Houve um aumento no VOLDVD quando comparamos os dados basais com aqueles da primeira semana de seguimento ($11,89 \text{ ml} \pm 3 \text{ ml}$ versus $22,12 \text{ ml} \pm 5,29 \text{ ml}$; $p=0,0001$). Similarmente, houve um aumento deste parâmetro quando comparamos os dados basais com aqueles medidos duas semanas após a indução da falência ($11,89 \text{ ml} \pm 3 \text{ ml}$ versus $16,44 \text{ ml} \pm 5,17 \text{ ml}$; $p=0,0084$). A figura 8 mostra graficamente estes resultados.

Tabela 8. Dados do volume diastólico final do VD (ml).

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Basal	12	11,89	3,00	11,95	6,7	18,9
Semana 1	12	22,12	5,29	20,3	17,1	33,9
Semana 2	12	16,44	5,17	15,51	7,9	28,1

$p=0,0001$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Semana 1 = 0,0001

Basal x Semana 2 = 0,0084

Semana 1 x Semana 2 = 0,0005

Figura 8. Representação gráfica das variações do volume diastólico do ventrículo direito durante o protocolo.

Os dados referentes às medidas do volume sistólico do ventrículo direito (VOLSVD) encontram-se expostos na tabela 9. Houve um aumento do VOLSVD quando comparamos os dados basais com aqueles medidos uma semana após indução da falência ($4,33 \text{ ml} \pm 1,26 \text{ ml}$ versus $14,07 \text{ ml} \pm$

4,15 ml; $p=0,0006$). Houve também aumento do VOLSVD quando comparamos os dados basais com aqueles medidos duas semanas após indução da falência do VD ($4,33 \text{ ml} \pm 1,26 \text{ ml}$ versus $9,78 \text{ ml} \pm 3,15 \text{ ml}$; $p=0,0041$). Estes dados encontram-se representados na figura 9.

Tabela 9. Dados do volume sistólico final do ventrículo direito (ml).

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Basal	12	4,33	1,26	4,2	2,4	6,9
Semana 1	12	14,07	4,15	13,7	5,1	20,8
Semana 2	12	9,78	3,15	10,0	4,5	16,9

$p=0,0028$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Semana 1 = 0,0006

Basal x Semana 2 = 0,0041

Semana 1 x Semana 2 = 0,0556

Figura 9. Representação gráfica das variações do volume sistólico do ventrículo direito.

As medidas do diâmetro diastólico do ventrículo direito (DDVD) são mostradas na tabela 10. Houve aumento dos valores basais quando comparados com os da primeira semana (1,24 cm $\pm$ 0,22 cm versus 2,07 cm $\pm$ 0,31 cm; $p= 0,0001$), e também com os da segunda semana (1,24 cm $\pm$ 0,22 cm versus 1,62 cm $\pm$ 0,32 cm; $p= 0,0017$). Estes dados estão representados graficamente na figura 10.

Tabela 10. Dados do diâmetro diastólico do VD (cm).

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Basal	12	1,24	0,22	1,25	0,9	1,6
Semana 1	12	2,07	0,31	2,145	1,5	2,5
Semana 2	12	1,62	0,32	1,6	1,1	2,2

$p=0,0001$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Semana 1 = 0,0001

Basal x Semana 2 = 0,0017

Semana 1 x Semana 2 = 0,0001

Figura 10. Representação gráfica das variações do diâmetro diastólico do ventrículo direito.

A avaliação da fração de ejeção do ventrículo direito (FEVD) mostrou uma queda, quando comparamos os valores basais com aqueles da primeira semana ($0,65 \pm 0,06$ versus $0,32 \pm 0,05$; $p = 0,0001$) e com os da segunda semana ($0,65 \pm 0,06$ versus $0,41 \pm 0,05$; $p = 0,0001$). A tabela 11 mostra estes dados, que estão também representados graficamente na figura 11.

Tabela 11. Dados da fração de ejeção do ventrículo direito.

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Basal	12	0,65	0,06	0,635	0,55	0,73
Semana 1	12	0,32	0,05	0,325	0,22	0,42
Semana 2	12	0,41	0,05	0,395	0,32	0,49

$p = 0,0001$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Semana 1 = 0,0001

Basal x Semana 2 = 0,0001

Semana 1 x Semana 2 = 0,0009

Figura 11. Representação gráfica da fração de ejeção do VD durante o estudo.

Os dados da tabela 12 mostram uma queda da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), quando comparamos os dados basais com aqueles medidos seis dias após a indução da falência ($0,79 \pm 0,05$ versus $0,65 \pm 0,11$; $p=0,023$). Entretanto, não houve diferença entre os dados obtidos no momento basal contra aqueles registrados 13 dias após a indução da falência ($0,74 \pm 0,05$ versus $0,67 \pm 0,11$; $p= 0,091$). Estes dados estão representados graficamente na figura 12.

Tabela 12. Dados da fração de ejeção do VE.

Momento	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Basal	12	0,74	0,05	0,735	0,65	0,82
Semana 1	12	0,65	0,11	0,675	0,38	0,76
Semana 2	12	0,67	0,11	0,685	0,41	0,82

$p=0,0359$ Há efeito de condição de avaliação

Basal x Semana 1 = 0,0232

Basal x Semana 2 = 0,0911

Semana 1 x Semana 2 = 0,0949

Figura 12. Representação gráfica da fração de ejeção do VE durante o estudo.

4.4. Achados Morfológicos

Na avaliação macroscópica das superfícies de corte do miocárdio ventricular direito, as áreas de infarto aparecem como uma lesão de cor marrom clara com consistência aumentada e algumas vezes margeada por hemorragia (figura 13). A quantificação da área total de lesão miocárdica induzida pelo etanol foi de $74\% \pm 0,06\%$ em relação ao miocárdio aparentemente normal.

Figura 13. Imagem da superfície de corte do miocárdio mostrando área com lesão pelo etanol na parede livre do VD.

Na avaliação microscópica, observou-se que os infartos foram na sua maioria transmuralis. A necrose foi do tipo coagulativa, algumas vezes acompanhada de processo de liquefação. Houve infiltrado inflamatório predominantemente histiocitário e, ao redor de alguns focos de necrose miocárdica, notou-se infiltrado neutrofílico que, contudo, não penetravam profundamente nos focos. Havia raras imagens de células gigantes de corpo estranho no tecido necrosado. Frequentemente foram encontrados miócitos hialinos que perderam suas estriações citoplasmáticas (células fantasmas), entremeados por tecido cicatricial e infiltrado inflamatório. Observou-se também vasos trombosados, com parede íntegra ou necrótica ou ainda com fibrose íntima discreta, bem como neoformação vascular. Os resultados da avaliação microscópica estão apresentados na tabela 13. Ver também figuras 14 a 17.

Tabela 13. Avaliação microscópica do miocárdio.

Lâmina	Infarto profundidade	Vasos	Miócitos necróticos	Infiltrado inflamatório
2903 A	$\frac{2}{3}$	Trombose	Abundantes	Histiocitário
2903 M	Transmural	Trombose	Abundantes	Histiocitário
2903 B	$\frac{5}{6}$	Trombose	Abundantes	Histiocitário
1305 A	Transmural	Trombose	Abundantes	Ausente, só necrose
1305 M	Transmural	Trombose	Abundantes	Neutrofílico em meio à necrose
1305 B	$\frac{3}{4}$	Trombose	Abundantes	Histiocitário predomina; neutrofílico focal
1501 A	Transmural	Trombose	Nº moderado	Histiocitário
1501 M	$\frac{4}{5}$	NDN	Nº pequeno	Histiocitário predomina; neutrofílico focal
1501 B	$\frac{1}{6}$	NDN	Nº pequeno	Histiocitário
2204 A	Transmural	Necrose	Abundantes	Neutrofílico em meio à necrose
2204 M	Transmural	Trombose	Abundantes	Neutrofílico em meio à necrose
2204 B	Transmural	Trombose	Abundantes	Histiocitário predomina; neutrofílico focal
2608 A	$\frac{4}{5}$	Necrose	Nº moderado	Histiocitário predomina; neutrofílico focal
2608 M	Transmural	NDN	Nº moderado	Histiocitário predomina; neutrofílico focal
2608 B	$\frac{1}{2}$	NDN	Nº moderado	Histiocitário
2901 A	Transmural	Necrose/trombose	Nº moderado	Histiocitário
2901 M	Transmural	Trombose	Abundantes	Histiocitário
2901 B	$\frac{2}{3}$	Fibrose intimal	Nº moderado	Histiocitário
2503 A	Transmural	Fibrose intimal	Nº moderado	Histiocitário
2503 M	$\frac{2}{3}$	NDN	Abundantes	Histiocitário
2503 B	Transmural	Fibrose intimal	Abundantes	Histiocitário
0306 A	Transmural	NDN	Nº moderado	Histiocitário
0306 M	Transmural	Necrose/trombose	Abundantes	Histiocitário
0306 B	$\frac{1}{2}$	NDN	Nº moderado	Histiocitário
0412 A	$\frac{1}{4}$	NDN	Nº pequeno	Histiocitário
0412 M	$\frac{2}{3}$	NDN	Nº moderado	Histiocitário
0412 B	$\frac{2}{3}$	NDN	Nº pequeno	Histiocitário
1202 A	Transmural	NDN	Abundantes	Histiocitário
1202 M	$\frac{1}{2}$	NDN	Nº pequeno	Histiocitário
1202 B	$\frac{1}{2}$	NDN	Nº moderado	Histiocitário
1902 A	Transmural	Trombose	Abundantes	Histiocitário
1902 M	Transmural	Necrose/trombose	Abundantes	Histiocitário
1902 B	$\frac{4}{5}$	Fibrose intimal	Abundantes	Histiocitário
2406 M	Transmural	Necrose/trombose	Abundantes	Histiocitário
2406 B	Transmural	Trombose	Abundantes	Ausente, só necrose
2811 A	$\frac{3}{4}$	Trombose	Abundantes	Histiocitário
2811 M	NO	NO	NO	NO
2811 B	Transmural	NDN	Abundantes	Histiocitário

Lâmina A= Corte porção apical; Lâmina M= Corte porção média; Lâmina B= Corte porção basal; NO=não obtido; NDN= nada digno de nota.

Figura 14. Fotomicrografia da periferia de lesão miocárdica pelo etanol, exibindo infiltrado inflamatório histiocitário com células gigantes (seta) em meio a fibrose. Notam-se também miócitos necróticos (asteriscos) (HE; 40x).

Figura 15. Fotomicrografia de periferia de lesão miocárdica pelo etanol, exibindo reação cicatricial, infiltrado inflamatório histiocitário e miócitos necróticos (HE; 10x).

Figura 16. Fotomicrografia de lesão miocárdica pelo etanol, mostrando pequena artéria (seta) com trombose organizada (HE; 10x).

Figura 17. Fotomicrografia de lesão miocárdica provavelmente isquêmica, mostrando artéria com trombose recente (seta). Na metade superior notam-se hemorragia (asteriscos) e necrose miocárdica (HE; 10x).

Discussão

5. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que a injeção de etanol na camada subepicárdica do miocárdio ventricular direito é capaz de produzir um modelo experimental de falência crônica isolada do VD. Isto fica claro quando analisamos os dados hemodinâmicos, bioquímicos e ecocardiográficos; e principalmente quando demonstramos na avaliação morfológica do miocárdio do VD, lesões com características histológicas de infarto com duas semanas de evolução.

O ventrículo direito, até pouco tempo, era visto como tendo pouca importância fisiológica, sendo considerado apenas um condutor de sangue. Pouco valor era dado a sua capacidade contrátil, sendo assim raramente estudado. Apesar da descrição do infarto do ventrículo direito ter sido feita há mais de seis décadas⁸⁵, durante muito tempo ele foi considerado como uma entidade clínica pouco importante. Somente em 1974, Cohn et al⁸⁶ descreveram o infarto de VD como entidade clínica distinta e algum valor passou a ser creditado à função contrátil do ventrículo direito. Grande parte deste erro de avaliação atribui-se aos estudos experimentais feitos inicialmente, nos quais grandes danos eram feitos no VD com pouca repercussão hemodinâmica sistêmica. Em clássico trabalho publicado em

1943, Starr et al⁸⁷ avaliaram as alterações hemodinâmicas em animais anestesiados e com o pericárdio aberto, após extensa lesão por cauterização na parede livre do VD de cães. Foi observada uma discreta variação na pressão venosa dos animais, o que levou os autores a concluir que a disfunção do músculo cardíaco direito tivesse pouca relevância como fator causal da insuficiência cardíaca direita ou insuficiência cardíaca global. Este conceito perdurou por um longo período.

Mais recentemente, Goldstein et al⁸⁸ demonstraram, em modelo experimental de falência ventricular direita aguda, que a capacidade do VE de gerar pressão arterial e débito cardíaco poderia ser aumentada com o ajuste da pré-carga do VD e/ou abertura do pericárdio. Em modelo experimental de tromboembolismo pulmonar em cães, a pericardiotomia produziu um efeito similar na melhora do débito cardíaco sistêmico, mas a sobrecarga volêmica, em presença do pericárdio intacto, causou rápida piora hemodinâmica⁸⁹. Também em humanos com infarto do VD, estudos prévios demonstraram não haver uma relação linear entre sobrecarga volêmica e aumento do débito cardíaco. Associada com a adequação volêmica, a administração de dobutamina em baixas doses mostrou-se eficaz em melhorar o desempenho global do ventrículo, atuando na redução da pós-carga do ventrículo direito^{90,91}. Todos estes estudos realçaram a importância do conceito de interdependência ventricular, e nos faz entender que a disfunção de VD atua negativamente sobre o VE, não somente limitando sua pré-carga, mas também através da interrelação via septo interventricular e pericárdio. Esta interdependência ventricular causa um aumento da pressão

diastólica do VE, diminui a sua complacência, e dificulta o seu enchimento^{92,93}.

Ainda hoje, não há completo entendimento das alterações fisiopatológicas decorrentes da disfunção do VD, bem como não há um consenso sobre o melhor tratamento e o momento ideal para seu início. Algumas destas dúvidas talvez fossem resolvidas com a construção de um modelo experimental capaz de reproduzir a falência ventricular direita, uma vez que os modelos disponíveis não atendem bem a este objetivo. O modelo de falência ventricular direita induzida por lesão direto do álcool sobre o miocárdio ventricular direito, por reproduzir várias características da doença nativa, certamente contribuirá com novos conhecimentos.

5.1. Dados Hemodinâmicos

A avaliação hemodinâmica do modelo proposto mostrou haver uma piora em alguns dos parâmetros relacionados ao VD, medidos imediatamente após a indução da falência, com recuperação parcial, sem contudo haver um retorno às condições basais. Aqueles parâmetros que se relacionam exclusivamente com a função ventricular esquerda sofreram poucas alterações ou as mudanças observadas inicialmente recuperaram no decorrer do estudo. O fato de termos o pericárdio aberto, animais anestesiados e ventilados com pressão positiva, talvez possa explicar porque alguns dos parâmetros medidos não apresentaram alterações

expressivas, como, por exemplo, a ausência de alterações nas pressões intra-cavitárias do átrio direito. Uma alternativa para minimizar a influência das variações da pré e pós-carga na avaliação da função ventricular seria o uso de cateteres para análise das curvas pressão-volume, o que não foi possível neste estudo.

Goto et al⁹⁴ demonstraram experimentalmente que a isquemia miocárdica causa um desvio do septo interventricular para a esquerda, ao final da diástole, distorcendo a geometria ventricular esquerda, sem contudo causar danos a sua capacidade contrátil. Mostraram também haver um desvio da curva de pressão-volume para cima e para a esquerda, ao final da diástole ventricular esquerda. Assim, concluem que a redução do débito cardíaco sistêmico em resposta à isquemia ventricular direita, deve-se à redução do volume diastólico final do VE, atribuída à disfunção sistólica do VD, com conseqüente redução do débito cardíaco pulmonar, somada a redução da complacência ventricular esquerda. A presença do pericárdio intacto aumenta a magnitude destas alterações e a abertura do pericárdio corrige parcialmente estas alterações⁹⁵.

Pacientes portadores de displasia arritmogênica do ventrículo direito e aqueles com anomalia de Ebstein são outros bons exemplos de disfunção isolada do VD. Nestes casos, a cirurgia de exclusão do VD tem sido proposta como forma de descomprimir e melhorar o desempenho contrátil do ventrículo esquerdo⁹⁶. Neste contexto, modelos experimentais de falência isolada de VD são uma boa alternativa para quantificar o impacto

hemodinâmico que a descompressão do VD falido possa vir a ter na melhora da função do VE e qual o seu significado clínico.

5.2. Dados Bioquímicos

A monitorização seriada dos níveis de lactato sanguíneo é um dos parâmetros mais objetivos para avaliação da gravidade da síndrome de baixo débito cardíaco. Em situações clínicas de baixa oferta tecidual de oxigênio, há uma diminuição da oxidação do piruvato no ciclo de Krebs com aumento da produção de lactato (metabolismo anaeróbico). A quantidade de lactato produzida nesta situação correlaciona-se com o grau de hipoxemia tecidual e a gravidade do choque, sendo assim um bom indicador de prognóstico⁹⁷. A avaliação dos níveis séricos de lactato é considerada hoje um dos melhores parâmetros de avaliação da perfusão celular, e sua monitorização faz parte da rotina da maioria dos serviços que tratam de pacientes graves.

A avaliação da curva dos níveis séricos de lactato, feita em momentos distintos do protocolo, foi compatível com a indução de falência miocárdica direita e baixo débito cardíaco. A grande elevação dos valores iniciais coincide com a fase de maior repercussão hemodinâmica da falência miocárdica. Houve uma tendência a queda nos valores finais quando comparados àqueles medidos nos pós-infarto imediato, fato que pode ser explicado pela melhora parcial do estado de baixo débito cardíaco, quando entram em ação os mecanismos compensatórios.

Os valores da saturação venosa central também seguem a mesma tendência, com queda consistente no pós-infarto imediato e recuperação maior nos dias subseqüentes.

5.3. Dados Ecocardiográficos

O ecocardiograma mostra-se útil para avaliação da extensão da lesão miocárdica no infarto do VD. Imagens em quatro câmaras podem ser usadas para determinar os diâmetros das cavidades direitas bem como para avaliar a contratilidade das paredes antero-lateral, inferior e septo interventricular. Em pacientes com disfunção grave do VD, as imagens mostram dilatação das câmaras cardíacas com acinesia da parede posteoinferior e movimento paradoxal do septo interventricular⁹⁸.

Os dados ecocardiográficos extraídos do estudo são bastante ilustrativos da falência induzida no VD pelo etanol. Os dados colhidos seis dias após a indução da falência são compatíveis com uma disfunção grave no ventrículo direito. Há algum grau de recuperação no decorrer da semana seguinte, sem retorno aos valores basais. Aqueles dados que se referem exclusivamente à função contrátil do VE não acompanharam a tendência de piora vista naqueles que se relacionam com a função do VD. Chama a atenção a observação de que os parâmetros ecocardiográficos foram mais representativos da falência ventricular do que os dados hemodinâmicos. Isto pode ser explicado pelo fato dos ecocardiogramas terem sido feitos com os animais acordados, levemente sedados, e em tempos diferentes (seis e treze dias após falência) daqueles da coleta dos dados hemodinâmicos, o que talvez tenha refletido mais fielmente a situação clínica.

5.4. Dados Morfológicos

No presente estudo, os achados da avaliação microscópica, feita a partir de amostras retiradas do ventrículo direito, são corroborados pelos dados da literatura a respeito de lesões miocárdicas induzidas pelo etanol, com duração de duas semanas. A presença de necrose e trombose de vasos miocárdicos, além da necrose coagulativa, com infiltrado inflamatório predominantemente histiocitário e intensa reação cicatricial, são de grande importância para validação deste modelo de falência ventricular, mostrando que as alterações causadas pela infusão intramiocárdica de etanol são compatíveis com lesões permanentes do músculo cardíaco, caracterizados por infartos em evolução. Pelos achados histológicos, pareceu haver dois tipos diferentes de lesão: uma caracterizada por necrose extensa transmural, devido a isquemia secundária à trombose vascular e outra caracterizada pela ação tóxica direta do etanol no tecido cardíaco, com focos menores de necrose, algumas vezes confluentes e circundados por fibrose.

Estudando os efeitos da infusão de etanol no tecido hepático, Oshita et al⁹⁹ observaram um aumento agudo na pressão venosa portal, após a infusão de etanol na veia porta em ratos. Este aumento agudo da pressão portal foi inibido pela infusão de nitroprussiato, sugerindo que o mecanismo de aumento da pressão seja uma vasoconstrição induzida pelo etanol. Já a infusão de etanol a 100% em circulação venosa coronariana de cães causou necrose miocárdica¹⁰⁰. A infusão intramiocárdica transventricular de etanol a 60% em miocárdio de cães produziu necrose coagulativa e hemorragia, com

uma zona de transição delgada, formada por miócitos com infiltração neutrofílica. Após quatro semanas, houve formação de fibrose densa com infiltrado inflamatório discreto a moderado¹⁰¹. Weismuler et al¹⁰², em um modelo experimental em suínos, injetaram etanol intramiocárdio, através de cateter posicionado no ventrículo esquerdo dos animais. A avaliação morfológica, feita 34 semanas após, mostrou necrose sem trombose intravascular. Raute-Kreinsen¹⁰³, examinando os corações de 13 pacientes que morreram entre 25 minutos a dois anos após ablação septal com etanol, para tratamento da cardiomiopatia hipertrófica obstrutiva, concluíram que o etanol “fixa o tecido em sua estrutura natural”, além de promover migração leucocitária para a área de necrose. Entretanto, os neutrófilos que migram para as áreas de necrose são incapazes de penetrar o tecido fixado, sendo que a lise celular ocorre apenas nas bordas da lesão. Baggish et al¹⁰⁴, após examinarem peças cirúrgicas retiradas de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico, entre dois dias a 14 meses após ablação septal com etanol sem sucesso, concluíram que o etanol causa uma necrose coagulativa do miocárdio e das artérias. Estes pesquisadores ressaltam que, além da toxicidade direta sobre os cardiomiócitos, o etanol pode causar lesão das coronárias, desencadeando isquemia miocárdica e estendendo ainda mais a área de necrose miocárdica.

5.5. Implicações clínicas do modelo de falência ventricular isolada

O presente modelo de falência crônica isolada do ventrículo direito mostrou-se viável e reprodutível, podendo ser utilizado para validação de novos métodos diagnósticos não invasivos de avaliação da função do VD, diagnóstico do infarto do VD, bem como para estudar alternativas de tratamento clínico e cirúrgico da falência ventricular direita causada pela perda de miocárdio. Neste sentido, novas técnicas cirúrgicas de tratamento da falência ventricular direita, como as que envolvem a descompressão do VD falido (Cirurgia de Glenn bidirecional, exclusão do VD), criação de shunt a nível atrial (atrioseptostomia) ou o uso de novos dispositivos de assistência ventricular mecânica podem ser avaliadas e aprimoradas antes de serem aplicadas em humanos. O desenvolvimento de falência ventricular direita é uma importante causa de morte nos pacientes submetidos a transplantes cardíacos bem como naqueles submetidos à assistência ventricular esquerda exclusiva. Neste grupo de doentes, alternativas cirúrgicas que promovam a descompressão do VD falido parecem bastante promissoras. Este modelo, quando associado à técnica de indução de bloqueio átrio-ventricular total (BAVT), pode ser uma opção interessante para estudar a importância da manutenção do sincronismo atrioventricular no tratamento do choque cardiogênico associada a BAVT, no infarto agudo do ventrículo direito.

5.6. Limitações do estudo

Apesar de realizadas múltiplas medidas hemodinâmicas nos diferentes momentos do estudo, não foram utilizados cateteres de condutância para avaliação da função ventricular a partir da construção de curvas pressão–volume. Esta é uma forma eficiente de quantificar vários parâmetros hemodinâmicos, que refletem bem a função ventricular direita ou esquerda, independente das condições de pré e pós-carga¹⁰⁵. A análise das curvas de pressão-volume é muito utilizada em estudos experimentais, sendo considerado um bom método de avaliação da função sistólica e diastólica do VD^{106,107}. No presente estudo, as medidas de pressões foram tomadas durante o procedimento cirúrgico, com os animais anestesiados, sob ventilação mecânica com pressão positiva, com tórax aberto e volemia variável. Certamente, a utilização de cateteres de condutância permitiria maior fidelidade dos parâmetros ao minimizar os efeitos das amplas variações de pré e pós-carga ventricular direita durante o procedimento cirúrgico.

A ausência de um grupo Sham foi determinada basicamente pela dificuldade de obtenção de cães para experimentação, imposta pela zoonose da prefeitura municipal de São Paulo. Esta limitação talvez seja minimizada pelos achados morfológicos contundentes. As análises macro e microscópica deste estudo claramente demonstraram que as lesões miocárdicas ocasionadas pelo etanol são graves e de caráter irreversível.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

- 6.1. Este modelo de falência crônica exclusiva de ventrículo direito foi factível e reprodutível, permitindo a sobrevivência da maioria dos animais estudados.
- 6.2. Os achados hemodinâmicos, bioquímicos, ecocardiográficos e morfológicos, em seu conjunto, evidenciam um cenário de falência crônica isolada do ventrículo direito. O acompanhamento clínico, ecocardiográfico e a coleta de dados durante o estudo mostraram que a falência causada pela injeção de etanol é duradoura, com recuperação somente parcial da função miocárdica.

Anexos

7. ANEXOS

Anexo A. Medidas das pressões médias em VD, AD, AE, TP e artéria femoral nos diferentes momentos do protocolo.

Animal	Pressão média VD (mmHg)			Pressão média AD (mmHg)			Pressão média AE (mmHg)			Pressão média TP (mmHg)			Pressão média Fem (mmHg)		
	Basal	Pós IAM	Reop	Basal	Pós IAM	Reop	Basal	Pós IAM	Reop	Basal	Pós IAM	Reop	Basal	Pós IAM	Reop
2811	11	17	14	6	7	8	8	9	9	15	20	16	99	102	103
0412	12	13	22	5	7	9	6	7	10	14	12	15	99	89	98
1501	11	15	18	6	7	9	8	7	8	14	18	21	106	99	73
2901	16	21	19	11	8	9	15	16	5	20	20	23	97	100	124
1202	11	17	15	6	8	8	7	9	8	14	17	19	116	112	110
1902	11	15	8	6	7	4	7	7	5	13	16	10	68	73	87
2503	10	18	13	8	11	5	10	10	7	18	22	22	97	107	80
2204	9	11	12	3	5	7	4	5	4	17	15	13	76	81	76
0306	12	16	12	4	4	7	5	4	8	18	16	15	99	70	79
2608	17	16	16	7	9	9	8	7	8	26	20	18	120	106	120
2903	10	8	13	3	5	4	4	6	6	12	14	12	120	103	80
2406	10	16	NO	5	9	NO	6	7	NO	11	18	NO	66	51	NO
1305	8	12	NO	5	6	NO	5	6	NO	14	12	NO	70	55	NO

VD=ventrículo direito; AD= átrio direito; AE= átrio esquerdo;TP= tronco pulmonar; Fem= artéria femoral; NO = não observado; Basal = medidas das pressões tomadas antes da indução da falência de VD; Pós IAM = medidas das pressões tomadas após indução da falência de VD; Reop = medidas das pressões tomadas no 14º dia pós operatório da indução da falência de VD.

Anexo B. Medidas do débito cardíaco sistêmico e pulmonar nos diferentes momentos do protocolo.

Animal	Débito cardíaco sistêmico (ml/min)			Débito cardíaco pulmonar (ml/min)		
	Basal	Pós IAM	Reop	Basal	Pós IAM	Reop
2811	650	620	600	679	640	610
0412	950	860	910	930	850	840
1501	700	630	670	580	630	580
2901	950	708	850	960	840	780
1202	820	790	810	780	760	760
1902	720	660	670	760	700	650
2503	800	700	690	790	685	620
2204	820	660	740	700	580	660
0306	790	660	790	810	720	760
2608	810	720	780	770	590	690
2903	910	840	880	890	810	880
2406	840	735	NO	770	690	NO
1305	840	690	NO	820	680	NO

Basal = medidas de pressão tomadas antes da indução da falência de VD; Pós IAM = medidas de pressão tomadas após indução da falência de VD; Reop = medidas de pressão tomadas no 14º dia pós operatório da indução da falência de VD; NO = não observado.

Anexo C. Medidas do lactato venoso e saturação venosa de oxigênio nos diferentes momentos do protocolo.

Animal	Lactato venoso (mmol/L)			Saturação venosa de oxigênio (%)		
	Basal	Pós IAM	Reop	Basal	Pós IAM	Reop
2811	2,9	8,2	3,3	97,5	85,9	96,0
0412	0,5	2,2	0,8	91,7	80,9	100
1501	0,5	2,4	1,8	66,5	49,4	84,3
2901	0,7	2,2	1,7	100	87,4	86,4
1202	0,8	3,2	3,7	86,9	67,0	80,4
1902	1,8	3,0	2,4	75,6	72,0	65,8
2503	0,5	2,1	1,0	81,5	70,5	76,0
2204	0,5	6,0	3,2	53,9	15,7	70,7
0306	0,6	4,7	2,1	93,7	60,7	63,2
2608	0,5	3,0	2,0	64,7	58,6	66,0
2903	0,7	2,9	1,5	68,7	65,0	64,7
2406	1,4	3,4	NO	57,9	NO	NO
1305	1,4	4,4	2,8	56,7	NO	NO

Basal = medidas de pressão tomadas antes da indução da falência de VD; Pós IAM = medidas de pressão tomadas após indução da falência de VD; Reop = medidas de pressão tomadas no 14º dia pós operatório da indução da falência de VD; NO = não observado.

Anexo D. Medidas ecocardiográficas nos diferentes momentos do protocolo.

Animal	Vol D VD (ml)			Vol S VD (ml)			DDVD (cm)			FEVD			FEVE		
	Basal	Sem1	Sem2	Basal	Sem1	Sem2	Basal	Sem1	Sem2	Basal	Sem1	Sem2	Basal	Sem1	Sem2
2811	12,80	24,60	12,20	5,50	14,20	7,20	1,20	1,50	1,10	0,57	0,42	0,41	0,76	0,69	0,73
0412	11,40	17,10	13,20	4,20	11,10	6,70	1,60	2,20	1,50	0,63	0,35	0,49	0,73	0,67	0,67
1501	12,50	18,00	7,90	4,00	12,90	4,50	0,90	1,90	1,30	0,68	0,28	0,43	0,74	0,67	0,77
2901	11,50	17,60	14,60	5,10	11,30	9,90	1,50	1,90	1,60	0,55	0,35	0,32	0,75	0,57	0,55
1202	6,70	23,00	14,10	2,40	16,00	8,40	0,90	1,80	1,30	0,64	0,30	0,40	0,82	0,55	0,60
1902	18,90	33,90	28,10	6,90	20,80	16,90	1,30	2,20	1,90	0,63	0,36	0,37	0,81	0,75	0,70
2503	8,60	28,80	22,00	3,20	19,40	11,60	1,20	2,50	1,60	0,62	0,32	0,47	0,65	0,65	0,65
2204	9,70	17,10	19,70	2,70	5,10	12,20	1,10	2,30	2,20	0,72	0,22	0,38	0,69	0,76	0,82
0306	13,14	25,60	16,30	4,70	17,09	10,08	1,10	1,70	1,40	0,64	0,33	0,38	0,71	0,71	0,76
2608	13,75	19,13	16,22	5,13	12,68	8,66	1,34	2,09	1,86	0,63	0,34	0,47	0,70	0,38	0,41
2903	11,30	19,30	14,80	3,90	15,20	10,10	1,30	2,20	1,80	0,72	0,29	0,38	0,74	0,71	0,72
2406	12,40	21,30	18,20	4,20	13,10	11,10	1,40	2,50	1,90	0,73	0,29	0,39	0,73	0,68	0,67
1305	12,00	NO	16,91	4,40	NO	10,87	1,10	NO	2,80	0,63	NO	0,35	0,74	NO	0,64

Vol D VD = volume diastólico do ventrículo direito; Vol S VD = volume sistólico do ventrículo direito; DDVD = diâmetro diastólico do ventrículo direito; FEVD = fração de ejeção do ventrículo direito; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo; Basal = parâmetros ecocardiográficos tomados no pré-operatório da indução da falência de VD; Sem 1 = parâmetros ecocardiográficos tomados no 6º pós-operatório da indução da falência de VD; Sem 2 = parâmetros ecocardiográficos tomados no 13º pós-operatório da indução da falência de VD; NO = não observado.

Anexo E. Peso dos animais ao início do protocolo e área de infarto em relação ao músculo não lesado.

Animal	Peso (Kg)	Area de Infarto (%)
2811	13,0	79
0412	13,0	62
1501	13,5	75
2901	13,5	82
1202	12,5	65
1902	13,5	77
2503	11,0	73
2204	11,5	75
0306	13,0	71
2608	13,0	74
2903	16,0	79
2406	12,0	78
1305	13,0	74

Área de Infarto= quantificação em percentual da área total de lesão miocárdica induzida pelo etanol em relação ao miocárdio aparentemente normal.

Referências Bibliográficas

8. Referências Bibliográficas

-
- 1- Givertz MM, Colucci WS, Braunwald E. Clinical aspects of heart failure: high-output failure; pulmonary edema. In: Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 7th edition 2007p.539-68.
 - 2- DATASUS. Mortalidade hospitalar do SUS. Ministério da Saúde – Sistema de Informações Hospitalares do SUS. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>
 - 3- Ramos RB, Fabri Jr J, Mansur AP. A insuficiência cardíaca no Brasil e no mundo e avaliação de sua influência socioeconômica. In: Nobre F, Serrano Jr CV, editores. Tratado de cardiologia. 1^a ed. São Paulo: Manole; 2005. p.733-42.
 - 4- Ho KKL, Anderson KM, Kannel WB, Levy D. Survival after the onset of heart failure in Framingham heart study subjects. *Circulation* 1993;88:107-15.
 - 5- Francis GS, Wilson Tang WH. Pathophysiology of congestive heart failure. *Rev Cardiovasc Med* 2003;4(suppl 2):14-20.
 - 6- Chen HH, Burnet JC. Natriuretic peptides in the pathophysiology of congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep* 2000;2:198-205.
 - 7- Feldman AM, Li YY, McTiernan CF. Matrix metalloproteinases in pathophysiology and treatment of heart failure. *Lancet* 2001;357:654-5.

-
- 8- McTiernan CF, Feldman AM. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep* 2000;2:189-97.
 - 9- Marshall D, Sack MN. Apoptosis: a pivotal event or an epiphenomenon in the pathophysiology of heart failure. *Heart* 2000;84:355-6.
 - 10- Champion HC, Skaf MW, Hare JM. Role of nitric oxide in the pathophysiology of heart failure. *Heart Fail Rev* 2003;8:35-46.
 - 11- Muders F, Elsner D. Animal model of chronic heart failure. *Pharmacol Research* 2000;41:605-12.
 - 12- Monnet E, Chachques JC. Animal models of heart failure: what is new. *Ann Thorac Surg* 2005;79:1445-53.
 - 13- Shirota K, Huang Y, Kawaguchi O. Functional recovery of the native heart after cardiomyoplasty in sheep with heart failure: passive and dynamic effects of volume loading. *Ann Thorac Surg* 2002;73:849-54.
 - 14- Toyoda Y, Okada M, Kashem MA, Mukai T. Effects of cardiomyoplasty on right ventricular filling during *Cardiovasc Res* volume loading. *Ann Thorac Surg* 1998;65:1676-9.
 - 15- Flaim SF, Minter WJ, Clark DP. Chronic arteriovenous shunt: evaluation of a model for heart failure in rat. *Am J Physiol* 1979;236:H698-704.
 - 16- Garcia R, Diebold S. Simple, rapid, and effective method of producing aortocaval shunts in the rat. *Cardiovasc Res.* 1990;24:430-2.

-
- 17- Tessier D, Lajos P, Braunberger E, et al. Induction of chronic cardiac insufficiency by arteriovenous fistula and doxorubicin administration in sheep. *J Card Surg* 2003;18:307-11.
 - 18- Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure- overload hypertrophy. Chronic angiotensin- conversion enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation* 1995;91:2642-54.
 - 19- Randhawa AK, Singal PK. Pressure overload-induced cardiac hypertrophy with and without dilation. *J Am Coll Cardiol.* 1992; 20:1569-75.
 - 20- Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part II: causal mechanisms and treatment. *Circulation.* 2002; 105:1503-8.
 - 21- Wilson DW, Segall HJ, Pan LC, Lame MW, Estep JE, Morin D. Mechanisms and pathology of monocrotaline pulmonary toxicity. *Crit Rev Toxicol* 1992;22:307-25.
 - 22- Chen EP, Bittner HB, Tull F, Biswas SS, Davis RD, Van Trigt P. An adult canine model of chronic pulmonary hypertension for cardiopulmonary transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:538-47.
 - 23- Werchan PM, Summer WR, Gerdes AM, McDonough KH. Right ventricular performance after monocrotaline- induced pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 1989;256:H1328-36.
 - 24- Li Z, Bing OH, Long X, Robison KG, Lakatta EG. Increased cardiomyocyte apoptosis during the transition to heart failure in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol* 1997;272:H2313-19.

-
- 25- Mitchell GF, Pfeffer JM, Pfeffer MA. The transition to failure in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertens* 1997;10:120s-6s.
 - 26- Shinbane JS, Wood MA, Jensen DN, Ellenbogen KA, Fitzpatrick AP, Scheinman MM. Tachycardia-induced cardiomyopathy: a review of animal models and clinical studies. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:709-15.
 - 27- Elsner D, Riegger GJ. Characteristics and clinical relevance of animal models of heart failure. *Cur Op Cardiol* 1995;10:253-9.
 - 28- Moe GW, Armstrong P. Pacing-induced heart failure: a model to study the mechanism of disease progression and novel therapy in heart failure. *Cardiovasc Res* 1999;42:591-9.
 - 29- Kashem A, Hassan S, Crabbe DL, Melvin DB, Santamore WP. Left ventricular reshaping: effects on the pressure-volume relationship. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125:391-9.
 - 30- Shi Y, Ducharme A, Li D, Gaspo R, Nattel S, Tardif JC. Remodeling of atrial dimension and emptying function in canine models of atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2001;52:217-25.
 - 31- Simmons WW, Freeman MR, Grima EA, Hsia TW, Armstrong PW. Abnormalities of cardiac sympathetic function in pacing-induced heart failure as assessed by metaiodobenzylguanidine scintigraphy. *Circulation* 1994;89:2843-51.
 - 32- Wada A, Tsutamoto T, Matsuda Y, Kinoshita M. Cardiorenal and neurohumoral effects of endogenous atrial natriuretic peptide in dogs with severe congestive heart failure using a specific antagonist for guanylate cyclase-coupled receptors. *Circulation* 1994 ;89: 2232-40.
 - 33- Spinale FG, Tempel GE, Mukherjee R, Eble DM, Brown R, Vacchiano CA, Zile MR. Cellular and molecular alterations in the beta

-
- adrenergic system with cardiomyopathy induced by tachycardia. *Cardiovasc Res* 1994;28:1243-50.
- 34- Lazzara RR, Trumble DR, Magovern JA. Dynamic descending thoracic aortomyoplasty: comparison with intraaortic balloon pump in a model of heart failure. *Ann Thorac Surg* 1994;58:366-71.
- 35- Mott BD, Oh JH, Misawa Y, Helou J, Badhwar V, Francischelli D, Chiu RC. Mechanisms of cardiomyoplasty: comparative effects of adynamic versus dynamic cardiomyoplasty. *Ann Thorac Surg* 1998;65:1039-44.
- 36- Oh JH, Badhwar V, Mott BD, Li CM, Chiu RCJ. The effects of prosthetic cardiac binding and adynamic cardiomyoplasty in a model of dilated cardiomyopathy. *J Thorac Surg* 1998;116:148-53.
- 37- Lee V, Randhawa AK, Singal PK. Adriamycin-induced myocardial dysfunction in vitro is mediated by free radicals. *Am J Physiol* 1991;261:H989-95.
- 38- Gille L, Nohl H. Analyses of the molecular mechanism of adriamycin-induced cardiotoxicity. *Free Radic Biol Med* 1997;23:775-82.
- 39- Christiansen S, Redmann K, Scheld HH, Jahn UR, Stypmann J, Fobker M, Gruber AD, Hammel D. Adriamycin-induced cardiomyopathy in the dog: an appropriate model for research on partial left ventriculectomy. *J Heart Lung Transplant* 2002;21:783-90.
- 40- Chekanov VS. A stable model of chronic bilateral ventricular insufficiency(dilated cardiomyopathy) induced by arteriovenous anastomosis and doxorubicin administration in sheep. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;117:198-9.

-
- 41- Monnet E. Adynamic cardiomyoplasty: effect on cardiac efficiency and contractile reserve in dogs with adriamycin-induced cardiomyopathy. *J Card Surg* 2002;17:60-9.
 - 42- Dell'italia LJ, Blackwell GG, Urthaler F, Pearce DJ, Pohost GM. A stable model of left ventricular dysfunction in an intact animal assessed with high fidelity pressure and cinemagnetic resonance imaging. *Cardiovasc Res* 1993;27:974-9.
 - 43- Movahed A, Reeves WC, Mehta PM, Gilliland MF, Mozingo SL, Jolly SR. Norepinephrine-induced left ventricular dysfunction in anesthetized and conscious sedated dogs. *Int J cardiol* 1994;45:23-34.
 - 44- Lucas CM, Cheriex EC, van der Veen FH, Habets J, van der Nagel T, Penn OC, Wellens HJ. Imipramine induced heart failure in dogs: a model to study the effect of cardiac assist devices. *Cardiovasc Res* 1992;26:804-9.
 - 45- Blaustein AS, Hoit BD, Wexler LF, Ashraf M, Ramrakhyani K, Matoba R, Gabel M, Millard RW Characteristics of chronic left ventricular dysfunction induced by coronary embolization in a canine model. *Am J Cardiovasc Pathol* 1995;5:32-48.
 - 46- Medvedev OS, Gorodetskaya EA. Systemic and regional hemodynamic effects of perindopril in experimental heart failure. *Am Heart J* 1993;126:764-9.
 - 47- Huang Y, Kawaguchi O, Zeng B, Carrington RA, Horam CJ, Yuasa T, Abdul-Hussein N, Hunyor SN A stable ovine congestive heart failure model. A suitable substrate for left ventricular assist device assessment. *ASAIO J* 1997;43:M408-13.
 - 48- Moainie SL, Gorman JH 3rd, Guy TS, Bowen FW 3rd, Jackson BM, Plappert T, Narula N, St John-Sutton MG, Narula J, Edmunds LH Jr,

-
- Gorman RC. An ovine model of postinfarction dilated cardiomyopathy. *Ann Thorac Surg* 2002;74:753-60.
- 49- Horwitz LD, Fennessey PV, Shikes RH, Kong Y. Marked reduction in myocardial infarct size due to prolonged infusion of an antioxidant during reperfusion. *Circulation* 1994;89:1792-01.
- 50- Markovitz LJ, Savage EB, Ratcliffe MB, Bavaria JE, Kreiner G, Iozzo RV, Hargrove WC 3rd, Bogen DK, Edmunds LH Jr. Large animal model of left ventricular aneurysm. *Ann Thorac Surg* 1989;48:838-45.
- 51- Llaneras MR, Nance ML, Streicher JT, Lima JA, Savino JS, Bogen DK, Deac RF, Ratcliffe MB, Edmunds LH Jr. Large animal model of ischemic mitral regurgitation. *Ann Thorac Surg* 1994;57:432-9.
- 52- Harada K, Friedman M, Lopez JJ, Wang SY, Li J, Prasad PV, Pearlman JD, Edelman ER, Sellke FW, Simons M. Vascular endothelial growth factor administration in chronic myocardial ischemia. *Am J Physiol* 1996;270:H1791-802.
- 53- Chekanov V, Akhtar M, Tchekanov G, Dangas G, Shehzad MZ, Tio F, Adamian M, Colombo A, Roubin G, Leon MB, Moses JW, Kipshidze NN. Transplantation of autologous endothelial cells induces angiogenesis. *Pacing Clin Electrophysiol* 2003;26:496-9.
- 54- Firoozan S, Wei K, Linka A, Skyba D, Goodman NC, Kaul S. A canine model of chronic ischemic cardiomyopathy: characterization of regional flow-function relations. *Am J Physiol* 1999;276:H446-55.
- 55- Hartman JC, Kampine JP, Schmeling WT, Warltier DC. Actions of isoflurane on myocardial perfusion in chronically instrumented dogs with poor, moderate, or well-developed coronary collaterals. *J Cardiothorac Anesth* 1990;4:715-25.

-
- 56- Ikeda Y, Ross JJr. Model of dilated cardiomyopathy in the mouse and hamster. *Curr Opin Cardiol* 2000;15:197-01.
- 57- Monnet E, Orton EC, Salman M, Boon J. Idiopathic dilated cardiomyopathy in dogs: survival and prognostic indicators. *J Vet Intern Med* 1995;9:12-7.
- 58- Tidholm A, Haggstrom J, Hansson K. Effects of dilated cardiomyopathy on the rennin-aldosterone system, atrial natriuretic peptide activity, and thyroid hormone concentrations in dogs. *Am J Vet Res* 2001;62:961-7.
- 59- Monnet E, Orton EC. Dynamic cardiomyoplasty for dilated cardiomyopathy in dogs. *Semin Vet Med Surg* 1994;9:240-6.
- 60- Borenstein N, Chetboul V, Rajnoch C, Bruneval P, Carpentier A. Successful cellular cardiomyoplasty in canine idiopathic dilated cardiomyopathy. *Ann Thorac Surg* 2002;74:298-09.
- 61- Barros-Morais NLT, Gomes OM. Elementos de anatomia comparada. Cirurgia Experimental – Otoni M Gomes. São Paulo: Savier 1978;2:9-35.
- 62- Weaver ME, Pantely GA, Bristow JD, Ladley HD. A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary artery in swine in comparison with other animals and man. *Cardiovasc Res* 1986;20:907-17.
- 63- Ratliff BR, Peter RH, Ramo BW, Somers WR, Morris JJ. A model for the production of right ventricular infarction. *Am J Pathol* 1970;58:471-9.
- 64- Morris JJ, Hamm DP, Pellom GL, Wechsler AS Differential ventricular ischemic injury: An experimental model of right ventricular failure with

-
- a variable degree of left ventricular dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988;96:590-9.
- 65- Marques E, Cestari IA, Cestari IN, Leirner AA. An acute heart failure model using ethanol. *ASAIO* 2000;46:193-3.
- 66- Dell'Italia LJ. The right ventricle: anatomy, physiology and clinical importance. *Curr Probl Cardiol* 1991;16:659-720.
- 67- Lee FA. Hemodynamics of the right ventricle in a normal and diseased states. *Cardiol Clin* 1992;10:59-67.
- 68- Barnard D, Alpert JS. Right ventricular function in health and disease. *Curr Probl Cardiol* 1987;12:417-49.
- 69- Cross CE. Right ventricular pressure and coronary flow. *Am J Physiol* 1962;202:12-16.
- 70- Kinch JW, Ryan TJ. Current concepts: right ventricular infarction. *N Engl J Med* 1994;330:1211-17.
- 71- Anderson HR, Falk E, Nielsen D. Right ventricular infarction: frequency, size and topography in coronary heart disease: a prospective study comprising 107 consecutive autopsies from a coronary care unit. *J Am Coll Cardiol* 1987;10:1223-32.
- 72- Isner JM, Roberts WC. Right ventricular infarction complicating left ventricular infarction secondary to coronary heart disease: frequency, location, associated finding and significance from analysis of 236 necropsy patients with acute or healed myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1978;42:885-94.
- 73- Cabin HS, Clubb KS, Wackers FJT, Zaret BL. Right ventricular myocardial infarction with anterior wall left ventricular infarction: an autopsy study. *Am Heart J* 1987;113:16-23.

-
- 74- Moreyra AE, Wajnberg A, Byra W, Kostis JB. Nondominant right coronary artery occlusion presenting with isolated right ventricular infarction and ventricular fibrillation. *Am J Med* 1986;81:146-8.
- 75- Roberts N, Harrison DG, Reimer KA, Crain BS, Wagner GS. Right ventricular infarction with shock but without significant left ventricular infarction: a new clinical syndrome. *Am Heart J* 1985;110:1047-53.
- 76- Setaro JF, Cabin HS. Right ventricular infarction. *Cardiol Clin* 1992;10:69-90.
- 77- Saito D, Yamada N, Kusachi S, Tani H, Shimizu A, Hina K, et al. Coronary flow reserve and oxygen metabolism of the right ventricle. *Jpn Circ J* 1989;53:1310-6.
- 78- Mehta SR, Eikelboom JW, Natarajan MK. Impact of right ventricular involvement on mortality and morbidity in patients with inferior myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:37-43.
- 79- Groote P, Millaire A, Foucher-Hosseine C, Nugue O, Marchandise X, Ducloux G, Lablanche JM. Right ventricular ejection fraction is an independent predictor of survival in patients with moderate heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:948-54.
- 80- Ferrar DJ, Compton PG, Hershon JJ, Hill JD. Right heart interaction with mechanically assisted left heart. *World J Surg* 1985;9:89-102.
- 81- Vuille C, Weyman A. Left ventricular I: general considerations, assessment of chamber size and function. Em: Weyman AE. Principles and Practice of Echocardiography. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994, cap 20, p 575-624.
- 82- Snider AR, Serwer GA, Ritter SB. Methods for obtaining quantitative information from the echocardiographic examination. Em:

- Echocardiography in Pediatric Heart Disease. 2nd ed. Missouri: Mosby; 1997 cap 5 p 133-34.
- 83- Mathias Jr.W. Avaliação hemodinâmica. Em: Manual de Ecocardiografia. 1^a Ed. São Paulo: editora Monole; 2007 Cap 5, p. 44-50.
 - 84- Rosner B. Fundamentals of biostatistics. Duxbury Press, 4^a edição New York, 1994, pp. 682
 - 85- Sander AO. Coronary thrombosis with complete heart-block and relative ventricular tachycardia: a case report. *Am Heart J* 1930;6:820-3.
 - 86- Cohn JN, Guha NH, Broder MI, Limas CJ. Right ventricle infarction: clinical and hemodynamic features. *Am J Cardiol* 1974;33:209-14.
 - 87- Starr I, Jefferes WA, Meade RH. The absence of conspicuous increments of venous pressure after severe damage to the right ventricle of the dog, with a discussion of the relation between clinical congestive failure and heart disease. *Am Heart J* 1943;26:291-301.
 - 88- Goldstein JA, Vlahakes GJ, Verrier ED, Schiller NB, Botvinick E, Tyberg JV, Parmley WW, Chatterjee K. Volume loading improves low cardiac output in a experimental right infarction. *J Am Coll Cardiol* 1983;2:270-8.
 - 89- Belenkie I, Dani R, Smith ER, Tyberg JV. Effects of acute volume loading during experimental pulmonary embolism. *Circulation* 1989;80:178-88.
 - 90- Dell'Italia LJ, Starling MR, Bumhardt R, Lasher JC, O'Rourke RA. Comparative effect of volume loading, dobutamine and nitroprusside in patients with right ventricular infarction. *Circulation* 1985;71:1327-35.

-
- 91- Dhainaut JF, Ghannad E, Villemant D, Brunet F, Devaux JY, Schremmer B, Squara P, Weber S, Monsallier JF. Role of tricuspid regurgitation and left ventricular damage in the treatment of right ventricular infarction-induced low cardiac output state. *Am J Cardiol* 1990;66:289-95.
- 92- Brookers C, Ravn H, White P, Moeldrup U, Oldershaw P, Redington A. Acute right ventricle dilatation in response to ischemia significantly impairs left ventricular systolic performance. *Circulation* 1999;17:761-7.
- 93- Bleeker GB, Steendijk P, Holman ER, Yu CM, Breithardt OA, Kaandorp TAM, Schalij MJ, van der Wall EE, Nihoyannopoulos P, Bax JJ. Assessing right ventricular function: the role of echocardiography and complementary technologies. *Heart* 2006;92: 19-26.
- 94- Goto Y, Yamamoto J, Saito M, Haze K, Sumiyoshi T, Fukami K, Hiramori K. Effects of right ventricular ischemia on left ventricular geometry and the end-diastolic pressure-volume relationship in the dog. *Circulation* 1985;72:1104-14.
- 95- Goldstein JA, Vlahakes GJ, Verrier ED, Schiller NB, Tyberg JV, Ports TA, Pamley WW, Chatterjee K. The role of right Ventricular systolic dysfunction and elevated intrapericardial pressure in the genesis of low output in experimental right ventricular infarction. *Circulation* 1982;65:513-22.
- 96- Sano S, Ishino K, Kawada M, Kasahara S, Kohmoto T, Takeuchi M, Ohtsuki S. Total right ventricular exclusion procedure: Na operation for isolated congestive right ventricular failure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;123:640-7.

-
- 97- Mizock BA, Falk JL. Lactic acidosis in critical illness. *Crit Care Med* 1992;20:80-93.
- 98- D'Arcy B, Nanda NC. Two-dimensional echocardiographic features of right ventricular infarction. *Circulation* 1982;65:167-73.
- 99- Oshita M, Sato N, Yoshihara H. Ethanol- induced vasoconstriction causes focal hepatocellular injury in the isolated perfused rat liver. *Hepatology* 1992;16:1007-13.
- 100- Wright KN, Morley T, Bicknell J, Bishop SP, Walcott GP, Kay GN. Retrograde coronary venous infusion of ethanol for ablation of canine ventricular myocardium. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998;9:976-84.
- 101- Goette A, Hartung W, Lesh M, Honeycutt C, Fleischman S, Swanson D, Langberg J. Transcatheter subendocardial infusion. A novel technique for mapping and ablation of ventricular myocardium. *Circulation* 1996;94: 1449-55.
- 102- Weismuller P, Mayer U, Richter P, Heieck F, Kochs M, Hombach V. Chemical ablation by subendocardial injection of ethanol via catheter- preliminary results in the pig heart. *Eur Heart J* 1991;12:1234-9.
- 103- Raute-Kreinsen U. Morphology of necrosis and repair after transcoronary ethanol ablation of septal hypertrophy. *Pathol Res Pract* 2003;199:121-7.
- 104- Baggish AL, Smith RN, Palacios I, Vlahakes GJ, Yoerger DM, Picard MH, Lowry PA, Jang IK, Fifer MA. Pathological effects of alcohol septal ablation for hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Heart* 2006;92:1773-78.
- 105- Dickstein ML, Yano O, Spotnitz HM, Burkoff D. Assessment of right ventricular contractile state with the conductance catheter technique in the pig. *Cardiovasc Res* 1995;29:820-6.

-
- 106- Bishop A, White P, Oldershaw P, Chaturvedi R, Brookes C, Redington A. Clinical application of the conductance catheter technique in adult human right ventricle. *Int J Cardiol* 1997;58:211-21.
- 107- Danton MH, Greil GF, Byrne JG, Hsin M, Maier SE. Right ventricular volume measurement by conductance catheter. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H1774-85.