

Estándar de Remodelación y Función Ventricular en Ratones Expuestos al Humo del Cigarrillo

Paula S. Azevedo, Marcos F. Minicucci, Beatriz B. Matsubara, Luiz S. Matsubara, Daniella R. Duarte, Sergio A. R. Paiva, Leonardo A. M. Zornoff

Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, Botucatu, SP - Brasil

Resumen

Fundamento: No se conoce la relevancia del estándar de remodelación en el modelo de ratones expuestos al humo del cigarrillo.

Objetivo: Analizar la presencia de diferentes estándares de remodelación en este modelo y su relación con la función ventricular.

Métodos: Ratones fumadores (n=47) se dividieron según el estándar de geometría, analizado por el ecocardiograma: normal (índice de masa normal y espesor relativo normal), remodelación concéntrica (índice de masa normal y espesor relativo aumentado), hipertrofia concéntrica (índice de masa aumentado y espesor relativo aumentado) y hipertrofia excéntrica (índice de masa aumentado y espesor relativo normal).

Resultados: Los ratos fumadores presentaron uno de los cuatro estándares de geometría: estándar normal, el 51%; hipertrofia excéntrica: el 32%; hipertrofia concéntrica, el 13% y remodelación concéntrica, el 4%. Los grupos normal e hipertrofia excéntrica presentaron menores valores de fracción de eyección y porcentaje de acortamiento que el grupo hipertrofia concéntrica. Trece animales (28%) presentaron disfunción sistólica, detectada por la fracción de eyección y por el porcentaje de acortamiento. En el análisis de regresión univariado, los estándares de geometría y el índice de masa no fueron factor de predicción de disfunción ventricular ($p > 0,05$). Por otro lado, el aumento del espesor relativo de la pared fue factor de predicción de disfunción ventricular en el análisis univariado ($p < 0,001$) y en el análisis multivariado, tras ajuste para el índice de masa ($p = 0,003$).

Conclusión: Ratones expuestos al humo del cigarrillo presentan uno de los cuatro diferentes estándares de remodelación. Entre las variables geométricas analizadas, solamente el aumento del espesor relativo de la pared del ventrículo izquierdo del factor de predicción de disfunción ventricular en este modelo. (Arq Bras Cardiol 2010; 94(2) : 212-215)

Palabras clave: Remodelación, geometría, función ventricular, tabaquismo.

Introducción

Remodelación se define como variaciones génicas, moleculares, celulares e intersticiales cardíacas, que se manifestarán clínicamente por alteraciones en el tamaño, masa, geometría y función del corazón, en respuesta a determinada agresión¹⁻³. El proceso de remodelación desempeña un rol fundamental en la fisiopatología de la disfunción ventricular. Al reaccionar a la determinada agresión, las alteraciones genéticas, estructurales y bioquímicas de este proceso resultarán en progresivo deterioro de la capacidad funcional del corazón⁴⁻⁶.

Aspecto relevante es que en pacientes hipertensos, se observó que la remodelación secundaria a la hipertensión

arterial puede resultar en diferentes estándares de geometría. Utilizando como variables ecocardiográficas el índice de masa y el espesor relativo de la pared del ventrículo izquierdo (VI), los pacientes se dividieron en cuatro diferentes estándares de geometría: normal (índice de masa normal y espesor relativo normal), remodelación concéntrica (índice de masa normal y espesor relativo aumentado), hipertrofia concéntrica (índice de masa aumentado y espesor relativo aumentado) y hipertrofia excéntrica (índice de masa aumentado y espesor relativo normal). Un dato importante a considerar es que el estándar de remodelación fue predictor de eventos cardiovasculares⁷.

Recientemente, diferentes trabajos mostraron que la exposición al humo del cigarrillo resulta en remodelación cardíaca en ratones, con perjuicio de la función ventricular⁸⁻¹⁵. Sin embargo, no se conoce la importancia del estándar de remodelación cardíaca, en este modelo. Así, el objetivo de este estudio fue analizar la presencia de diferentes estándares de remodelación y su relación con la función ventricular en el modelo de ratones expuestos al humo del cigarrillo.

Correspondencia: Leonardo Antônio Mamede Zornoff •

Departamento de Clínica Médica - Rubião Jr - 18618-000 - Botucatu, SP - Brasil

E-mail: lzornoff@cardiol.br, lzornoff@fmb.unesp.br

Artículo recibido el 14/05/09; revisado recibido el 29/06/09; aceptado el 09/07/09.

Métodos

La Comisión de Ética en Experimentación Animal (CEEA) de nuestra Institución, de conformidad con los Principios Éticos en la Experimentación Animal, adoptados por lo Colegio Brasileño de Experimentación Animal, aprobó el protocolo experimental del presente trabajo.

Protocolo y grupos experimentales

Ratones Wistar, machos, pesando entre 200 g y 230 g, se dividieron en 2 grupos experimentales: **1) grupo C, n = 30** - formado por animales no expuestos al humo del cigarrillo; **2) grupo F, n = 47** - formado por los animales que fueron expuestos al humo de cigarrillo por período de 2 meses.

Posteriormente, los animales del grupo F se clasificaron de acuerdo con el estándar de remodelación: **normal** (índice de masa normal y espesor relativo normal), remodelación concéntrica (índice de masa normal y espesor relativo aumentado), hipertrofia concéntrica (índice de masa aumentado y espesor relativo aumentado) y hipertrofia excéntrica (índice de masa aumentado y espesor relativo normal).

Para exponer a los animales al humo del cigarrillo, se utilizó el método estandarizado en nuestro laboratorio⁸⁻¹³. Durante la primera semana, el humo se liberó a una tasa de 5 cigarrillos, dos veces por día en el período de la tarde, con intervalos de descanso de 10 minutos. **El número de cigarrillos** fue aumentado para una tasa de 10 cigarrillos/30 minutos, dos veces en el período de la mañana y dos en el período de la tarde, hasta el final del período de estudio.

Evaluación morfológica y funcional por el ecocardiograma

Veinticuatro horas tras el fin del período de observación, los animales se sometieron al estudio ecocardiográfico. **Se utilizó** equipo de Philips (modelo TDI 5500) dotado de transductor multifrecuencial hasta 12 MHz. **Las estructuras cardiacas** se midieron de acuerdo con las recomendaciones de la *American Society of Echocardiography/European Association of Echocardiography*¹⁶. Las mediciones se hicieron por el mismo observador, sin el conocimiento a que grupos pertenecían los animales. **Para el espesor relativo de la pared del VI, se utilizó la fórmula:** $(ERP = 2 \times \text{espesor de la pared posterior (EP)} / \text{diámetro diastólico})$. **El espesor relativo se consideró como aumentado** cuando $> 0,42^{16}$. Para el índice de masa (IMVE), se utilizó la fórmula: $IMVE = MVE/PC$, donde $MVE = \{ [DDVI + (2 \times EP)^3 - (DDVI)^3] \times 1,04 \} / 1000$ y PC es el peso corporal del animal. El índice de masa se consideró como aumentado cuando $> 1,733$. Este valor corresponde a los valores arriba del percentil 75% encontrado en los animales control. **Para el diagnóstico de disfunción ventricular sistólica, consideramos los valores abajo del 49% para el porcentaje de acortamiento y abajo de 0,87 para la fracción de eyección. Estos valores corresponden a los valores abajo del percentil 25% encontrado en los animales control.**

Método estadístico

Las comparaciones se llevaron a cabo por la ANOVA de una vía, complementadas mediante la prueba de Tukey, cuando los datos presentaron distribución normal. **Cuando los datos** no presentaron distribución normal, las comparaciones entre

los grupos se hicieron por el test de Kruskal-Wallis. **Los datos** estaban expresados en promedio \pm desviación estándar (para distribución normal) o mediana con los percentiles 25 y 75 (para distribución no normal). **El análisis de los factores de predicción de disfunción ventricular** se llevó a cabo mediante el análisis de regresión simple. **El nivel de significancia fue del 5%. Los análisis estadísticos se hicieron con el programa SigmapStat for Windows v3.5 (SPSS Inc, Chicago, IL).**

Resultados

Teniendo en cuenta el estándar geométrico de los animales control, 20 animales presentaron estándar normal, cinco tuvieron hipertrofia excéntrica, dos presentaron hipertrofia concéntrica y 3 tuvieron remodelación concéntrica. **Con** relación a las mediciones de las dimensiones cardiacas, los resultados de los animales control fueron: **DDVI (7,13 \pm 0,68 mm)**, pared posterior (1,39 \pm 0,27 mm) espesor relativo de la pared (0,40 \pm 0,14) e índice de masa (1,5 \pm 0,31 g/kg).

Teniendo en cuenta nuestros ratones expuestos al humo del cigarrillo, los animales presentaron uno de los cuatro estándares de geometría, en los siguientes porcentajes: estándar normal, el 51%; hipertrofia excéntrica: el 32%; hipertrofia concéntrica, el 13% y remodelación concéntrica, el 4%. **Debido al hecho e solamente dos animales haber** presentado el estándar remodelación concéntrica, estos animales no se incluyeron en los análisis posteriores.

Los resultados del análisis ecocardiográfico, según el estándar de remodelación, están en la Tabla 1. Podemos observar que el diámetro del atrio izquierdo fue mayor en la hipertrofia excéntrica que en el estándar normal. **Los estándares normal e hipertrofia excéntrica** presentaron mayores valores del diámetro de la cavidad ventricular que el grupo hipertrofia concéntrica, tanto en la sístole como en la diástole. **Respecto al índice de masa del VI, los animales de los** grupos de hipertrofia (concéntrica y excéntrica) presentaron mayores valores que el grupo normal. **En cuanto al espesor** relativo de la pared del VI, los animales del estándar normal presentaron menores valores que el estándar hipertrofia concéntrica. **Teniendo en cuenta la función sistólica, los grupos** estándar normal e hipertrofia excéntrica presentaron menores valores de fracción de eyección y porcentaje de acortamiento que el grupo hipertrofia concéntrica. **No hubo diferencias** entre los grupos con relación a la función diastólica.

Teniendo en cuenta los animales fumadores, 13 animales (28%) presentaron disfunción sistólica, detectada por la fracción de eyección y por el porcentaje de acortamiento. Estos animales presentaron solamente dos estándares de geometría: **El 61% presentaron estándar de geometría normal** y el 39% presentaron estándar de hipertrofia excéntrica.

Respecto a los factores de predicción de disfunción ventricular, analizamos la influencia del índice de masa, del espesor relativo de la pared y el estándar de geometría. **En el** análisis de regresión univariado, los estándares de geometría y el índice de masa no fueron factor de predicción de disfunción ventricular ($p > 0,05$). Por otro lado, el aumento del espesor relativo de la pared fue factor de predicción de disfunción ventricular en el análisis univariado ($p < 0,001$) y en el análisis multivariado tras ajuste para el índice de masa ($p = 0,003$).

Tabla 1 - Datos ecocardiográficos de acuerdo con la geometría

Variable	Normal (n=24)	Hipertrofia excéntrica (n=15)	Hipertrofia concéntrica (n=6)
Peso (g):	386 ± 65 a	377 ± 42 a	328 ± 65 a
FC (bpm/min)	295 ± 39 a	292 ± 45 a	331 ± 31 a
AI (mm)	3,98 ± 0,57 a	4,59 ± 0,61 b	4,33 ± 0,65 ab
DDVI (mm)	7,42 ± 0,72 a	7,84 ± 0,50 a	6,72 ± 0,59 b
DSVI (mm)	3,59 ± 0,69 a	3,83 ± 0,43 a	2,80 ± 0,72 b
IMVI (g/kg)	1,51 ± 0,17 a	2,00 ± 0,31 b	2,10 ± 0,28 b
PPVI (mm)	1,23 ± 0,10 a	1,40 ± 0,16 b	1,57 ± 0,14 c
ERP	0,32(0,30-0,38)a	0,35(0,33-0,41)ab	0,44(0,43-0,45)b
FE	0,88 ± 0,04a	0,88 ± 0,02 a	0,92 ± 0,03 b
% ENC	52 ± 5,8 a	51 ± 3,4 a	59 ± 8 b
E/A	1,52 ± 0,35 a	1,48 ± 0,37 a	1,22 ± 0,23 a

AI - diámetro del atrio izquierdo; DDVI - diámetro diastólico del ventrículo izquierdo; DSVI - diámetro sistólico del ventrículo izquierdo; PPVI - espesor diastólico de la pared posterior; ERP - espesor relativo de la pared del ventrículo izquierdo; IMVI - índice de masa del ventrículo izquierdo; % ENC - fracción de acortamiento; FE - fracción de eyección. Los datos está expresados en promedio ± desviación estándar (para distribución normal) o mediana con los percentiles 25 y 75 (para distribución no normal). La presencia de letras diferentes indica diferencia estadísticamente significante.

Discusión

Diversos trabajos revelan que la exposición al humo del cigarrillo resulta en remodelación cardíaca, en el modelo del ratón, con descenso de los índices de función sistólica⁸⁻¹⁵. Teniendo en cuenta la falta de informaciones sobre la relevancia del estándar de remodelación en el modelo de ratones expuestos al humo del cigarrillo, el objetivo de este estudio fue analizar la presencia de diferentes estándares de remodelación y su relación con la función ventricular en este modelo.

La primera información relevante de nuestro trabajo fue que los animales expuestos al humo del cigarrillo presentaron uno de los cuatro estándares de geometría descriptos: normal, hipertrofia excéntrica, hipertrofia concéntrica y remodelación concéntrica. **Debemos considerar, sin embargo, que los mecanismos implicados en esta variabilidad del estándar de geometría no se conocen.**

Teniendo en cuenta la presencia de uno de los cuatro diferentes estándares de remodelación, aspecto que merece la atención, se refiere al hecho de que el mismo fenómeno se observó en estudios clínicos, en modelos de hipertensión arterial^{7,17}. En el caso de la hipertensión arterial, pese a que los mecanismos no sean completamente clarificados, los diferentes estándares de geometría se explican por medio de los diferentes mecanismos fisiopatológicos para la hipertensión, con diferentes estándares hemodinámicos. **De este modo, la geometría dependería del grado de vasoconstricción, de la intensidad de la activación de factores neurohumorales y de la presencia de sobrecarga de volumen¹⁷.** En nuestro

estudio, sin embargo, los animales expuestos al humo del cigarrillo presentan las mismas características. **Así, nuestros resultados sugieren que en el modelo de exposición al humo del cigarrillo, animales con las mismas características pueden presentar adaptaciones morfológicas diferentes aun frente a una misma agresión.**

Con relación a la relevancia de los estándares de remodelación ventricular, en el *Jackson Cohort of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study*, el tipo de hipertrofia se asoció con el tipo de disfunción ventricular. Así, la hipertrofia excéntrica se asoció a la disfunción sistólica, mientras que la hipertrofia concéntrica se asoció a la disfunción diastólica. **Por otro lado, la remodelación concéntrica no estuvo asociada a la disfunción ventricular¹⁸.** En el estudio MESA, sin embargo, pacientes con remodelación concéntrica presentaron disfunción sistólica, evaluada por medio de resonancia magnética. Por tanto, la asociación entre la geometría y la disfunción ventricular todavía genera controversia. **En nuestro estudio, solo los animales con estándares geometría normal e hipertrofia excéntrica presentaron disfunción sistólica.** Otro aspecto a tener en cuenta es que diferentes autores muestran que el estándar de remodelación puede tener implicaciones pronosticas. Así, en pacientes con hipertensión, el estándar de hipertrofia concéntrica se asoció con riesgo aumentado de eventos cardiovasculares con relación a los otros estándares de geometría²⁰. Adicionalmente, estudios sugieren que la remodelación concéntrica está asociada a aumento de riesgo de eventos cardiovasculares²¹⁻²⁶. Por otro lado, otros estudios encontraron que la geometría no estuvo asociada con peor pronóstico, indicando que la relevancia del estándar de remodelación en pacientes hipertensos permanece por ser determinada. **En nuestro estudio, los estándares de geometría no fueron factores de predicción de disfunción ventricular sistólica. Por tanto, en el modelo de ratones expuestos al humo del cigarrillo, el estándar de remodelación no presentó relevancia en cuanto a la función cardíaca.**

Otro aspecto a tener en cuenta en nuestro estudio se refiere a la importancia del espesor relativo del VI. **En estudio clínico con pacientes hipertensos, el índice de masa fue más importante que el espesor relativo de la pared como factor pronóstico.** En pacientes con infarto agudo de miocardio, el estándar de geometría, el índice de masa y el espesor relativo de la pared fueron factores predictores independientes de óbito³⁰. En nuestro estudio, entre las variables geométricas analizadas, el espesor relativo de la pared fue el único variable predictor de disfunción ventricular, enfatizando la importancia de esta variable en el modelo de ratones fumadores.

En conclusión, ratones expuestos al humo del cigarrillo presentan uno de los cuatro diferentes estándares de remodelación. **Entre las variables geométricas analizadas, solamente el aumento del espesor relativo de la pared del ventrículo izquierdo del factor de predicción de disfunción ventricular en este modelo.**

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

Vinculación Académica

No hay vinculación de este estudio a programas de postgrado.

Referencias

1. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation*. 1990; 81: 1161-72.
2. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res*. 1985; 57: 84-95.
3. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling- concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35: 569-82.
4. Zornoff LAM, Paiva SAR, Duarte DR, Spadaro J. Ventricular remodeling after myocardial infarction: concepts and clinical implications. *Arq Bras Cardiol*. 2009; 92: 150-6.
5. Francis GS. Pathophysiology of chronic heart failure. *Am J Med*. 2001; 110: 37S-46S.
6. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev*. 1999; 79: 215-62.
7. Ganau A, Devereux RB, Roman MJ, de Simone G, Pickering TG, Saba PS, et al. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 1992; 19: 1550-8.
8. Paiva SAR, Zornoff LAM, Okoshi MP, Okoshi K, Cicogna AC, Campana AO. Behavior of cardiac variables in animals exposed to cigarette smoke. *Arq Bras Cardiol*. 2003; 81: 221-8.
9. Castardeli E, Paiva SAR, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS, et al. Chronic cigarette smoke exposure results in cardiac remodeling and impaired ventricular function in rats. *Arq Bras Cardiol*. 2005; 84: 320-4.
10. Zornoff LAM, Matsubara LS, Matsubara BB, Okoshi MP, Okoshi K, Dal Pai-Silva, et al. Beta-carotene supplementation attenuates cardiac remodeling induced by one-month tobacco-exposure in rats. *Tox Sci*. 2006; 90: 259-66.
11. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS, Campana AO, et al. Cigarette smoke exposure intensifies ventricular remodeling process following myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol*. 2006; 86: 276-82.
12. Castardeli E, Duarte DR, Minicucci MF, Azevedo PS, Matsubara BB, Matsubara LS, et al. Tobacco smoke-induced left ventricular remodeling is not associated with metalloproteinase-2 or -9 activation. *Eur J Heart Fail*. 2007; 9: 1081-5.
13. Castardeli E, Duarte DR, Minicucci MF, Azevedo PS, Matsubara BB, Matsubara LS, et al. Exposure time and ventricular remodeling induced by tobacco smoke exposure in rats. *Med Sci Monit*. 2008; 14: BR62-66.
14. Houdi AA, Dowell RT, Diana JN. Cardiovascular responses to cigarette smoke exposure in restrained conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995; 275: 646-53.
15. Gu L, Pandey V, Geenen DL, Chowdhury SAK, Piano MR. Cigarette smoke-induced left ventricular remodeling is associated with activation of mitogen-activated protein kinases. *Eur J Heart Fail*. 2008; 10: 1057-64.
16. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005; 18: 1440-63.
17. Dávila DF, Donis JH, Odreman R, Gonzalez M, Landaeta. Patterns of left ventricular hypertrophy in essential hypertension: should echocardiography guide the pharmacological treatment? *Int J Cardiol*. 2008; 124: 134-8.
18. Fox E, Taylor J, Taylor H, Han H, Samdarshi T, Arnett D, et al. Left ventricular geometric pattern in the Jackson Cohort of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: clinical correlates and influences on systolic and diastolic dysfunction. *Am Heart J*. 2007; 153: 238-44.
19. Rosen BD, Edvardsen T, Lai S, Castillo E, Pan L, Jerosch-Herold M, et al. Left ventricular concentric remodeling is associated with decreased global and regional systolic function: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation*. 2005; 112: 936-8.
20. Koren MJ, Devereux RB, Casale PN, Savage DD, Laragh JH. Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann Intern Med*. 1991; 114: 345-52.
21. de Simone G, Kitzman DW, Chinali M, Oberman A, Hopkins PN, Rao DC, et al. Left ventricular concentric geometry is associated with impaired relaxation in hypertension: the HyperGEN study. *Eur Heart J*. 2005; 26: 1039-45.
22. Gardin JM, McClellan R, Kitzman D, Lima JA, Bommer W, Klopfenstein HS, et al. M-mode echocardiographic predictors of six-to-seven year incidence of coronary heart disease, stroke, congestive heart failure, and mortality in an elderly cohort. *Am J Cardiol*. 2001; 87: 1051-7.
23. Verdecchia P, Schillaci G, Borgioni C, Ciucci A, Battistelli M, Bartocchini C, et al. Adverse prognostic significance of concentric remodeling of the left ventricle in hypertensive patients with normal left ventricular mass. *J Am Coll Cardiol*. 1995; 25: 871-8.
24. Muiesan ML, Salvetti M, Monteduro C, Bonzi B, Paini A, Viola S, et al. Left ventricular concentric geometry during treatment adversely affects cardiovascular prognosis in hypertensive patients. *Hypertension*. 2004; 43: 731-8.
25. Pierdomenico SD, Lapenna D, Bucci A, Manente BM, Cuccurullo F, Mezzetti A. Prognostic value of left ventricular concentric remodeling in uncomplicated mild hypertension. *Am J Hypertens*. 2004; 17: 1035-9.
26. Di Tullio MR, Zwas DR, Sacco RL, Sciacca RR, Homma S. Left ventricular mass and geometry and the risk of ischemic stroke. *Stroke*. 2003; 34: 2380-4.
27. Verdecchia P, Schillaci G, Borgioni C, Ciucci A, Gattobigio R, Zampi I, et al. Prognostic value of left ventricular mass and geometry in systemic hypertension with left ventricular hypertrophy. *Am J Cardiol*. 1996; 78: 197-202.
28. Krumholz HM, Larson M, Levy D. Prognosis of left ventricular geometric patterns in the Framingham Heart Study. *J Am Coll Cardiol*. 1995; 25: 879-84.
29. Ghali JK, Liao Y, Cooper RS. Influence of left ventricular geometric patterns on prognosis in patients with or without coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 1998; 31: 1635-40.
30. Verma A, Meris A, Skali H, Ghali JK, Arnold JM, Bourgoun M, et al. Prognostic implications of left ventricular mass and geometry following myocardial infarction: the VALIANT (VALsartan In Acute myocardial infarction) Echocardiographic Study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2008; 1: 582-91.