

PATOGÉNESE DA HIPERTROFIA CARDÍACA: O PAPEL DA NORADRENALINA

SONIA V. CARILLO, MARCOS A. ROSSI

Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, S.P. Brasil.

RESUMO

Hipertrofia cardíaca é o resultado de uma demanda de trabalho aumentada para o coração, induzida por sobrecarga de pressão e/ou volume. Tem sido sugerido que a noradrenalina seria a hormona trófica que desempenharia um papel causador central no processo de hipertrofia cardíaca. Em trabalhos anteriores estudamos os níveis de noradrenalina e a morfologia do miocárdio na hipertrofia cardíaca experimental induzida por anemia ferropriva em ratos. Observamos significativa diminuição dos níveis de noradrenalina cardíaca associada à acentuada hipertrofia cardíaca, caracterizada por aumento do peso do coração e aumento do diâmetro das células miocárdicas. A seguir, simultaneamente à instalação da anemia, os ratos foram tratados com reserpina, um agente bloqueador adrenérgico. Os animais anémicos reserpinizados apresentaram peso do coração e diâmetro das miocélulas dentro dos padrões de normalidade, i.e., a reserpina bloqueou o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. Na anemia, a hipertrofia cardíaca resulta de sobrecarga de volume e mimetiza o crescimento normal do músculo cardíaco, onde a razão espessura da parede para o raio da câmara (h:R) permanece normal no final da diástole. Em modelos experimentais indutores de hipertrofia cardíaca por sobrecarga de pressão ao coração, como na constrição da aorta abdominal, a razão h:R está elevada devido a um aumento na espessura da parede associado a um volume de câmara normal ou reduzido. No presente trabalho, a hipertrofia cardíaca foi produzida por constrição da aorta abdominal imediatamente abaixo do diafragma. Ao contrário do que observamos anteriormente, a reserpina não preveniu o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca: ratos tratados com reserpina e submetidos à constrição aórtica apresentaram aumento do peso cardíaco e do diâmetro das miocélulas tão acentuado quanto os constritos não tratados. Assim, a noradrenalina provavelmente não está envolvida no processo de hipertrofia cardíaca induzida pela constrição aórtica. É sabido que dependendo da natureza do estímulo incitador, do grau, subitaneidade e duração do *stress* na parede ventricular e da idade do animal, se desenvolve hipertrofia fisiológica ou patológica. Uma vez que estes factores são diferentes nos dois modelos estudados, é provável que os resultados díspares concernentes ao envolvimento da noradrenalina na hipertrofia cardíaca experimental induzida pela anemia ferropriva ou pela constrição da aorta abdominal, reflitam essas diferenças e, conseqüentemente, o tipo de hipertrofia cardíaca desenvolvida. Dessa forma, a noradrenalina poderia participar como uma hormona moduladora, e não causadora, no processo de crescimento cardíaco.

SUMMARY

Pathogenesis of cardiac hypertrophy: the role of noradrenaline

Cardiac hypertrophy is the result of an increased workload to the heart induced by pressure and/or volume overload. Noradrenaline has been suggested as the trophic hormone that plays a central causative role in the process of cardiac hypertrophy. In a previous work we studied the noradrenaline levels and myocardial morphology in experimental cardiac hypertrophy induced by iron deficiency anemia in rats. Significant decrease of cardiac noradrenaline levels associated with marked cardiac hypertrophy, characterized by increased heart weight and increased diameter of cardiac muscle cells, were observed. Further, simultaneously to the settlement of the anemia, the rats were treated with reserpine, an adrenergic blocking agent. The anemic reserpined rats showed heart weight and diameter of myocells within the normal range, i.e., reserpine blocked the development of cardiac hypertrophy. In anemia, the cardiac hypertrophy results from volume overload and resembles the normal growth pattern of the cardiac muscle, in which the ratio of wall thickness to radio of chamber (h:R) at the end of diastole remains normal. In the experimental models of cardiac hypertrophy induced by pressure overload to the heart, such as in constriction of the abdominal aorta, the h:R ratio is increased due to augmented ventricular wall thickness associated with normal or reduced chamber volume. In the present work, cardiac hypertrophy was produced by constriction of the abdominal aorta immediately below the diaphragm. Contrarily to our previous observations, reserpine did not prevent the development of cardiac hypertrophy: rats treated with reserpine and submitted to aortic constriction showed heart weight and muscle cell size as increased as the untreated constricted ones. Thus, noradrenaline is likely not involved in the cardiac hypertrophy process induced by aortic constriction. It is known that depending on the nature of the inciting stimulus, the degree, abruptness and duration of wall stress, and age of the animal, physiological or pathological hypertrophy develops. Since these factors are different in the two models studied, it is probable that the conflicting results concerning the involvement of noradrenaline in experimental cardiac hypertrophy induced by iron deficiency anemia or by constriction of abdominal aorta reflect these differences, and, consequently, the type of cardiac hypertrophy developed. It suggests that noradrenaline may participate as a modulator, and not a causative, hormone in the process of cardiac growth.

INTRODUÇÃO

Hipertrofia cardíaca tem sido induzida experimentalmente por vários métodos, tais como constrição da artéria pulmonar e aorta abdominal, exercício físico prolongado, anemia crônica, hipóxia crônica e tratamento com aminas simpatomiméticas.¹ Estas situações experimentais representam uma demanda de trabalho para o coração, através de uma sobrecarga de pressão e/ou de volume. Tem sido sugerido que todos os indutores de hipertrofia do miocárdio iniciariam o processo por um mecanismo comum de acoplamento mecânico-bioquímico: um aumento na carga de trabalho para o coração causaria um aumento na transcrição de RNA e na síntese de proteínas, talvez mediados pela libertação de noradrenalina.^{2,3} A noradrenalina tem sido apontada como a hormona trófica que desempenharia um papel causador fundamental no processo de hipertrofia cardíaca.^{4,5} Laks e col.⁶ mostraram que a infusão crônica de doses sub-hipertensivas de noradrenalina resulta em hipertrofia do ventrículo esquerdo em cães. A hipertrofia cardíaca induzida por exercício físico prolongado em ratos, associada a um aumento dos níveis de noradrenalina do miocárdio, pode ser bloqueada por simpatectomia química com guanetidina.⁷ Catecolaminas aumentam a síntese de RNA em glândulas de embriões de galinha,⁸ e estimulam o metabolismo de ácidos nucleicos nas células do músculo cardíaco.⁹ Mallov¹⁰ demonstrou que adrenalina, noradrenalina, isoprenalina e fenilefrina, em suspensões oleosas administradas cronicamente promovem aumento na taxa de síntese de proteínas no coração de ratos, um efeito dose-dependente e bloqueado por propranolol. Recentemente, Simpson e col.¹¹ relataram que a noradrenalina ou o isoproterenol aumentam significativamente o tamanho dos miócitos em culturas de coração de ratos, excluindo a actuação de factores hemodinâmicos no processo de hipertrofia cardíaca. Por outro lado, simpatectomia química com guanetidina ou 6-hidroxidopamina não promoveu nenhum efeito sobre a hipertrofia ventricular induzida por hipóxia em coelhos.¹²

Anteriormente estudamos os níveis de noradrenalina e a morfologia do músculo cardíaco na hipertrofia cardíaca experimental induzida por anemia ferropriva.¹³ Esta condição foi provocada em ratos alimentados com uma dieta deficiente em ferro por 30 dias a partir do desmame. A anemia foi indicada pela queda dos níveis de hemoglobina sanguínea. Observamos diminuição significativa dos níveis de noradrenalina do miocárdio associada à acentuada hipertrofia cardíaca, caracterizada pelo aumento de peso do coração e do diâmetro das miocélulas, nos ratos anêmicos em comparação com os controles. Usando o mesmo modelo experimental, examinamos o efeito da administração prolongada de reserpina, um agente bloqueador adrenérgico, sobre o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca.¹⁴ Reserpina foi administrada intraperitonealmente (0,20 mg/Kg peso corporal) todos os dias durante o período experimental. Observamos acentuada hipertrofia cardíaca nos ratos anêmicos, enquanto o peso do coração e o tamanho das miofibras dos ratos anêmicos tratados com reserpina estavam dentro dos padrões de normalidade. A concentração de noradrenalina no coração dos ratos tratados com reserpina estava marcadamente diminuída (4% do respectivo controle). Em outras palavras, a reserpina preveniu completamente o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. A noradrenalina desempenharia, assim, um papel chave no processo de hipertrofia cardíaca na anemia ferropriva.

O objectivo do presente trabalho foi investigar o envolvimento da noradrenalina no processo de hipertrofia cardíaca

induzido por sobrecarga de pressão, usando como modelo experimental a constrição da aorta abdominal imediatamente abaixo do diafragma.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos 54 ratos albinos, machos, da linhagem Wistar, pesando aproximadamente 190 g. Os animais foram colocados em gaiolas individuais e receberam água e ração comercial de laboratório *ad libitum*. 32 ratos receberam diariamente, durante todo o período experimental, reserpina (0,2 mg/Kg de peso corporal, i.p.) dissolvida em 0,3 ml de solvente composto por: ácido fosfórico a 5%, 0,33 ml; vitamina C, 20 mg; EDTA, 1 mg; 1.2-propilenoglicol, 2 g; amoníaco, q.s.p. pH 2,7 a 3,5 e água destilada, q.s.p. 100 ml. Os outros 22 animais receberam, de maneira idêntica, o mesmo volume de solvente. Após 3 dias do início do experimento, 21 animais tratados com reserpina e 15 tratados com solvente foram submetidos à cirurgia constritora da aorta abdominal, sob anestesia com éter, pelo método proposto por Beznák.¹⁵ O abdome desses animais foi aberto e a aorta localizada e isolada logo abaixo do diafragma; uma agulha de 0,8 mm de diâmetro foi colocada em paralelo à aorta e ambas foram ligadas através de fio de algodão 4-0; posto isto, a agulha foi cuidadosamente retirada e a parede abdominal foi fechada por sutura em 2 planos. Nos restantes animais a cavidade abdominal foi aberta, a aorta isolada, porém não constrita, e a parede abdominal fechada. Desta forma, os seguintes grupos foram formados: grupo SS (7 animais) — *sham*-operados, tratados com solvente; grupo SR (11 animais) — *sham*-operados, tratados

QUADRO 1 Pesos corporais (inicial e final) e taxas de crescimento dos ratos dos diferentes grupos.

Grupo	Peso corporal		Taxa de Crescimento (g/dia/rato)
	Inicial	Final	
SS	191,42 ± 2,59 (n = 7)	197,28 ± 3,81 (n = 7)	0,97 ± 0,54 (n = 7)
SR	190,82 ± 1,64 (n = 11)	195,54 ± 2,97 (n = 11)	0,67 ± 0,30 (n = 11)
CS	192,47 ± 1,28 (n = 15)	180,14 ± 7,86 (n = 7)	-2,36 ± 1,08 (n = 7)
CR	191,19 ± 1,95 (n = 21)	170,11 ± 6,37 (n = 9)	-2,39 ± 0,5 (n = 9)
SSxCS	n.s.	P < 0,05	P < 0,01
SSxSR	n.s.	n.s.	n.s.
SSxCR	n.s.	P < 0,0025	P < 0,0005
CSxSR	n.s.	n.s.	P < 0,01
CSxCR	n.s.	n.s.	n.s.
SRxCR	n.s.	P < 0,001	P < 0,0001

Valores representam a média ± erro padrão da média.
n.s. = não significativo.
Grupo SS, *sham*-operados tratados com solvente;
Grupo SR, *sham*-operados tratados com reserpina;
Grupo CS, constritos tratados com solvente e
Grupo CR, constritos tratados com reserpina.

QUADRO 2 Pesos do coração e menor diâmetro das fibras miocárdicas dos ratos dos diferentes grupos.

Grupo	Peso do coração (mg)			p *	Diâmetro da fibra miocárdica (μm)
	Observado	Previsto	% do Previsto		
SS	686,14 \pm 15,30 (n = 7)	692,00 \pm 10,48 (n = 7)	99,03	n.s.	8,69 \pm 0,11
SR	670,00 \pm 10,44 (n = 11)	689,54 \pm 9,92 (n = 11)	97,17	n.s.	9,05 \pm 0,09
CS	882,71 \pm 35,88 (n = 7)	643,14 \pm 22,25 (n = 7)	137,25	P < 0,0001	12,16 \pm 0,10
CR	863,33 \pm 41,23 (n = 9)	617,89 \pm 17,19 (n = 9)	139,72	P < 0,000025	12,24 \pm 0,12
CSxCR	P < 0,0025				
SSxSR	n.s.				
SSxCR	P < 0,001				
CSxSR	P < 0,000025				
CSxCR	n.s.				
SRxCR	P < 0,00025				

Valores representam a média \pm erro padrão da média

*p = medido vs. previsto

n.s. = não significativo.

Grupo SS, *sham*-operados tratados com solvente; grupo SR, *sham*-operados tratados com reserpina;

Grupo CS, constritos tratados com solvente e grupo CR, constritos tratados com reserpina.

com reserpina; grupo CS (15 animais) — constritos, tratados com solvente e grupo CR (21 animais) — constritos, tratados com reserpina. 5 dias após a cirurgia os animais sobreviventes foram sacrificados por exsanguinação por secção da aorta abdominal, sob anestesia superficial com éter sulfúrico. Os corações, ainda batendo, foram rapidamente removidos, lavados em solução gelada de NaCl a 0,9%, secados, pesados e fixados inteiros em formalina neutra a 10%. Ambos os ventrículos de cada coração foram isolados e divididos em 3 fragmentos através de 2 secções coronais, a iguais intervalos. Foram obtidos cortes em série de 4 μm de espessura de cada um dos fragmentos, a seguir corados com hematoxilina e eosina. Áreas contendo fibras miocárdicas seccionadas transversalmente foram seleccionadas em cada corte (excluindo-se músculos papilares e o subendocárdio) e o menor diâmetro foi medido através de um analisador de imagens Morphomat 10, foram medidas 100 fibras por animal. Os dados obtidos foram analisados pelo teste t de Student,¹⁶ com α de 5%.

RESULTADOS

Oito animais do grupo CS e 12 animais do grupo CR morreram no decorrer do período pós-operatório. Nenhum óbito foi verificado nos outros 2 grupos experimentais.

O Quadro 1 mostra que todos os animais, no início do experimento, apresentavam pesos corporais estatisticamente iguais. O tratamento com reserpina promoveu uma ligeira, e não significativa, redução na taxa de ganho de peso corporal, como se verifica confrontando os grupos SR e CR com seus respectivos controles tratados com solvente — grupos SS e CS. Este facto é refletido nos valores de peso corporal final dos animais, apresentados no mesmo Quadro. Por outro lado, os animais submetidos à constrição da aorta abdominal (grupos CS e CR) apresentaram uma significativa

diminuição na taxa de ganho de peso corporal, com consequente redução do peso corporal final em relação aos animais *sham*-operados (grupos SS e SR). Desta forma o grupo CR, provavelmente por uma somatória de 2 factores, i.e., tratamento com reserpina e constrição da aorta, foi o que apresentou menores taxas de crescimento e peso corporal final.

O peso corporal dos animais é uma importante fonte de variabilidade do peso de seus órgãos¹⁷ e, portanto, estes últimos devem ser corrigidos em função dos primeiros. Para tanto, obtivemos uma curva de crescimento normal do coração utilizando valores colhidos de um grande número de ratos normais com pesos corporais entre 50 e 450 g. Foi possível, assim, a partir do peso corporal final de qualquer animal, prever-se seu peso cardíaco com grande margem de segurança, como o fizeram anteriormente Grove e col.¹⁸ Os animais *sham*-operados (grupos SS e SR) apresentaram pesos observados do coração estatisticamente iguais entre si (686,14 e 670,00 mg respectivamente) e aos seus respectivos pesos previstos (692,86 e 689,54 mg, respectivamente). O peso observado do coração dos animais submetidos à constrição da aorta abdominal, quer tratados com solvente, grupo CS - 882,71 mg, quer tratados com reserpina, grupo CR - 863,33 mg, foi significativamente maior do que o peso previsto para esses animais, respectivamente 643,14 mg (P < 0,0001) e 617,89 mg (P < 0,000025).

Os resultados do estudo morfométrico são apresentados no Quadro 2. As médias e os erros padrões das médias dos menores diâmetros das fibras miocárdicas de todos os grupos são mostrados. O tamanho das miocélulas dos animais submetidos à constrição da aorta abdominal-grupos CS e CR, foram respectivamente 12,16 e 12,24 μm . Estes valores são acentuadamente maiores do que os observados nos grupos *sham*-operados - SS e SR, respectivamente 8,69 e 9,05 μm . Tais diferenças podem ser claramente visualizadas na Figura 1.

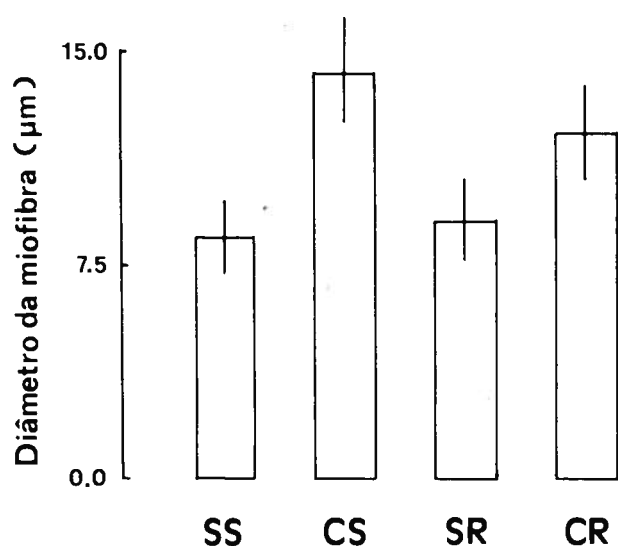


Figura 1: Menor diâmetro das fibras miocárdicas (em micrômetros) dos ratos dos diferentes grupos: SS, *sham*-operados tratados com solvente; CS, constritos tratados com solvente; SR, *sham*-operados tratados com reserpina; e CR, constritos tratados com reserpina (Valores representam a média \pm erro padrão da média).

DISCUSSÃO

Os índices de mortalidade observados no grupo de animais submetidos à constrição da aorta e tratamento com solvente - grupo CS (53,33%) e no submetido à constrição da aorta e tratamento com reserpina - grupo CR (57,14%) foram devidos não ao trauma cirúrgico *per se*, mas sim às alterações hemodinâmicas provocadas pela constrição da aorta, uma vez que nenhuma morte ocorreu nos outros 2 grupos de animais *sham*-operados.

Os animais *sham*-operados tratados com solvente (grupo SS), e os *sham*-operados tratados com reserpina (grupo SR), apresentaram pesos do coração estatisticamente iguais entre si e àqueles previstos pela curva de crescimento do coração. Os animais submetidos à constrição da aorta e tratamento com solvente (grupo CS), ou ao tratamento com reserpina (grupo CR), porém, apresentaram aumento do peso cardíaco - respectivamente 137,25% e 139,72% do peso previsto, segundo seus pesos corporais. Ao lado disso, a medida de diâmetro da fibra miocárdica dos grupos CS e CR foi acentuadamente maior do que os respectivos controles - grupos SS e SR. Estes achados mostram claramente a falência do bloqueio adrenérgico em prevenir a hipertrofia cardíaca induzida pela constrição da aorta. Isto indica que, ao contrário do que observamos anteriormente ao estudarmos a hipertrofia cardíaca induzida experimentalmente pela anemia ferropriva, a noradrenalina provavelmente não está envolvida no processo de hipertrofia cardíaca induzida pela constrição da aorta abdominal.

A hipertrofia cardíaca decorrente de sobrecarga de volume, como ocorre na anemia, mimetiza os padrões de crescimento normal do músculo cardíaco, onde a razão espessura da parede: raio (h:R) permanece normal no final da diástole. Na hipertrofia cardíaca decorrente de sobrecarga de pressão, como ocorre na constrição da aorta, a razão h:R está aumentada devido a um aumento da espessura da parede, associado a um volume da câmara normal ou reduzido.¹⁹⁻²¹ Há de se considerar, portanto, as diferentes naturezas dos estímulos indutores de hipertrofia cardíaca e também a velocidade com que são aplicados. Estímulos abruptos promovem síntese assíncrona de proteínas contráteis

do miocárdio, aparecimento de quantidades anormais de tecido conectivo e neoformação defeituosa de vasos coronários, fenômenos que não ocorrem quando o estímulo é aplicado lenta e gradualmente.³ Além disso, a severidade do estímulo (ex. grau de constrição da aorta ou gravidade da anemia) e o seu envolvimento com o sistema renina-angiotensina podem modificar as respostas hipertróficas do miocárdio. Assim, as características do estímulo indutor de hipertrofia — natureza, subitaneidade e severidade se interrelacionariam determinando o tipo de hipertrofia cardíaca — fisiológica ou patológica, segundo a classificação de Wikman-Coffelt e col.³ Os resultados díspares a respeito do envolvimento da noradrenalina na hipertrofia cardíaca experimental induzida por deficiência de ferro ou por constrição da aorta abdominal provavelmente são explicados pelos fatores acima. O aumento da actividade simpática pode não ser um fenômeno necessário para que ocorra hipertrofia cardíaca.¹² Na realidade, a noradrenalina poderia actuar como hormona moduladora, e não causadora, do crescimento cardíaco.

BIBLIOGRAFIA

- FANBURG, B. L.: Experimental cardiac hypertrophy. *N. Eng. J. Med.* 1970; 282: 723.
- NAIR, K. G.; DHURJATY, S.: Catecholamine-induced hypertrophy. *Am. Heart Caps.* 1977; 94: 393.
- WIKMAN-COFFELT, J.; PARMLEY, W. W.; MASON, D. T.: The cardiac hypertrophy process. Analysis of factors determining pathological vs. physiological development. *Circ. Res.* 1979; 45: 697.
- LAKS, M. M.; MORADY, F.: Norepinephrine — The myocardial hypertrophy hormone? *Am. Heart J.* 1976; 91: 674.
- ÖSTMAN-SMITH, I.: Cardiac sympathetic nerves as the final common pathway in the induction of adaptative cardiac hypertrophy. *Clin. Sci.* 1981; 61: 265.
- LAKS, M. M.; MORADY, F.; SWAN, H. J. C.: Myocardial hypertrophy produced by chronic infusion of subhypertensive doses of norepinephrine in the dog. *Chest* 1973; 64: 75.
- ÖSTMAN-SMITH, I.: Prevention of exercise-induced cardiac hypertrophy in rats by chemical sympathectomy (guanethidine treatment). *Neuroscience* 1976; 1: 497.
- CALDARERA, C. M.; GIORGI, P. P.; CASTI, A.: The effect of noradrenaline on polyamine and RNA synthesis in the chick embryo. *J. Endocrinol.* 1970; 46: 115.
- WOOD, N. Y.; LINDENMAYER, G. E.; SCHWARTZ, A.: Myocardial synthesis of ribonucleic acids: 1. Stimulation by isoproterenol. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1971; 3: 127.
- MALLOV, S.: Effect of sympathomimetic drugs on protein synthesis in rat heart. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1973; 187: 482.
- SIMPSON, P.; McGRATH, A.; SAVION, S.: Myocyte hypertrophy in neonatal rat heart cultures and its regulation by serum and by catecholamines. *Circ. Res.* 1982; 51: 787.
- VAUGHAN WILLIAMS, E. M.; DUKES, I. D.: The absence of effect of chemical sympathectomy on ventricular hypertrophy induced by hypoxia in young rabbits. *Cardiovasc. Res.* 1983; 17: 379.
- ROSSI, M. A.; CARILLO, S. V.; OLIVEIRA, J. S. M.: The effect of iron deficiency anemia in the rat on catecholamine levels and heart morphology. *Cardiovasc. Res.* 1981; 15: 313.
- ROSSI, M. A.; CARILLO, S. V.: Pathogenesis of cardiac hypertrophy in iron deficiency anemia: the role of noradrenaline. *Brit. J. Exp. Path.* 1982; 63: 269.

15. BEZNÁK, M.: The effect of different degrees of subdiaphragmatic aortic constriction on heart weight and blood pressure of normal and hypophysectomized rats. *Can. J. Biochem.* 1955; 33: 985.
16. SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G.: *Statistical Methods*. Iowa State University Press, Iowa, 1967.
17. SETNIKAR, I.; MAGISTRETTI, M. J.: Relationships between organ weight and body weight in the male rat. *Arzneimittelforsch* 1965; 15: 1042.
18. GROVE, D.; NAIR, K. G.; ZAK, R.: Biochemical correlates of cardiac hypertrophy. III. Changes in DNA content: the relative contributions of polyploid and mitotic activity. *Circ. Res.* 1969; 25: 463.
19. VARAT, M. A.; ADOLPH, R. J.; FOWLER, N. O.: Cardiovascular effects of anemia. *Am. Heart J.* 1972; 3: 415.
20. GRANT, C.; GREENE, D. G.; BUNNELL, I. L.: Left ventricular enlargement and hypertrophy. *Am. J. Med.* 1965; 39: 895.
21. GROSSMAN, W.: Cardiac hypertrophy: useful adaptation or pathologic process? *Am. J. Med.* 1980; 69: 576.

Pedido de separatas: Marcos A. Rossi
 Departamento de Patologia
 Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
 14 100 - Ribeirão Preto, S. P. Brasil