

Bandagem ajustável do tronco pulmonar: comparação de dois métodos de hipertrofia aguda do ventrículo subpulmonar

Adjustable pulmonary trunk banding: comparison of two methods of acute subpulmonary ventricle hypertrophy

Renato Samy ASSAD¹, Miguel Quintana RODRIGUEZ², Maria Cristina ABDUCH³, Acrísio Sales VALENTE⁴, José L. ANDRADE⁵, José Eduardo KRIEGER⁶, Miguel BARBERO-MARCIAL⁷

RBCCV 44205-850

Resumo

Objetivo: Este estudo compara a sobrecarga contínua versus intermitente do ventrículo direito (VD) de cabritos, para induzir a hipertrofia ventricular.

Método: Foram utilizados três grupos de sete cabritos jovens (controle, contínuo, intermitente). A sobrecarga sistólica foi imposta por 96 horas, no contínuo e por quatro períodos de 12 horas, alternados com 12 horas de descanso, no intermitente. Avaliações ecocardiográficas e

hemodinâmicas foram feitas diariamente. Os animais foram, então, mortos para avaliar o conteúdo de água e peso das massas cardíacas.

Resultados: O Intermitente mostrou aumento dos pesos de VD e de septo, em relação ao controle ($p<0,05$), enquanto o contínuo aumentou apenas a massa do VD ($p<0,05$). Houve maior aumento da espessura do VD no Intermitente ($p<0,05$). O volume diastólico final do VD mostrou diferença significativa entre os grupos ($p=0,01$), com maior dilatação

1 - Professor Livre-Docente da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; Cirurgião Cardíaco da Unidade Cirúrgica Infantil do Instituto do Coração HCFMUSP.

2 - Cirurgião Cardiovascular; Doutor em Ciências pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3 - Médica Veterinária; Doutora em Ciências pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; Médica Veterinária Assistente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

4 - Cirurgião Cardiovascular do Hospital Universitário de Fortaleza.

5 - Professor Livre Docente da UNIFESP- Escola Paulista de Medicina; Chefe do Laboratório de Ecocardiografia do Hospital Sírio Libanês, São Paulo.

6 - Professor Livre-Docente do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; Diretor do Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

7 - Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; Diretor da Unidade Cirúrgica Infantil do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Trabalho realizado no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP.

Endereço para correspondência:

Renato S. Assad. Instituto do Coração HC – FMUSP. Unidade Cirúrgica Infantil Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 - São Paulo, SP – CEP: 05403-000 Fone/fax: (011) 3069-5089.

E-mail: rsasad@cardiol.br

Artigo recebido em junho de 2006
Artigo aprovado em novembro de 2006

do VD do grupo contínuo, no momento 24 horas de sobrecarga sistólica ($p < 0,03$). A fração de ejeção do VD se manteve dentro da normalidade nos dois grupos ao longo do protocolo. Foi observado menor perímetro do VD no intermitente, após 96 horas de treinamento ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os grupos de estudo e o controle quanto ao conteúdo de água do miocárdio do VD.

Conclusões: A bandagem ajustável do tronco pulmonar permitiu um rápido processo hipertrófico do VD em ambos os grupos, sendo, porém, mais eficiente no intermitente. Nosso estudo sugere que a preparação do ventrículo subpulmonar de forma intermitente poderá proporcionar melhor resultado para a operação de Jatene em dois estágios.

Descritores: Ventriculos cardíacos, fisiopatologia. Hipertrofia, fisiopatologia. Hipertrofia ventricular direita. Transposição dos grandes vasos, cirurgia. Procedimentos cirúrgicos cardíacos, métodos. Cabras.

Abstract

Objective: This study compares ventricular hypertrophy induced by continuous versus intermittent systolic overload of the pulmonary ventricle (RV) of young goats.

Methods: Three groups of seven goats were used (control, continuous, and intermittent). Systolic overload was maintained for 96 hours in the continuous group, while the intermittent group suffered four 12-hour periods of systolic overload, alternating with 12-hour resting periods.

INTRODUÇÃO

O conceito de preparo rápido do ventrículo esquerdo (VE) foi introduzido pelo grupo de Boston, em 1989, para tratar a transposição das grandes artérias (TGA) após o período neonatal. O retraining do ventrículo subpulmonar era obtido em um período médio de nove dias, realizando, então, a operação de Jatene a seguir [1]. Estes autores obtiveram bons resultados iniciais, porém, não reproduzíveis em outros centros, por apresentar alta morbimortalidade. Uma das maiores limitações desta abordagem técnica está relacionada à falta de ajustabilidade da bandagem do tronco pulmonar (TP). O grau da bandagem do TP pode ser inadequado ou impreciso, podendo até ocasionar uma sobrecarga sistólica aguda importante ao VE [2,3].

A hipertrofia cardíaca representa a principal resposta adaptativa do coração submetido a uma sobrecarga de trabalho, fisiológica ou patológica. É interessante notar que a aquisição de massa de VE durante o condicionamento físico de atletas que praticam natação, por exemplo, atinge o pico em apenas uma semana de treinamento. Posteriormente, a massa de VE permanece relativamente constante [4].

Procurando aperfeiçoar o processo de hipertrofia rápida, sem ocasionar danos ao miocárdio do ventrículo subpulmonar, almejamos a analogia entre o processo

Echocardiographic and hemodynamic evaluations were performed every day. The animals were then killed for myocardial water content and weight evaluation.

Results: Both study groups achieved significant increases in RV mass ($p < 0,05$). However, significant increases of the septum mass were observed only in the Intermittent Group ($p < 0,05$). A greater increase in the RV wall thickness was observed in the Intermittent Group ($p < 0,05$). There was a significant difference in RV diastolic volume between the two groups ($p = 0,01$), with a greater RV dilation in the Continuous Group after 24 hours of continuous overload ($p < 0,03$). In both groups, the RV ejection fraction was maintained within the normal range throughout the protocol. A smaller RV perimeter was observed in the Intermittent Group after 96 hours of systolic overload ($p < 0,05$). There was no significant difference in RV myocardial water content between the study groups and the Control Group.

Conclusions: Adjustable pulmonary artery bandages permit rapid RV hypertrophy in both groups. Nevertheless, it is more efficient in the Intermittent Group. This study suggests that preparation of the pulmonary ventricle with intermittent systolic overload might provide better results for the 2-stage arterial switch operation.

Descriptors: Heart ventricles, physiopathology. Hypertrophy, physiopathology. Right ventricular hypertrophy. Transposition of great vessels, surgery. Cardiac surgical procedures, methods. Goats.

hipertrófico fisiológico no exercício tipo estático com a bandagem intermitente do TP, onde períodos de sobrecarga sistólica são alternados com períodos de descanso do ventrículo subpulmonar.

Formulamos a hipótese de que o ventrículo subpulmonar, submetido a uma sobrecarga sistólica gradual e progressiva, alternada com períodos de descanso, proporcionaria um processo hipertrófico mais saudável, similar ao observado no miocárdio dos atletas que realizam exercícios de sobrecarga sistólica. Diante da possibilidade de ajuste intermitente da sobrecarga sistólica do ventrículo subpulmonar, é necessário um melhor entendimento das alterações ocorridas durante este processo de hipertrofia aguda, com o objetivo de avaliar seu impacto na função miocárdica. Assim, a indução de uma hipertrofia mais fisiológica possível poderia ser atingida, no sentido de preservar a função ventricular no futuro.

O objetivo deste estudo foi o de comparar a hipertrofia miocárdica aguda no ventrículo subpulmonar (VD) de dois grupos de cabritos jovens, sendo o primeiro submetido à sobrecarga sistólica contínua e progressiva do VD, e o segundo submetido à sobrecarga sistólica intermitente do VD, com o uso de um dispositivo de bandagem ajustável do TP. Analisamos e comparamos também a hipertrofia rápida, sob os pontos de vista hemodinâmico e ecocardiográfico,

nos dois processos de sobrecarga sistólica do ventrículo subpulmonar (intermitente x contínua), além do peso e o conteúdo de água do miocárdio entre os grupos de estudo e o grupo controle.

MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob o número 999/01 e está de acordo com as normas de uso de animais em ensino e pesquisa estabelecidas no "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1996) e os Princípios éticos na experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados 21 cabritos hígidos, com idade entre 30 e 60 dias, divididos em três grupos: controle (n = 7, peso = $7,5 \pm 1,9$ kg, nenhum procedimento cirúrgico), contínuo (n = 7, peso = $9,3 \pm 1,4$ kg, sobrecarga sistólica contínua do VD), intermitente (n = 7, peso = $8,1 \pm 0,8$ kg, 12 horas/dia de sobrecarga sistólica intermitente do VD), ambos estudados por um período de 96 horas.

Avaliação pré-operatória

Todos os animais foram também submetidos ao ecocardiograma (Apogee CX, Advanced Technology Laboratories, Bothell, WA, EUA), no pré-operatório, para confirmação da espessura da parede livre do VD em relação ao VE.

Anestesia

Os animais permaneceram 24 horas em jejum antes da cirurgia. A indução anestésica foi feita com ketamina (30 mg/kg, intramuscular). Os animais foram pesados e, em seguida, puncionados na veia jugular com Jelco nº 18, para administração de drogas e infusão de soro fisiológico. O animal foi, então, sedado com nembutal (5 a 10 mg/kg, endovenoso) e intubado. A ventilação mecânica (Harvard 708, South Natick, MA, EUA) foi mantida com fração inspirada de oxigênio de 100% e volume tidal de 15 ml/kg. O animal foi posicionado em decúbito lateral direito, monitorizado com ECG e preparado para procedimento estéril. A anestesia foi mantida com pentobarbital sódico (nembutal, 5- 10 mg/kg, via intravenosa) e ketamina (1mg/kg endovenoso). Todos os animais receberam antibioticoterapia, iniciada antes da cirurgia e mantida até o final do protocolo (cefazolina 500 mg e gentamicina 10 mg, via intramuscular, a cada 12 horas). Também foram administrados digoxina (0,005 mg/kg EV a cada 12 horas) e heparina (2500 U a cada 12 horas, por via subcutânea) até o final do protocolo.

Procedimento Cirúrgico

Foi realizada toracotomia lateral esquerda no 4º espaço intercostal. O pulmão foi afastado e o saco pericárdico foi amplamente aberto. Uma exposição adequada da via de saída do VD, bem como do TP e da aorta torácica descendente, foi obtida. Neste momento, foram implantados três cateteres (intracath 17G) previamente heparinizados em VD, TP e aorta torácica descendente, respectivamente. Os cateteres foram fixados com suturas em bolsa de prolene 5-0 e exteriorizados através da parede torácica, próximos à coluna vertebral, onde também foram fixados à pele com fio de algodão 3-0. A seguir, estes cateteres foram testados (permeabilidade e curvas de pressão) e mantidos heparinizados. As pressões, proximal e distal ao dispositivo de bandagem ajustável do TP, bem como a pressão arterial sistêmica, foram medidas com o sistema de software ACQ Knowledge 3.01 (Biopac Systems, Inc., Goleta, CA, EUA).

Dispositivo de bandagem do TP

O TP foi dissecado para implante do dispositivo de bandagem do TP, conforme descrito e utilizado em publicações prévias [5,6]. O manguito foi posicionado imediatamente acima da valva pulmonar, sendo fixado na adventícia do TP para se evitar a migração do mesmo. O botão de insuflação do dispositivo foi implantado no subcutâneo, permitindo assim o ajuste fino do diâmetro do anel de bandagem por via percutânea.

Após o implante do dispositivo, foi realizada a drenagem do tórax em selo d'água. As costelas e os tecidos da parede torácica foram aproximados por planos. Após cerca de seis horas de pós-operatório imediato, o dreno de tórax era removido, mediante constatação de drenagem mínima, ausência de fístula broncopulmonar e boa expansibilidade pulmonar.

Protocolo de sobrecarga sistólica do VD

O treinamento do VD foi iniciado após recuperação plena da cirurgia (72 horas de convalescença). Com o animal consciente e imobilizado na maca especial, procedemos à leitura das pressões basais de VD, TP e aorta, com o dispositivo completamente desinsuflado. Após a leitura das pressões basais, iniciamos a insuflação do dispositivo com soro fisiológico percutaneamente com seringa de insulina, observando as curvas das pressões do VD e aorta, objetivando alcançar uma pressão em VD de aproximadamente 70% da pressão sistólica sistêmica, desde que não provocasse uma queda superior a 10% na mesma.

Caso o animal apresentasse sinais clínicos de hipóxia importante, como agitação, dificuldade respiratória ou arritmias, o volume do dispositivo era reduzido para um valor tolerável pelo animal. A insuflação do dispositivo e a medida das pressões na aorta, VD e TP foram realizadas diariamente

nos dois grupos. O volume de água do dispositivo era medido e comparado ao do dia anterior para avaliar possível perda. Novamente, o dispositivo era insuflado, procurando-se atingir os parâmetros desejados, geralmente sendo possível acrescentar um maior volume a cada dia. O gradiente de pressão entre o VD e o tronco da artéria pulmonar foi calculado pela subtração de suas pressões sistólicas.

Treinamento do grupo contínuo

Os animais permaneceram em sobrecarga sistólica contínua do VD, por um período de 96 horas, com insuflações progressivas no limite máximo tolerado, a cada 24 horas.

Treinamento do grupo intermitente

Os animais permaneceram com quatro períodos de 12 horas de sobrecarga sistólica do VD (período diurno), alternados com 12 horas de descanso (período noturno), durante o mesmo tempo de 96 horas do grupo contínuo. As pressões foram medidas tanto no período diurno quanto noturno.

Estudo ecocardiográfico

Todos os animais foram submetidos à avaliação ecocardiográfica pelo mesmo especialista, previamente ao início do protocolo da insuflação, assim como diariamente pós-insuflação do dispositivo, para avaliar o processo de hipertrofia do VD de ambos os grupos estimulados, durante as 96 horas de sobrecarga sistólica do VD. Os animais do grupo controle foram também avaliados uma única vez, antes de serem sacrificados.

Foram utilizados transdutores de 7,5 MHz para a obtenção das imagens e de 2,5 MHz para análise dos fluxos. As espessuras do septo interventricular e parede posterior do VE foram medidas no modo M, no final da diástole, por meio do corte paraesternal transverso, na altura dos músculos papilares. O gradiente de pressão VD/TP provocado pelo dispositivo foi obtido por meio do Doppler contínuo. O perímetro da parede livre do VD, bem como sua espessura, foi medido pelo ecocardiograma bidimensional, no mesmo corte paraesternal, na altura dos vasos da base e dos músculos papilares, sempre no final da diástole. Os valores de perímetro do VD foram indexados às espessuras da parede do VD, no local da medida do perímetro. Estas medidas também foram tomadas no corte longitudinal quatro câmaras. O resultado da espessura da parede livre do VD representa a média das três medidas obtidas em cada exame. Os volumes sistólico final (VSF) e diastólico final (VDF) do ventrículo direito foram obtidos pela fórmula área x comprimento, no corte longitudinal quatro câmaras. A eficiência hemodinâmica foi avaliada pela fração de ejeção do VD (FEVD), que foi obtida a partir da diferença dos

volumes assim medidos, conforme a fórmula proposta por Pontes et al. [7]:

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

Pesagem das massas cardíacas

Após o encerramento do protocolo de cada animal, foi realizado o sacrifício para ressecção do coração. Antes da indução anestésica, foram medidas as pressões do VD, TP e aorta. Após anestesia geral com ketamina (30 mg/kg, IM) e nembutal (15 mg/kg, EV) e intubação oro-traqueal, foi realizada toracotomia esquerda sobre a incisão prévia, para exposição do coração. Foram realizadas lises de bridas e dissecação das veias cavas superior, inferior e grandes artérias. Após aprofundamento do plano anestésico, foi administrada heparina (50 mg EV) e cloreto de potássio para atingir a parada cardíaca.

O coração foi, então, ressecado. A gordura epicárdica foi cuidadosamente ressecada e as paredes ventriculares e septal separadas, de acordo com a técnica de Fulton et al. [8]. A aorta e TP foram ressecados no plano das valvas semilunares. Os átrios foram ressecados, juntamente com as valvas atrioventriculares, e identificados. A parede livre do VD foi separada do septo interventricular, cortando-a paralelo ao trajeto das artérias interventricular anterior e posterior. O mesmo procedimento foi realizado para separação da parede livre do VE da parede septal.

A seguir, o VD, VE, septo interventricular e átrios foram pesados em balança digital (METTLER AE-200, Mettler-Toledo AG, Greifensee, Suíça). Devido à variação de peso dos animais, as medidas foram normalizadas pela indexação de peso das massas musculares cardíacas pelo respectivo peso corporal do animal. Os pesos indexados foram expressos em g/kg. Os animais do grupo controle também foram submetidos ao mesmo protocolo de sacrifício, ressecção e pesagem das peças.

Conteúdo de água dos tecidos

A seguir, foram colhidas amostras de cada uma das paredes cardíacas para avaliação de conteúdo de água (CA). O peso inicial (Pi) de cada amostra foi obtido. As amostras foram então acondicionadas em frascos apropriados, fechados com papel filtro e devidamente identificados, antes de serem colocadas na estufa (temperatura: 55-60°C). Após cerca de 70 horas de desidratação, cada amostra foi novamente pesada para se obter o peso seco (Ps). O porcentual do conteúdo de água foi então obtido pela seguinte fórmula, assumindo que a distribuição de água foi homogênea no septo e nos ventrículos:

$$CA (\%) = 100 - (Ps \times Pi^{-1} \times 100)$$

Os conteúdos de água das massas musculares cardíacas dos grupos contínuo e intermitente foram comparados aos

do grupo controle, para esclarecer se o ganho de peso do VD dos grupos de estudo estaria associado a edema miocárdico.

Análise estatística

A normalidade da distribuição de cada variável foi avaliada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. As comparações das medianas de variáveis como razão VD/VE e a espessura do músculo cardíaco do VD foram avaliadas por meio do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguidos do teste de comparação múltiplas de Student-Newman-Keuls. As comparações das pressões sistólicas da aorta, fração de ejeção do VD (medida pelo ecocardiograma), gradiente de pressão VD/TP, perímetro e volume diastólico final do VD, nos grupos contínuo e intermitente, nos instantes basal e ao longo do protocolo, foram realizadas por meio da análise de variância (ANOVA) de dois fatores, seguida das comparações múltiplas de Fisher. Já os valores de massa do VD, VE e septo, pesados diretamente, bem como dos conteúdos de água no VD, VE e septo foram comparados por meio de ANOVA de um fator, seguido das comparações múltiplas de Bonferroni. A sobrecarga sistólica imposta ao VD, dos grupos contínuo e intermitente, foi avaliada pelo cálculo das áreas sob as curvas (método trapezoidal), que descrevem o comportamento do gradiente de pressão entre o ventrículo direito e o TP (VD/TP), nos grupos contínuo e intermitente. A comparação das áreas sob as curvas foi realizada por meio de teste "t" de Student para dados não pareados. Os valores estão apresentados na forma de média \pm desvio-padrão (DP) para análises por meio de testes paramétricos, e na forma de mediana e respectivo interquartil (25%-75%) para os testes não paramétricos. Para todos os casos, o nível de significância utilizado foi de 5%. As análises estatísticas foram realizadas com "software" do programa GraphPad Prism v.4 (San Diego, CA - EUA) e ESTATISTICA v.6 (Tulsa, OK - EUA).

RESULTADOS

Todos os animais completaram o protocolo de 96 horas de sobrecarga sistólica variável do VD. Os pesos dos animais dos três grupos foram comparáveis entre si ($p=0,11$). O grupo intermitente suportou um volume de enchimento do manguito maior que o grupo contínuo ($0,63 \text{ ml} \pm 0,19 \text{ ml}$ versus $0,47 \text{ ml} \pm 0,16 \text{ ml}$, $p=0,001$). Houve perda mínima variável do volume injetado no dispositivo durante o período de estudo.

Medidas hemodinâmicas

Pressão arterial sistêmica

A pressão sistólica sistêmica dos dois grupos de animais

foi analisada pelo teste paramétrico ANOVA de dois fatores, demonstrando não haver diferença nos valores de pressão arterial sistólica com o estímulo de sobrecarga ($p=0,21$ e $p=0,12$ para grupo e tempo, respectivamente), independente do método (Contínuo ou Intermitente). É interessante observar que houve uma tendência a pressões sistólicas menores no grupo contínuo, quando comparadas ao grupo intermitente.

Gradiente de pressão VD/TP

A análise de variância de dois fatores mostrou significância estatística ($p=0,02$) para os valores de gradiente VD/TP. Em relação ao treinamento do VD, observamos na Figura 1 um aumento progressivo do gradiente de pressão entre VD/TP apenas no grupo Intermitente, para os momentos 48 horas ($72,00 \text{ mmHg} \pm 15,17 \text{ mmHg}$) e 72 horas ($80,00 \text{ mmHg} \pm 12,99 \text{ mmHg}$) em relação às medidas basais ($9,57 \text{ mmHg} \pm 9,45 \text{ mmHg}$; $p<0,05$). Entretanto, não houve diferença estatística nos valores de gradiente gerados pelo VD entre os grupos Contínuo e Intermitente para cada momento observado (0, 24, 48, 72 e 96 horas, $p>0,05$).

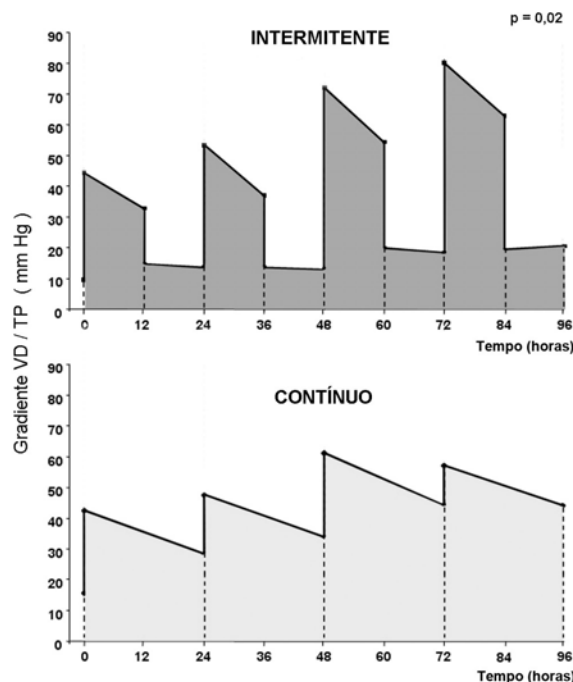


Fig. 1 - Diagrama da sobrecarga sistólica do VD. Painel superior: Gradiente VD/TP (mmHg) do grupo submetido a 12 horas de sobrecarga sistólica do VD, alternadas com 12 horas de descanso. Painel inferior: Gradiente VD/TP (mmHg) do grupo submetido à sobrecarga sistólica contínua do VD. (* $p=0,02$). VD - Ventrículo Direito; TP - Tronco Pulmonar

A queda do gradiente VD/TP na última medida (96 horas) do grupo intermitente deve-se ao fato dos animais deste grupo estarem no período de descanso. Apesar disto, foram observados maiores gradientes gerados pelo VD neste momento, quando comparado aos valores basais, mesmo com o dispositivo de bandagem ajustável desinsuflado. Entretanto, essas diferenças não foram estatisticamente significantes. A Figura 2 mostra a área de sobrecarga sistólica imposta ao VD nos dois grupos. Os dados foram obtidos pelo cálculo integral entre o produto do gradiente pressórico VD/TP pelo tempo de sobrecarga sistólica. A área de sobrecarga sistólica foi menor no grupo intermitente, quando comparada ao grupo contínuo ($p=0,002$).

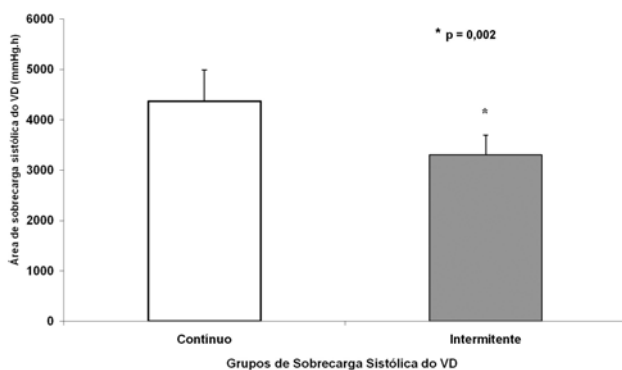


Fig. 2 - Diagrama da área de sobrecarga sistólica do Ventrículo Direito (VD). Área de sobrecarga dos grupos submetidos à bandagem contínua versus intermitente do Tronco Pulmonar (TP). (* $p = 0,002$)

Razão de pressões VD/VE

A razão de pressões VD/VE de ambos os grupos de sobrecarga sistólica de VD está demonstrada na Tabela 1. Paralelamente ao gradiente VD/TP, observamos um aumento progressivo da relação VD/VE nos dois grupos, quando comparados aos valores basais ($p<0,05$). Entretanto, foram observados maiores valores no grupo intermitente quando comparados ao grupo Contínuo, nos momentos 24, 48 e 72 horas. A queda significativa da relação VD/VE do grupo contínuo após 96 horas de protocolo ($p<0,05$) pode estar relacionada à perda gradual do volume do dispositivo de bandagem ajustável do TP. Quanto ao grupo intermitente, como o dispositivo permaneceu desinsuflado durante as medidas hemodinâmicas de 96 horas, devido ao período de descanso prévio, é esperada uma relação VD/VE mais baixa, porém ainda maior que o valor basal ($p < 0,05$).

Tabela 1. Comparação das medianas da razão de pressões VD/VE nos grupos de sobrecarga sistólica contínua versus intermitente, calculada por meio dos dados obtidos pelas medidas de pressões dos cateteres vasculares.

Tempo (horas)	Razão VD/VE		Valor de p
	Grupo contínuo	Grupo intermitente	
Basal	0,34 (0,29-0,39)	0,33 (0,30-0,44)	>0,05
0	0,68 (0,62-0,84)	0,70 (0,65-0,81)	>0,05
24	0,79 (0,61-0,81)	0,79 (0,73-0,96)	<0,05
48	0,84 (0,76-0,95)	1,08 (0,85-1,20)	<0,05
72	0,85 (0,74-0,97)	1,10 (0,94-1,25)	<0,05
96	0,69 (0,54-0,74)	0,49 (0,37-0,54)	<0,05

$n=7$; Valores= mediana (interquartis 25% - 75%); Grupo Contínuo= sobrecarga sistólica contínua do VD; Grupo Intermitente= sobrecarga sistólica intermitente do VD. VD – Ventrículo direito; VE – Ventrículo esquerdo

Achados ecocardiográficos

Espessuras das paredes cardíacas

Todos os animais incluídos no protocolo apresentavam espessura do VD inferior às do septo e do VE no momento zero. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis demonstrou não haver alteração na espessura do VE e do septo com os estímulos de sobrecarga Contínuo ou Intermitente ($p=1,00$).

A Figura 3 mostra o aumento progressivo da espessura da parede do VD ao longo do protocolo. Ambos os grupos apresentaram aumento importante da espessura da parede livre do VD. Entretanto, este aumento foi significativamente maior no grupo Intermitente, com ganho de 132,1% ao final do protocolo, em relação ao aumento de 63,7% do grupo Contínuo ($p<0,05$). A contratilidade do VE manteve-se preservada durante todo o protocolo.

Gradiente de pressão VD/TP

A análise de variância de dois fatores mostrou um valor de $p<0,001$ para os valores de gradiente VD/TP. No entanto, o teste de comparações múltiplas utilizado não localizou nenhuma diferença estatística entre os grupos para cada tempo estudado (0, 24, 48, 72 e 96 horas). Conforme observado nas medidas realizadas com os cateteres, notamos pelo ecocardiograma um aumento significativo do gradiente VD/TP do grupo Intermitente, 72 horas após o início da sobrecarga sistólica ($30,29 \text{ mmHg} \pm 6,16 \text{ mmHg}$) em relação ao momento basal ($2,14 \text{ mmHg} \pm 1,46 \text{ mmHg}$; $p<0,05$). Diferentemente das medidas observadas pelo cateter, o grupo contínuo mostrou incrementos de gradiente VD/TP

estimados pelo Doppler maiores que o valor basal para os momentos 48, 72 e 96 horas de sobrecarga sistólica ($p < 0,05$).

Conforme observado pelas medidas hemodinâmicas tomadas por cateter, é importante salientar que, na medida de 96 horas de sobrecarga de VD do grupo intermitente, com o VD já treinado, também foram observados gradientes de pressão VD/TP mais elevados que as medidas basais, apesar dos animais encontrarem-se no período de descanso. Essas diferenças, no entanto, não foram estatisticamente significantes.

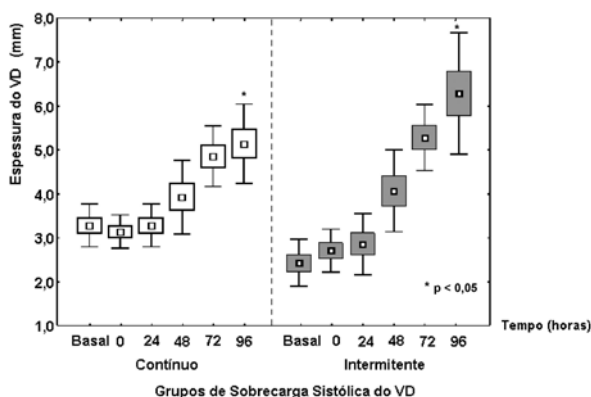


Fig. 3 - Medidas ecocardiográficas do Ventrículo Direito (VD). Espessura da parede livre do VD dos grupos submetidos à sobrecarga sistólica contínua e intermitente. (* $p < 0,05$)

Volume diastólico final do VD

A Figura 4 demonstra a variação porcentual do volume diastólico do VD ao longo do protocolo de sobrecarga sistólica, em relação à avaliação ecocardiográfica pré-operatória. A análise de variância do volume diastólico final do VD mostrou diferença significativa entre os grupos ($p = 0,01$). A análise de comparações múltiplas (pós-teste de Fisher) revelou uma maior dilatação do VD do grupo contínuo no momento 24 horas de sobrecarga sistólica, em relação aos momentos zero, 48, 72 e 96 horas do grupo intermitente ($p < 0,03$). Não foi observada diferença temporal ao longo do protocolo na variação do volume diastólico final do VD dentro dos grupos ($p = 0,24$).

Avaliação funcional do VD

A fração de ejeção do VD nos dois grupos se manteve dentro da normalidade, durante o protocolo de sobrecarga sistólica de VD, não havendo, portanto, prejuízo da mesma em decorrência da bandagem ajustável do TP. A análise de variância não evidenciou também alteração significativa

deste parâmetro entre os grupos ($p = 0,07$), embora tenha havido, ao longo do protocolo, menores incrementos nos valores de fração de ejeção do VD no grupo contínuo em relação ao grupo Intermitente.

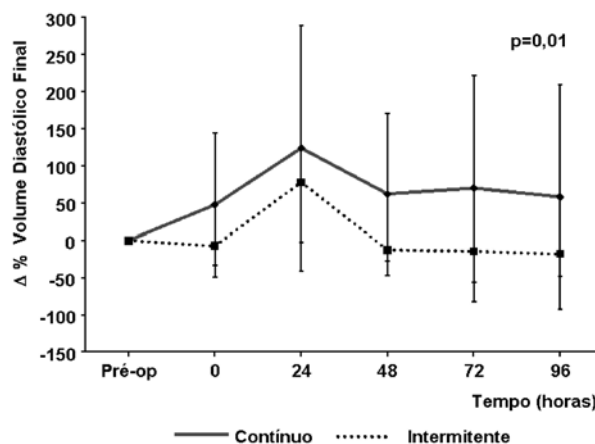


Fig. 4 - Variação do volume diastólico do Ventrículo Direito (VD). Variação porcentual do volume diastólico final do VD dos grupos submetidos à sobrecarga sistólica contínua versus intermitente de VD. ($p = 0,01$)

Perímetro do VD

Na Tabela 2, encontram-se os valores do perímetro do VD, medido na altura dos vasos da base e indexado para a espessura da parede do VD, para ambos os grupos, ao longo do protocolo. A análise de variância deste parâmetro demonstrou uma diferença significativa no aspecto temporal ($p = 0,006$), porém indiferentes entre si ($p = 0,18$). Na análise de comparações múltiplas (pós-teste de Fisher), foi observado um menor perímetro do VD no grupo Intermitente após 96 horas de treinamento, comparado ao primeiro dia de treinamento do contínuo ($p < 0,05$). Quanto à variação porcentual do perímetro do VD em relação às medidas pré-operatórias, apesar do grupo Contínuo apresentar sempre valores positivos deste parâmetro, sem muita alteração nos valores do grupo Intermitente, os valores não se mostraram estatisticamente diferentes entre si ($p = 0,18$).

Pesagem das massas cardíacas

A Tabela 3 mostra os dados de peso das massas cardíacas, indexados para o peso corporal dos animais. A análise de variância de um fator mostrou que existe diferença apenas nos valores de massa do VD ($p = 0,001$) e do Septo ($p = 0,026$). O processo hipertrofico do VD não influenciou a massa muscular do VE ($p = 0,53$). A sobrecarga sistólica determinou aumento da massa do VD de igual magnitude em ambos os grupos em relação ao grupo controle, sendo de 55,6% no grupo Contínuo e 88,9% no grupo Intermitente.

Com relação ao ganho de massa muscular septal, observamos um aumento expressivo de 40% no grupo Intermitente em relação ao grupo Controle ($p=0,03$).

Quando a massa do VD foi indexada pela área de sobrecarga sistólica (Figura 5) dos grupos Contínuo e Intermitente, observou-se um aumento mais expressivo dessa relação no grupo Intermitente. Esses dados demonstram que, para variações de mesma magnitude da sobrecarga sistólica imposta ao VD, o ganho de massa observado no grupo Intermitente foi maior ($p=0,02$).

Tabela 2. Perímetro do VD medido pelo ecocardiograma na altura dos vasos da base (grupos de sobrecarga sistólica contínua x intermitente).

Tempo (horas)	Perímetro do VD (cm)		Valor de p
	Grupo contínuo	Grupo intermitente	
0	5,77±1,48	6,00±0,92	0,14
24	6,86±1,07	6,46±0,83	0,79
48	6,41±1,15	5,46±0,81	0,93
72	5,91±1,32	5,67±0,62*	0,20
96	5,87±1,25*	5,29±0,95*	0,92

Grupo Intermitente= sobrecarga sistólica intermitente do VD; Grupo Contínuo= sobrecarga sistólica contínua do VD; Valores= média em cm ± desvio-padrão; n= 7; Tempo de sobrecarga: horas * = $p<0,05$ quando comparados com Grupo Contínuo no momento zero e com ambos os grupos no instante 24 horas. VD – Ventrículo direito; VE – Ventrículo esquerdo

Tabela 3. Peso das massas musculares dos grupos controle, de sobrecarga sistólica contínua e intermitente.

Massa cardíaca	Peso (g/Kg de peso corpóreo) do VD (cm)			Valor de p
	Controle	Contínuo	Intermitente	
VD	0,9±0,2	1,4±0,3*	1,7±0,5*	0,001
VE	1,6±0,2	1,7±0,3	1,7±0,3	0,529
Septo	1,0±0,2	1,2±0,2	1,4±0,3*	0,026

Comparação significativa entre grupos (* $p<0,05$): VD controle x VD intermitente; VD controle x VD contínuo; Septo controle x septo intermitente; Valores = média ± desvio-padrão; Medidas: g/kg de peso corpóreo; n = 7; Intermitente= grupo de sobrecarga sistólica intermitente do VD; Contínuo= grupo de sobrecarga sistólica contínua do VD; Controle= grupo controle. VD – Ventrículo direito; VE – Ventrículo esquerdo

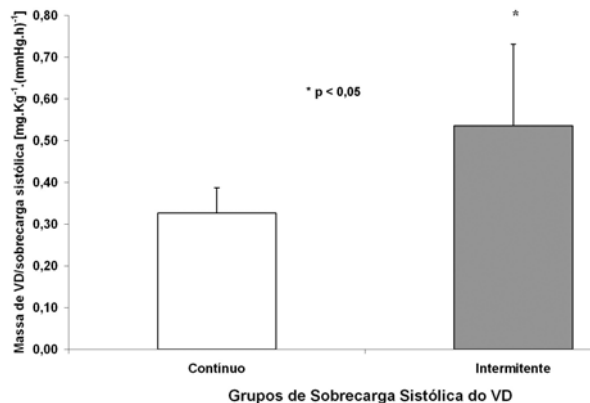


Fig. 5 - Índice de massa do Ventrículo Direito (VD). Massa do VD indexada pela área de sobrecarga sistólica dos grupos contínuo e intermitente. (* $p<0,05$)

Conteúdo de água dos tecidos

Apesar do ganho de peso do VD e do septo nos grupos de estudo, não houve diferença significativa no conteúdo de água do miocárdio do VD entre os grupos submetidos à sobrecarga sistólica do VD e o grupo controle, conforme a ANOVA de um fator (VD, $p=0,10$; Septo, $p=0,45$; e VE, $p=0,88$).

DISCUSSÃO

A bandagem ajustável do TP por via percutânea representa uma extraordinária ferramenta para o manuseio do tipo e da qualidade de sobrecarga sistólica imposta ao miocárdio do ventrículo subpulmonar. A definição da frequência e da quantidade de sobrecarga ideais para desenvolvimento de uma rehipertrofia cardíaca fisiológica não estão ainda estabelecidos.

Este estudo procura analisar e aprimorar este processo de rehipertrofia do ventrículo subpulmonar, buscando no conceito de programas de condicionamento físico da musculatura estriada esquelética de atletas, alternativas para melhorar a qualidade da hipertrofia do miocárdio.

Protocolo de treinamento

Ficou claramente demonstrado neste estudo que, apesar de não haver prejuízo nem diferenças no desempenho do VD nos dois grupos de estudo, decorrente da sobrecarga sistólica imposta pela bandagem ajustável do TP, o programa de treinamento do VD no grupo intermitente foi mais eficiente que o do grupo contínuo em promover o processo hipertrófico do miocárdio. Uma sobrecarga proporcionalmente menor no grupo intermitente determinou uma hipertrofia significativamente maior, observada pela espessura da parede livre do VD ao ecocardiograma e pelo maior aumento da massa septal.

O grupo de Perrino [9], da Universidade de Duke, EUA, analisou o desenvolvimento da hipertrofia do VE em ratos submetidos à bandagem do arco aórtico, de forma contínua e intermitente, comparando-os a dois grupos de ratos submetidos a exercícios físicos de correr e nadar, respectivamente, durante o período de quatro semanas. Tanto os exercícios físicos, quanto a sobrecarga intermitente, foram realizados duas vezes ao dia, durante o período de 90 minutos. Os autores observaram um ganho de peso do VE do grupo intermitente semelhante aos grupos de correr e nadar, em contraste ao grupo submetido à sobrecarga contínua do VE, que apresentou uma resposta hipertrófica mais expressiva. Apesar da maior hipertrofia desenvolvida no grupo contínuo, houve significativa deterioração da função cardíaca após o protocolo de estudo, demonstrada pelo ecocardiograma.

Certamente, o presente estudo poderia evidenciar melhor a tendência de pior desempenho hemodinâmico do grupo contínuo, caso fosse prolongado para um período de tempo maior de quatro semanas, como no estudo de Perrino et al [9].

Parâmetros ecocardiográficos

Os achados ecocardiográficos apontam a aquisição significativa de espessura da parede livre de ambos os ventrículos subpulmonares dos grupos de estudo, corroborando com o aumento do peso das massas de VD. Entretanto, as espessuras septais não se alteraram sob a análise ecocardiográfica, o que diverge com o aumento significativo da pesagem dos septos do grupo intermitente. Talvez, esta divergência possa ser explicada pelo maior teor de proteína e densidade muscular desta parede, ainda sem o proporcional aumento macroscópico visível para o ecocardiograma. Além do mais, uma maior dilatação do VD e uma tendência a maior perímetro de VD observados com ecocardiograma nos animais do grupo contínuo pode representar um custo fisiopatológico maior para o miocárdio submetido ao estresse sistólico continuamente, sem o descanso alternado com a sobrecarga sistólica do grupo intermitente.

Carroll et al. [10] encontraram infiltrado inflamatório intenso no miocárdio de porcos submetidos à bandagem pulmonar após 7 horas de sobrecarga sistólica. Focos de necrose celular em graus variáveis no miocárdio hipertrofiado [11-13], e a conseqüente disfunção ventricular tardia [14] também já foram demonstrados em corações submetidos a estresse sistólico agudo, provavelmente por desequilíbrio entre a relação de oferta e consumo de oxigênio no miocárdio hipertrófico.

A hipertrofia do VE induzida pela hipertensão arterial sistêmica resulta em diminuição da reserva de fluxo coronariano (número de vasos arteriais/unidade de volume) [15]. Já nos estudos da hipertrofia do VD, foi comprovado um remodelamento da árvore coronariana, com aumento do número de vasos e diminuição da resistência ao fluxo intracoronariano [16]. Entretanto, não foi ainda esclarecido

se esta diferença acontece devido à hipertensão imposta às artérias coronárias nos modelos de hipertrofia de VE. Porém, é interessante observar que, nos corações com TGA, o VE está conectado à artéria pulmonar, assim sendo, a bandagem pulmonar não implica em hipertensão do sistema coronariano, fato este não avaliado em estudos experimentais, pela dificuldade de se criar um modelo similar. Pode ser que este detalhe seja importante na compreensão dos fenômenos ocorridos na hipertrofia induzida nestes corações.

Além da possível necrose celular, também ocorre uma mudança no perfil genético dos cardiomiócitos, com alterações protéicas que estão relacionadas à piora da contratilidade miocárdica.

Talvez os períodos de descanso intermitente ao longo do protocolo possam otimizar o fluxo coronariano subendocárdico e, conseqüentemente, maior aporte de substratos para o processo hipertrófico do miocárdio, limitando assim a magnitude do estresse sistólico contínuo imposto ao VD do grupo contínuo.

Pesagem das massas cardíacas

A maior eficiência da sobrecarga sistólica intermitente pode estar relacionada ao disparo do estímulo hipertrófico e da cascata de síntese protéica da mesma forma que no grupo contínuo, porém com menor gasto energético para o miocárdio. Provavelmente, o mecanismo deste processo hipertrófico desencadeado pela cascata molecular pode se desenvolver em boas condições durante os períodos de descanso e transporte de oxigênio ideal, e, por isso, sem o desenvolvimento de fibrose decorrente de isquemia relativa.

Esta hipótese é corroborada pelos estudos de Le Bret et al. [17], que obtiveram a hipertrofia do VD de ovelhas com apenas duas horas de sobrecarga sistólica do VD por dia, durante um período de cinco semanas. A fibrose foi, no entanto, observada nos animais submetidos ao regime de bandagem convencional e naqueles submetidos a apenas dois reajustes da sobrecarga sistólica do VD durante o protocolo de cinco semanas.

Recentemente, vários estudos têm preconizado, como alternativa terapêutica para tratamento da insuficiência cardíaca, o transplante de células tronco no miocárdio, com o objetivo de melhorar o desempenho da função ventricular. O grupo francês de Borenstein [18] relatou, em 2005, o primeiro estudo experimental sobre cardiomioplastia celular em protocolo de treinamento com bandagem do TP, para possível aplicação clínica na operação de Jatene em dois estágios. Entretanto, os autores não observaram benefício hemodinâmico adicional desta estratégia no grupo submetido à bandagem associada ao transplante de células no ventrículo subpulmonar.

Conteúdo de água

Este estudo demonstrou um aumento da massa do VD

de igual magnitude em ambos os grupos em relação ao grupo controle. Foi observado também um ganho de massa muscular septal no grupo Intermitente em relação ao grupo Controle. Provavelmente, este aumento do peso das massas cardíacas referidas foi decorrente de síntese protéica aumentada, pois não houve diferença significativa no conteúdo de água do miocárdio do VD e do septo entre os grupos de estudo e o grupo controle.

Implicações

Este protocolo de 96 horas analisa o desempenho da hipertrofia aguda do VD de cabritos jovens submetidos a dois programas de sobrecarga sistólica, demonstrando a maior eficiência do grupo intermitente. Nos pacientes portadores de TGA após o período neonatal ou naqueles já submetidos à correção no plano atrial (Senning ou Mustard) e ainda nos portadores de transposição corrigida das grandes artérias, que evoluíram com disfunção do ventrículo direito (sistêmico), o ventrículo morfologicamente esquerdo (subpulmonar) necessita retreinamento para suportar a circulação sistêmica após a operação de Jatene. A bandagem convencional do TP para atingir este objetivo é problemática, sendo que alguns pacientes necessitam ser reoperados para alívio da bandagem, pela constrição excessiva da bandagem, levando à disfunção ventricular, ou para reaperto da bandagem em casos de preparo inadequado do ventrículo esquerdo, devido à bandagem “frouxa” do TP. Estas reoperações estão associadas à maior morbimortalidade. A aplicação clínica de um programa intermitente de retreinamento do ventrículo subpulmonar neste universo de doentes poderia reduzir as complicações pós-operatórias entre os dois estágios do tratamento cirúrgico. Não se sabe se a resposta ao estímulo de sobrecarga sistólica intermitente em animais adultos seria similar, pensando-se na aplicação clínica da operação de Jatene em crianças maiores e adolescentes.

Na experiência clínica de Mavroudis e Backer [19], o tempo médio entre a bandagem convencional e a conversão da correção no nível atrial para a operação de Jatene foi de 15,6 meses, em pacientes com 2 a 23 anos de idade. Estes autores demonstraram a disfunção ventricular esquerda ocorrida após a bandagem, comprovada por ecocardiograma transesofágico realizado na sala de operações. Na verdade, a fisiopatologia envolvida neste procedimento é a mesma que ocorre no preparo rápido do VE, uma vez que a bandagem pulmonar ou a pressão sistêmica vão provocar o mesmo estímulo hipertrófico no VE. A disfunção do VE poderá ocorrer ao longo prazo, provavelmente relacionada ao grau de estresse sistólico abrupto imposto a este ventrículo durante seu retreinamento.

Na experiência clínica do grupo de Boston, Boutin et al. [20] associa a disfunção ventricular esquerda tardia a uma

sobrecarga aguda extrema em pacientes submetidos à operação de Jatene após o preparo rápido do VE. Esta disfunção foi inversamente proporcional a uma hipertrofia mais rápida após a bandagem do TP.

Talvez o nosso modelo de sobrecarga sistólica intermitente favoreça uma hipertrofia do ventrículo subpulmonar mais fisiológica, quando comparado à bandagem contínua, onde o estresse sistólico é constante. Com a proposta de um processo mais eficiente, com sobrecarga intermitente naquele universo de doentes, para o tratamento cirúrgico em dois estágios, poderia diminuir o intervalo entre as duas operações e amenizar a morbidade pós-operatória do preparo do ventrículo morfologicamente esquerdo.

Futuros estudos desta linha de pesquisa, utilizando a biologia molecular como ferramenta para analisar marcadores de hipertrofia patológica, poderão comparar diversas formas de treinamento do ventrículo subpulmonar. Uma vez que o estímulo de sobrecarga patológica é geralmente crônico enquanto que aquele de sobrecarga fisiológica é intermitente por natureza, é possível que sobrecargas qualitativamente diferentes estimulem hipertrofias distintas no coração, mesmo se aplicadas durante tempos semelhantes, produzindo respostas fenotípicas diferentes.

Como a hipertrofia fisiológica é caracterizada pela densidade capilar normal ou aumentada, associada a pouca ou nenhuma fibrose do miocárdio, a avaliação morfológica dos mecanismos adaptativos dos elementos contráteis e não contráteis do miocárdio submetido ao processo de hipertrofia aguda poderá também trazer importantes subsídios para o entendimento do ajuste fino no preparo para a operação de Jatene. O objetivo final seria o de minimizar os danos celulares e maximizar a eficiência da bandagem pulmonar, elucidando assim o melhor programa de treinamento do ventrículo subpulmonar.

CONCLUSÕES

A bandagem ajustável do TP permitiu uma rápida hipertrofia do VD de cabritos jovens, em ambos os grupos submetidos a um curto período de sobrecarga sistólica do VD, seja de forma contínua ou intermitente. A sobrecarga sistólica de forma intermitente permitiu um processo hipertrófico mais eficiente do VD do que no grupo submetido a sobrecarga sistólica de forma contínua, considerando-se a maior hipertrofia septal. Apesar da menor sobrecarga sistólica imposta ao VD do grupo Intermitente, a aquisição de massa muscular deste grupo foi superior por unidade de sobrecarga. Não houve diferença no desempenho da função cardíaca entre os grupos submetidos à sobrecarga sistólica intermitente e contínua. O ganho de massa atingido em ambos os grupos, provavelmente, foi devido à síntese protéica aumentada e não ao acúmulo de água nos tecidos cardíacos.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Gustavo José Justo da Silva, pela orientação de análise estatística e pelas importantes sugestões agregadas a este estudo.

REFERÊNCIAS

1. Jonas RA, Giglia TM, Sanders SP, Wernovsky G, Nadal-Ginard B, Mayer JE Jr, et al. Rapid two-stage arterial switch for transposition of the great arteries and intact ventricular septum beyond the neonatal period. *Circulation*. 1989;80(3 pt 1):I203-8.
2. Wernovsky G, Giglia TM, Jonas RA, Mone SM, Colan SD, Wessel DL. Course in the intensive care unit after 'preparatory' pulmonary artery banding and aortopulmonary shunt placement for transposition of the great arteries with low left ventricular pressure. *Circulation*. 1992;86(5 Suppl.):II133-9.
3. Takahashi Y, Nakano S, Shimazaki Y, Kadoba K, Taniguchi K, Sano T, et al. Echocardiographic comparison of postoperative left ventricular contractile state between one and two-stage arterial switch operation for simple transposition of the great arteries. *Circulation*. 1991;84(5 Suppl.):III180-6.
4. Ehsani AA, Hagberg JM, Hickson RC. Rapid changes in left ventricular dimensions and mass in response to physical conditioning and deconditioning. *Am J Cardiol*. 1978;42(1):52-6.
5. Dias CA, Assad RS, Caneo LF, Abduch MCD, Aiello VD, Dias AR, et al. Modelo experimental de bandagem ajustável do tronco pulmonar para preparo rápido do ventrículo. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2000;15(4):328-37.
6. Caneo LF, Dias CA, Assad RS, Abduch MCD, Aiello VD, Moreira LFP, et al. Preparo do ventrículo subpulmonar através de dois diferentes modelos ajustáveis de bandagem do tronco pulmonar: estudo experimental. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2001;16(1):35-48.
7. Pontes SC Jr., Assef JE, Barretto RB, Chacur P, Moreira DA, Nina VJS, et al. Estimation of right ventricular mass by two-dimensional echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18(5):427-34.
8. Fulton RM, Hutchinson EC, Jones AM. Ventricular weight in cardiac hypertrophy. *Br Heart J*. 1952;14(3):413-20.
9. Perrino C, Prasad SV, Mao L, Noma T, Yan Z, Kim HS, et al. Intermittent pressure overload triggers hypertrophy-independent cardiac dysfunction and vascular rarefaction. *J Clin Invest*. 2006;116(6):1547-60.
10. Carroll SM, Nimmo LE, Knoepfler PS, White FC, Bloor CM. Gene expression in a swine model of right ventricular hypertrophy: Intracellular adhesion molecule, vascular endothelial growth factor and plasminogen activators are upregulated during pressure overload. *J Mol Cell Cardiol*. 1995;27(7):1427-41.
11. Bishop SP, Melsen LR. Myocardial necrosis, fibrosis, and DNA synthesis in experimental cardiac hypertrophy induced by sudden pressure overload. *Circ Res*. 1976;39(2):238-45.
12. Siehl DL, Gordon EE, Kira Y, Chua BHL, Morgan HE. Protein degradation in the hypertrophic heart. In: Glaumann H, Ballard FJ, eds. *Lysosomes: their role in protein breakdown*. London:Academic;1987.
13. Zimmer HG, Ibel H, Gerlach E. Significance of the hexose monophosphate shunt in experimentally induced cardiac hypertrophy. *Basic Res Cardiol*. 1980;75(1):207-13.
14. Takahashi Y, Nakano S, Shimazaki Y, Kadoba K, Taniguchi K, Sano T, et al. Echocardiographic comparison of postoperative left ventricular contractile state between one and two-stage arterial switch operation for simple transposition of the great arteries. *Circulation*. 1991;84(5 Suppl.):III180-6.
15. White FC, Nakatani Y, Nimmo L, Bloor CM. Compensatory angiogenesis during progressive right ventricular hypertrophy. *Am J Cardiovasc Pathol*. 1992;4(1):51-68.
16. Kassab GS, Imoto K, White FC, Rider CA, Fung YC, Bloor CM. Coronary arterial tree remodeling in right ventricular hypertrophy. *Am J Physiol*. 1993;265(1 Pt 2):H366-75.
17. Le Bret E, Lupoglazoff JM, Borenstein N, Fromont G, Laborde F, Bachel J, et al. Cardiac "fitness" training: an experimental comparative study of three methods of pulmonary artery banding for ventricular training. *Ann Thorac Surg*. 2005;79(1):198-203.
18. Borenstein N, Jian Z, Fromont G, Bruneval P, Hekmati M, Behr L, et al. Noncultured cell transplantation in an ovine model of right ventricular preparation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;129(5):1119-27.
19. Mavroudis C, Backer CL. Arterial switch after failed atrial baffle procedures for transposition of the great arteries. *Ann Thorac Surg*. 2000;69(3):851-7.
20. Boutin C, Wernovsky G, Sanders SP, Jonas RA, Castaneda AR, Colan SD. Rapid two-stage arterial switch operation. Evaluation of left ventricular systolic mechanics late after an acute pressure overload stimulus in infancy. *Circulation*. 1994;90(3):1294-303.