

# PREVENÇÃO DA HIPERTROFIA VENTRICULAR ESQUERDA EM RATOS INDUZIDA PELO ISOPROTERENOL: COMPARAÇÃO ENTRE RAMIPRIL E LOSARTAN

## Autores

Marcos Antônio Cotta Peralva<sup>1</sup>  
Daniela Lima<sup>2</sup>  
Simone Motta Bonisson<sup>2</sup>  
Silmara Motta Bonisson<sup>2</sup>  
Marcelo Weiss<sup>2</sup>  
Otoni Moreira Gomes<sup>3</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar comparativamente a capacidade do losartan (bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II) e o ramipril (inibidor da enzima de conversão da angiotensina) em prevenir a hipertrofia ventricular esquerda induzida por isoproterenol em ratos.

**Métodos:** Foram estudados 64 ratos divididos em 4 grupos por um período de 15 dias, após foram sacrificados e comparados através dos pesos dos ventrículos e estudo anátomo-patológico.

**Resultados:** Os animais tratados com losartan apresentaram pesos dos ventrículos esquerdos menores com significância estatística, assim como menor tamanho das fibras miocárdicas e menos colágeno quando comparados aos tratados com ramipril.

**Conclusão:** O losartan foi superior ao ramipril na prevenção da hipertrofia ventricular esquerda induzida por isoproterenol em ratos.

## UNITERMOS

Hipertrofia ventricular esquerda, Losartan, Ramipril

1 - Prof. Adjunto do Departamento de Fisiologia - UFJF

2 - Acadêmicos de Medicina da UFJF

3 - Professor Titular de Cirurgia Cardiovascular da UFMG

Muitos esforços têm sido feitos no sentido de um combate efetivo à hipertensão arterial sistêmica, ao tabagismo, ao sedentarismo, à obesidade, às dislipidemias e ao diabetes melito no sentido de prevenir as cardiopatias. Entre os fatores de risco, a hipertrofia ventricular esquerda (HVE) vem ganhando destaque como um dos mais importantes, devido à alta correlação com a morte súbita provavelmente a forma mais comum de óbito nas doenças cardiovasculares<sup>1</sup>. WEBER em 1988 já demonstrava a importância da HVE como um fator de risco controlável<sup>2</sup>.

A HVE pode ser desenvolvida devido a um aumento do estresse que a parede do ventrículo esquerdo está submetida (hipertensão arterial, estenose aórtica etc), porém a presença de HVE em outras situações clínicas sem elevação da pressão intraventricular (obesidade, hipotireoidismo, diabetes), e a constatação que mesmo naqueles com aumento da pressão intraventricular, esta contribui apenas com 25% da hipertrofia tornou-se evidente que alterações neurais e endócrinas também teriam papel importante no seu desenvolvimento<sup>3</sup>. Hoje sabe-se que angiotensina II, aldosterona, norepinefrina, vasopressina, hormônios de crescimento, entre outros, podem produzir crescimento miocítico e intersticial produzindo HVE.<sup>2</sup> Então, para preveni-la, torna-se necessário não somente reduzir a sobrecarga pressórica imposta ao coração, mas,

provavelmente, também reduzir a ação dos sistemas endócrinos e neuro-humorais envolvidos na gênese da HVE. Estes fatos motivaram pesquisas com a angiotensina pela possibilidade do seu bloqueio poder prevenir ou até mesmo regredir a hipertrofia ventricular esquerda<sup>4,5,6</sup>.

O ramipril é um inibidor da enzima de conversão da angiotensina cuja molécula ativa é o ramiprilato, formada no fígado através da saponificação enzimática por esterases. O ramiprilato possui uma alta potência farmacológica e longa duração de ação consequentes da pequena taxa de dissociação do complexo isomerizado final, que é da ordem de horas e comparado favoravelmente com drogas similares como captopril e enalaprilato<sup>7</sup>.

Em 1992, a descoberta do DMP 753, posteriormente chamado losartan, o primeiro antagonista específico dos receptores da angiotensina II (All) ativo por via oral, abriu novas perspectivas para prevenção da hipertrofia ventricular esquerda<sup>8</sup>.

A literatura é escassa com relação aos efeitos do losartan na prevenção da hipertrofia ventricular esquerda e também não se conhece sua ação em comparação com os efeitos do ramipril nesta hipertrofia. A presente investigação teve por objetivo estudar comparativamente, em ratos, os efeitos do losartan e do ramipril na prevenção da hipertrofia ventricular esquerda induzida pelo isoproterenol (ISO).

## MÉTODO

**Material:** foram utilizados 64 ratos da linhagem Wistar, adultos, machos, pesando entre 179,8 e 275,4 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Juiz de Fora, confinados em gaiolas plásticas com grade de metal, à temperatura de 22 a 25°C, mantidos em regime de horário circadiano (12 horas de luz e 12 horas sem luz) com alimentação e água "ad libitum".

Após um período de adaptação de 7

dias, os animais foram selecionados aleatoriamente e distribuídos em quatro grupos distintos com 16 animais cada um:

**Grupo controle (CON):** recebeu dose diária de 1 ml/kg de soro fisiológico, por sondagem oro-gástrica, às 8 horas e água destilada, 1 ml/kg por via subcutânea, às 18 horas;

**Grupo isoproterenol (ISO):** recebeu dose diária de 1ml/kg de soro fisiológico por sondagem oro-gástrica, às 8 horas e

isoproterenol subcutâneo, na dose de 0,3 mg/kg, às 18 horas.

**Grupo ramipril-isoproterenol (RAM):** recebeu dose diária de 1 mg/kg de ramipril por sondagem oro-gástrica às 8 horas, e dose do isoproterenol igual à do grupo ISO, às 18 horas.

**Grupo losartan-isoproterenol (LOS):** recebeu dose diária de 30 mg/kg de losartan por sondagem oro-gástrica às 8 horas, e dose de isoproterenol igual à do grupo ISO, às 18 horas.

A duração do experimento, para todos os grupos, foi de 15 dias.

Ao término do estudo, 8 animais de cada grupo foram selecionados aleatoriamente, pesados e anestesiados com éter etílico por via inalatória. Em seguida, procedeu-se à abertura do tórax, remoção do coração e de imediato foram separados os átrios e o ventrículo direito, mantendo o septo interventricular como parte do VE. Este, após lavagem com água destilada, foi envolvido em papel de filtro e colocado em recipientes de vidro. O peso úmido foi medido em balança analítica KERN 430-21 (Max = 50g, d = 0,001g) e após 24 horas em estufa a 100°C, seguiu-se nova pesagem para determinação do peso seco.

Foi feita uma relação entre o peso úmido e peso total e entre peso seco e peso total, para se eliminarem as diferenças dos pesos dos animais. Estas razões, multiplicadas por 1000, foram as variáveis utilizadas para comparar os grupos.

Os 8 animais restantes de cada grupo procedeu-se também a abertura do tórax, remoção dos corações sem separação dos

ventrículos e foram selecionados para estudo anatomopatológico. Após a pesagem os corações foram colocados em solução de formalina a 10% para fixação durante cerca de 48-72 horas. Efetuada a fixação todos os espécimes foram seccionados, obedecendo sempre a mesma sistemática estabelecida, com cortes transversais passando pela porção média dos músculos papilares, distando cerca de 0,3cm do anel mitral. Após os cortes, todos os fragmentos foram incluídos em parafina, sendo a desidratação em etanol, o clareamento em xilol e a embebição em parafina, feitas em processador automático de tecido. Dos blocos de parafina obtiveram-se cortes de cerca de 3 micrômetros que foram corados pela hematoxilina-eosina (HE) e pelo tricrômico de Masson.

A análise qualitativa do material visou a estabelecer os tipos de alterações encontradas nos diversos grupos. O estudo foi realizado com o exame de toda circunferência do corte de ventrículo esquerdo. Foram procuradas lesões isquêmicas, degenerativas, regenerativas, adaptativas e inflamatórias.

Todas as observações foram feitas em microscópio Ollimpus CBA, com ocular CWHK aumento 10x/18L, variando-se as objetivas.

As variáveis quantitativas foram analisadas por meio da análise de variância, associado ao teste de Lavene para homogeneidade de variâncias com a finalidade de verificar se os grupos eram iguais ou diferentes do ponto de vista estatístico e complementado com test "t" de "Student". Em todos os testes o nível de significância utilizado foi de 95% ( $P \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

**Pesos:** as médias das relações peso úmido/peso total e peso seco/peso total com seus respectivos desvio-padrão encontram-se na tabela I.

**Tabela 1**

Varição média dos pesos dos ventrículos

Grupo	Peso Úmido/ Peso Total(mg)	Peso Seco/ Peso Total(mg)
ISO	3,101 ± 0,081	0,710 ± 0,019
RAM	2,863 ± 0,039	0,662 ± 0,009
LOS	2,500 ± 0,069	0,585 ± 0,015
CON	2,247 ± 0,032	0,514 ± 0,008

Os gráficos 1 e 2 mostram os pesos médios, máximos, mínimos e o intervalo de 95% dos 4 grupos nas razões peso úmido/peso total e peso seco/peso total.

A análise comparativa dos grupos ISO e CON na relação peso úmido/peso total mostrou diferença significativa ( $P < 0,001$ ). Na relação peso seco/peso total também houve diferença significativa com  $P < 0,001$ .

Nos grupos ISO e RAM a relação peso úmido/peso total apresentaram diferença significativa com valor de  $P = 0,017$ . Na re-

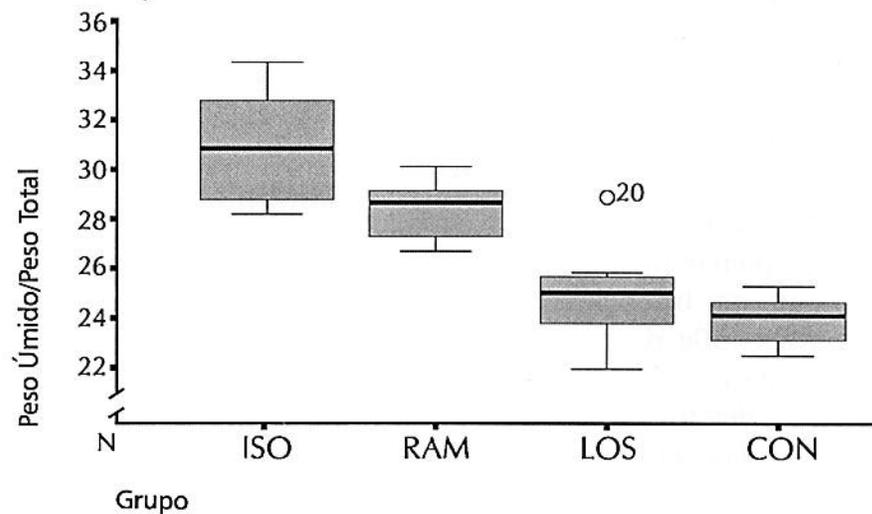
lação peso seco/peso total a diferença também significativa mostrou  $P = 0,044$ .

A comparação entre o grupo ISO e LOS mostrou na relação peso úmido/peso total valor de  $P < 0,001$ , assim como na relação peso seco/peso total (também  $P < 0,001$ ), com diferença significativa em ambas.

Comparando o grupo RAM e LOS também obteve-se diferença significativa nas relações peso úmido/peso total ( $P < 0,001$ ) e peso seco/peso total ( $P < 0,001$ ).

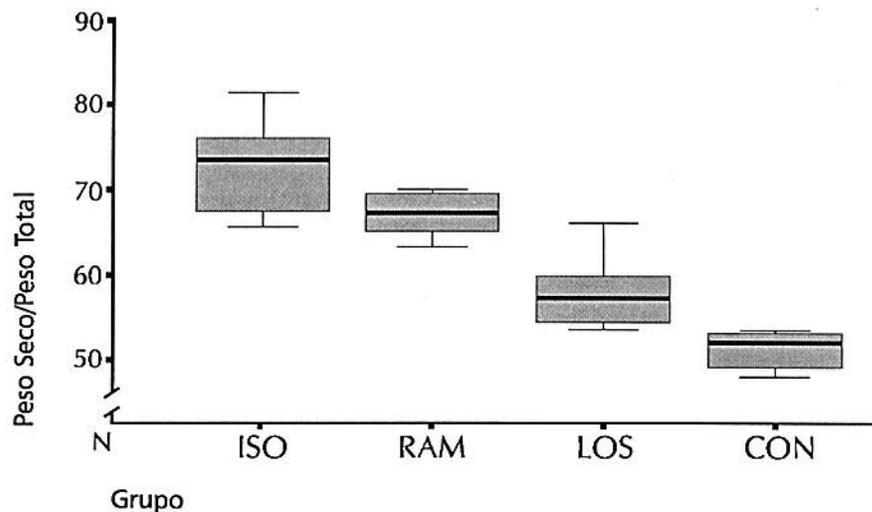
### Gráfico 1

Comparação entre as razões Peso Úmido/Peso Total nos quatro grupos de ratos estudados com a média, desvios padrões e o intervalo de pesos.



### Gráfico 2

Comparação entre as razões Peso Seco/Peso Total nos quatro grupos de ratos estudados com a média, desvios padrões e o intervalo de pesos.



O estudo dos cortes histológicos corados pela **HE** e **Masson** permitiu avaliar de maneira igual todos os espécimes, independente do grupo selecionado.

Os achados anatomopatológicos foram assim estabelecidos nos diversos grupos:

**Grupo ISO:** Infartos sub-endocárdicos circunferenciais, multifocais, em organização de cerca de 15 dias, em todos os corações. As fibras cardíacas apresentavam núcleo mais volumoso que as das fibras miocárdicas dos corações controles (cerca de 2 vezes). O interstício mostrava-se em vários focos com proliferação de fibras colágenas e células. As fibras colágenas por vezes contornavam individualmente algumas fibras. Um dos corações apresentava ainda pericardite fibrinosa.

**Grupo RAM:** Infartos sub-endocárdicos, multifocais, em organização de cerca de 15

dias de evolução, em 50% dos corações. As fibras mostram aumento do núcleo menos significativo do que os corações do grupo ISO. No interstício tanto as fibras colágenas quanto as células mostram-se proliferadas, porém, de modo menos intenso que o grupo ISO.

**Grupo LOS:** Neste grupo os infartos subendocárdicos em organização eram poucos frequentes, um ou dois focos, e pequenos, em apenas três corações (37,5%). Interstício e fibras miocárdicas, embora de padrão alterado, em relação ao grupo controle normal. Não aparentavam hipertrofia ou alargamento intersticial significativos.

**Grupo CON:** Fibras musculares cardíacas de aspecto habitual, interstício e vasos sem anormalidades.

A tabela 2 mostra a presença de infartos subendocárdicos nos diversos grupos:

**Tabela 2**

Presença de infartos subendocárdicos

Grupo	Rato 1	Rato 2	Rato 3	Rato 4	Rato 5	Rato 6	Rato 7	Rato 8
CON	não							
RAM	sim	sim	não	sim	não	não	sim	não
LOS	não	não	sim	não	sim	não	sim	não
ISO	sim							

## DISCUSSÃO

Utilizando o modelo de hipertrofia ventricular esquerda induzida pelo isoproterenol, modelo este de fácil realização técnica e utilizado com frequência nas pesquisas sobre HVE, não há indução de hipertensão arterial e as alterações que decorrem no miocárdio são secundárias à estimulação neuro humoral (principalmente sistema nervoso simpático e sistema renina angiotensina aldosterona).

A capacidade dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina em prevenir e regredir hipertrofia ventricular esquerda tem sido comprovada em vários

modelos experimentais na última década, mostraram redução dose dependente da massa ventricular esquerda com fosinopril em ratos espontaneamente hipertensos<sup>9,10</sup>. PANIZO, PARDO, HERNANDEZ et al. demonstraram redução da matrix de colágeno com uso de quinapril em ratos espontaneamente hipertensos. TATCHUM-TALOM, NIEDERHOFFER, AMIN e col mostraram redução de massa ventricular esquerda com perindopril em ratos com modelo experimental de coarctação de aorta<sup>11</sup>. POVOA, COSTA, LUNA FILHO et al., utilizando também o modelo de hipertrofia com

isoproterenol, demonstraram prevenção de hipertrofia com enalaprilato<sup>12</sup>. Também LINS e col demonstraram prevenção e regressão de hipertrofia ventricular com ramipril em modelo experimental de coarctação de aorta em ratos, assim como sua superioridade em relação à nifedipina e hidralazina<sup>13</sup>.

Esta capacidade de prevenir a hipertrofia ventricular esquerda se deve ao fato de o inibidor da enzima de conversão da angiotensina reduzir o "pool" plasmático da angiotensina II, redução esta que reduzirá a estimulação dos receptores AT1 da angiotensina II com diminuição da vasoconstrição, estimulação da liberação de aldosterona e liberação de fatores de crescimento, além de dificultar a liberação de noradrenalina na fenda sináptica com redução da neurotransmissão simpática, consequentemente reduzindo a ligação dos receptores adrenérgicos no nível dos miócitos e fibroblastos cardíacos, diminuindo, assim, seu crescimento e proliferação que geram a HVE.

O losartan também apresentou, desde sua descoberta, ações anti-hipertensivas como no trabalho de MORTON, BEATTIE e MacPERSON (1992), que demonstraram ter o losartan efeitos persistentes sobre a pressão arterial de ratos espontaneamente hipertensos e sobre a hipertrofia ventricular

esquerda como o trabalho de Mizuno (1992), mostrando prevenção de hipertrofia ventricular esquerda, com losartan, em ratos espontaneamente hipertensos e sobre os vasos sanguíneos<sup>14,15</sup>. AZUMA, HAMA-ZAKI e NIIMI (1992) demonstraram também a prevenção do espessamento da íntima pelo losartan após remoção do endotélio<sup>16</sup>. Devido à capacidade destas drogas em bloquear os efeitos da angiotensina II em seus receptores efetores (AT1), seriam de se esperar resultados semelhantes aos encontrados com o ramipril, por atuarem nos mesmos mecanismos que causariam a hipertrofia ventricular esquerda. Porém, o melhor resultado obtido com o losartan na presente investigação ainda não tem explicação definida. Uma das hipóteses seria que as vias não ECA de transformação da angiotensina I em angiotensina II (principalmente as quimases) tenham a nível miocárdico importância significativa, outra hipótese seria que a maior estimulação dos receptores AT2 poderia modular as ações intracelulares da angiotensina II. Devido a serem drogas recentemente descobertas, estudos subsequentes serão necessários para termos resposta definitiva a estas novas questões.



## SUMMARY

### **PREVENTION OF LEFT VENTRICULAR HYPERTROPHY IN RATS INDUCED BY ISOPROTERENOL: THE RELATIONSHIP BETWEEN RAMIPRIL AND LOSARTAN**

**Purpose:** To evaluate the capacity do losartan (Angiotensin II receptors AT1 blocker) and ramipril (angiotensin conversion enzyme inhibitor) to prevent the left ventricular hypertrophy isoproterenol induced in rats.

**Methods:** 64 rats were studied divided in four groups for 15 days, after that they were killed and compared for

the left ventricular weight and anatomic pathologic study.

**Results:** The animals that received losartan had the left ventricular weight, the size of ventricular muscles and the collagen lower than the animals that received ramipril.

**Conclusion:** Losartan was better than ramipril to prevent the left ventricular hypertrophy isoproterenol induced in rats.

**KEY WORDS:** left ventricular hypertrophy, Losartan, Ramipril

- 1 - MCKENACHAN, J; HENDERSON, E; MORRIS, K; DARGIE, H. Ventricular arrhythmias in patients with hypertensive left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med*, 317: 787-92, 1987.
- 2 - WEBER, J R. Left ventricular hypertrophy: Its prime importance as a controlable risk factor. *Am Heart J*, 116:272-79,1988.
- 3 - PHILLIPS, R A. The cardiologist's approach to evaluation and management of the patient with essential hypertension. *Am Heart J*, 126: 648-66, 1993.
- 4 - VAN KRIMPEN. Effects of inhibition of the renin-angiotensin system on the hypertrophic and proliferative response in myocardium. *Eur Heart J*, 12: 1959 (abstract), 1991.
- 5 - STOLL, M. Role of angiotensin II receptor subtypes in endothelial growth regulation. *J Hypertens*, 12: 396 (abstract), 1994.
- 6 - TOFOVIC, S; PONG, A; JACKSON, E K. Effects of angiotensin subtype 1 and subtype 2 receptor antagonists in normotensive versus hypertensive rats. *Hypertension*, 18: 774-82, 1991.
- 7 - BECKER, R H A; SCHÖLKENS, B. Ramipril: Review of Pharmacology. *Am J Cardiol*, 59: 3D-11D,1987.
- 8 - DUNCIA J V. The discovery of DuP 753, a potent, orally active nonpeptide angiotensin II receptor antagonist. *Med Res Rev*, 12: 149-91, 1992.
- 9 - BOHM, M; CASTELLANO, M; AGABITI-ROSEI, E; FLESCHE, M; ERDMANN, E. Dose dependent dissociation of ACE-inhibitor effects on blood pressure, cardiac hypertrophy, and beta adrenergic signal transduction. *Circulation*, 92 : 3006-13, 1995.
- 10 - PANIZO, A; PARDO, J; HERNANDEZ, M; GALINDO, MF; CENARUZABEITIA, E; DIEZ, J; PAMPLONA. Quinapril decreases myocardial accumulation of extracellular matrix components in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*, 8: 815-22, 1995.
- 11 - TATCHUM-TALOM, R; NIEDERHOFFER, N; AMIN, F; MAKKI, T; TANKOSIC, P; ATKINSON, J. Aortic stiffness and left ventricular mass in a rat model of isolated systolic hypertension. *Hypertension*. 26(6 Pt 1): 963-70, 1995.
- 12 - POVOA, R; COSTA, E; LUNA FILHO, B; MURAD, N; COSTA, A; SIMÕES, M; FERREIRA FILHO, C; FERREIRA, C. Hipertrofia ventricular esquerda: prevenção pelo enalaprilato. *Rev Port Cardiol*. 14:779-81, 1995.
- 13 - LINS, W; SCHÖLKENS, B A; GANTEN, D. Converting Enzyme Inhibition Specifically Prevents the Development and Induces Regression of Cardiac Hypertrophy in Rats. *Clin Exper Hyper*, A11: 1325-50, 1989.
- 14 - MORTON, J J; BEATTIE, E C; MACPHERSON, F. Angiotensin II receptor antagonist losartan has persistent effects on blood pressure in the young spontaneously hypertensive rats - *J Vas Res* 29: 264-269, 1992.
- 15 - MIZUNO, K. Effects of Losartan, a non peptide angiotensin II antagonist, on cardiac hypertrophy and the tissue angiotensin II content in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci*, 51: 367-374, 1992.
- 16 - AZUMA, H; HAMASAKI, H; NIIMI, Y. Prevention of intimal thickening after endothelial removal by a nonpeptide angiotensin II receptor antagonist losartan., *Br Pharmacol*, 106: 665-671, 1992.