

LEONARDO AUGUSTO MIANA

**Análise do processo de adaptação ventricular após
bandagem do tronco pulmonar em animais adultos**

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

Área de concentração: Cirurgia Torácica e
Cardiovascular

Orientador: Prof. Dr. Renato Samy Assad

SÃO PAULO

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Miana, Leonardo Augusto

Análise do processo de adaptação ventricular após bandagem do tronco pulmonar em animais adultos / Leonardo Augusto Miana. -- São Paulo, 2009.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cirurgia Torácica e Cardiovascular.

Orientador: Renato Samy Assad.

Descritores: 1.Ventrículos cardíacos 2.Hipertrofia/fisiopatologia 3.Hipertrofia ventricular direita 4.Transposição dos grandes vasos/cirurgia 5.Procedimentos cirúrgicos cardíacos/métodos 6.Arteria pulmonar 7.Cabras

USP/FM/SBD-387/09

“Não existe milagre.

Existe trabalho e progresso.

Felicidade é consequência” .

Isabel Salomão de Campos

Dedicatória

Ao meu pai, Antônio Augusto Miana, exemplo de homem, amigo, médico e cirurgião, que sempre foi meu grande incentivador e responsável por meu amor pelas ciências.

À minha adorada mãe, Maria Lúcia, mulher admirável em tudo o que faz. Sempre soube dizer a palavra certa nos momentos adequados. Inculcou em mim as bases para tornar-me um homem de bem.

À minha amada esposa, Patrícia, fiel companheira. Esteve ao meu lado durante toda a confecção desta tese. Soube tolerar, com carinho e amor, minhas ausências e oscilações de humor provocadas pela árdua tarefa de concretizar este projeto. Transformou o meu sonho em “NOSSO” sonho.

Agradecimento especial

*Ao Prof. Dr. Renato Samy Assad, orientador, parceiro
e amigo. Cumpriu com maestria a tarefa de me
orientar, corrigindo quando necessário e incentivando
todo o tempo. Só o fato de ter conquistado sua
amizade já fez desta trajetória uma vitória.*

Agradecimientos



A Deus. “Inteligência suprema, causa primária de todas as coisas”.

A Jesus Cristo. Médico, mestre e irmão sublime.

A quem recorri em todos os momentos.

À Dona Isabel Salomão de Campos, orientadora maior, que sempre me apontou o caminho do bem na trajetória mais importante de nossas vidas; a da evolução espiritual.

Ao meu irmão Felipe, minha cunhada Érika e meu afilhado Luis Felipe, por estarem sempre ao meu lado, oferecendo o suporte familiar tão importante ao crescimento humano.

Aos meus tios e primos, que sempre torceram por mim e me incentivaram nesta empreitada. Em especial aos tios Ana Lúcia e Eduardo Miana, que transformaram sua casa em meu lar paulistano, amenizando a distância e a saudade.

Aos meus sogros, Delba e Amauri, por me acolherem como filho em sua família, sempre zelosos e carinhosos como verdadeiros pais.

*Aos meus cunhados Léo e Thaysa e meus
sobrinhos Júlia e Amauri, que, mesmo
distantes, souberam manifestar seu carinho.*

*Aos meus amigos, que sempre elevaram meu astral,
ajudando-me a superar os momentos de fraqueza.*

*Aos colegas cirurgiões do Instituto do Coração
de Juiz de Fora, Fred Whitaker, Pedro
Guilherme e Pedro Horácio, que souberam
entender minhas ausências em muitas cirurgias,
em prol da realização desta tese.*

*Aos acadêmicos de Medicina, Ananda Rigo
Nogueira, Fernanda Santos Oliveira e
Guilherme Sevá Gomes, que foram
fundamentais na elaboração deste trabalho.
Compartilhar a dura rotina dos experimentos
nos tornou grandes amigos e este foi um dos
grandes presentes que ganhei desta
experiência de vida.*

*Ao Dr. Gustavo José Justo da Silva, exímio
pesquisador, que muito me ensinou e
colaborou com a análise estatística.*

À Dra. Maria Cristina Donadio Abduch, cientista irretocável. Dedicada e amável com os humanos e com os animais. Sempre se mostrou disposta a colaborar, não só na realização dos exames ecocardiográficos, mas em várias outras tarefas da pesquisa.

Aos anestesiistas veterinários da equipe da Dra. Aline Magalhães Ambrósio, em especial à Dra. Bruna Lopes de Queiroz Telles e à Dra. Maria Teresa Souto, que, competentes e alegres, foram fundamentais no ajuste do laborioso ato anestésico dos animais, além de terem sido amigas verdadeiras nos momentos de hesitação.

À equipe da divisão de Fisiologia Aplicada do Instituto do Coração, em especial ao técnico de laboratório Richard Barbosa da Silva e a todos os funcionários do biotério, pelo carinho para com os animais e pelo apoio essencial nesta caminhada.

À Neusa Rodrigues Dini, Juliana Lattari Sobrinho e Eva Malheiros Guiss de Oliveira, pelo exemplo de eficiência, boa vontade e carinho com todos os pós-graduandos que a elas recorrem.

Ao colega Petrônio Generoso Thomaz, pelo auxílio nas cirurgias e pela cumplicidade nas agruras do Doutorado.

Ao colega Anderson Benício, pelas valiosas dicas durante nossas intermináveis manhãs na sala do computador.

À Dra. Vera Demarchi Aiello e a todos os funcionários da Anatomia Patológica do Instituto do Coração, que, com muita simpatia e benevolência, contribuíram no processamento e análise dos dados histológicos.

Ao Prof. Dr. Luiz Felipe Pinho Moreira, que cordialmente muito me ensinou sobre pesquisa científica nestes anos todos de caminhada na pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Miguel Lorenzo Barbero-Marcial, ao Prof. Dr. Marcelo Biscegli Jatene, ao Dr. Arlindo de Almeida Riso e à Dra. Carla Tanamati, pelos preciosos ensinamentos no campo da Cirurgia Cardíaca Pediátrica, que muito contribuíram nesta pesquisa.

*Aos Professores Sérgio Almeida de Oliveira,
Noedir Stolf, Pablo Pomerantzeff, Fábio
Jatene, Luís Alberto Dallan e Altamiro Dias
pela minha formação em Cirurgia
Cardiovascular no Incor-HC-FMUSP.*

*À Rosane Assad e seus filhos, Roberta e
Rodolfo, que sempre me receberam de braços
abertos em sua casa, mesmo sabendo que isto
lhes custaria a ausência do marido e pai, que
estava empenhado em me orientar.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do
Estado de São Paulo por acreditar neste
projeto e tornar possível esta tese.*

*À Silimed, especialmente à Ana Cristina
Soares e ao André Esteves, pela parceria
imprescindível na melhoria e ajuste do
dispositivo para uso nesta pesquisa.*

*Ao CNPq, pela bolsa de estudos
concedida e por acreditar neste projeto.*

SUMÁRIO

	PAG.
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. ASPECTOS DA LITERATURA.....	5
2.1. Preparo ventricular.....	6
2.2. Preparo ventricular no indivíduo jovem x adulto.....	9
2.3. Sobrecarga sistólica fixa x intermitente.....	10
2.4. Histórico da bandagem pulmonar ajustável.....	12
3. OBJETIVOS.....	16
4. MÉTODOS.....	18
4.1. Avaliação pré-operatória.....	20
4.2. Anestesia.....	20
4.3. Procedimento cirúrgico.....	22
4.3.1. Toracotomia e colocação dos cateteres.....	22
4.3.2. Bandagem do tronco pulmonar.....	22
4.3.3. Descrição do dispositivo de bandagem ajustável.....	24
4.3.4. Síntese e recuperação.....	27
4.4. Protocolo de sobrecarga sistólica do VD e leitura das pressões.....	28
4.4.1. Grupo Fixo.....	28
4.4.2. Grupo Intermitente.....	29
4.4.3. Grupo Sham.....	30
4.5. Estudo ecocardiográfico.....	31
4.6. Estudo morfológico.....	32

4.6.1. Pesagem das massas cardíacas.....	32
4.6.2. Conteúdo de água dos tecidos.....	33
4.6.3. Análise histológica.....	34
4.6.3.1. Diâmetro dos cardiomiócitos e núcleos.....	35
4.6.3.2. Porcentagem da área de colágeno.....	35
4.6.4. Análise imuno-histoquímica da proliferação celular.....	36
4.7. Análise estatística.....	39
5. RESULTADOS.....	40
5.1. Medidas hemodinâmicas.....	42
5.1.1. Gradiente de pressão VD/TP.....	42
5.1.2. Razão de pressão VD/Ao.....	45
5.2. Achados ecocardiográficos.....	48
5.2.1. Espessura da parede livre do VD.....	48
5.2.2. Espessura do septo interventricular (SIV).....	50
5.2.3. Espessura da parede posterior do VE.....	51
5.3. Achados morfológicos.....	53
5.3.1. Pesagem das massas cardíacas.....	53
5.3.2. Conteúdo de água dos tecidos.....	54
5.4. Achados histológicos.....	55
5.4.1. Diâmetro de cardiomiócitos.....	55
5.4.2. Diâmetro dos núcleos nos cardiomiócitos.....	57
5.4.3. Porcentagem da área de colágeno.....	58
5.4.4. Proliferação celular no interstício e vasos.....	60
5.4.5. Proliferação celular dos cardiomiócitos.....	61
6. DISCUSSÃO.....	62
6.1. Protocolo de treinamento.....	64

6.2. Parâmetros hemodinâmicos.....	65
6.3. Parâmetros ecocardiográficos.....	67
6.4. Parâmetros morfológicos.....	68
6.5. Implicações clínicas.....	71
6.6. Limitações do Estudo.....	72
7. CONCLUSÕES.....	74
8. ANEXOS.....	76
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

Lista de Abreviaturas e Siglas

Ao	Aorta
ANOVA	Análise de variância
BSA	Soro albumina bovina
BTP	Bandagem do tronco pulmonar
CA	Conteúdo de água
CIV	Comunicação interventricular
COFIPA	Comissão de fiscalização de pesquisa animal
DP	Desvio padrão
EP	Estenose Pulmonar
FM	Faculdade de Medicina
g	Gramas
h	Horas
HC	Hospital das Clínicas
IM	Intramuscular
Incor	Instituto do Coração
IV	Intravenoso
kg	Kilograma
ml	Mililitros
PBS	Tampão salina-fosfato
Pré-Op	Pré-operatório
Ps	Peso seco
Sem	Semana
SIV	Septo interventricular

TCGA	Transposição corrigida das grandes artérias
TGA	Transposição das grandes artérias
TP	Tronco pulmonar
USP	Universidade de São Paulo
VD	Ventrículo direito
VD/Ao	Razão de pressões entre o ventrículo direito e a aorta
VD/TP	Gradiente entre o ventrículo direito e o tronco pulmonar
VE	Ventrículo esquerdo
°C	Graus Celsius
µm	Micrômetros

Lista de Tabelas

	Pág.
Tabela 1. Peso dos animais no momento da eutanásia.....	20
Tabela 2. Espessura da parede livre do ventrículo direito (VD) nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medida pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.....	49
Tabela 3. Espessuras do Septo interventricular (SIV) nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medidas pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.....	50
Tabela 4. Espessuras da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medidas pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.....	52
Tabela 5. Peso das massas cardíacas de VD, SIV e VE normalizadas pelo peso dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	53
Tabela 6. Conteúdo de Água do VD, SIV e VE dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	55
Tabela 7. Diâmetros dos cardiomiócitos do VD, SIV e VE dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	56
Tabela 8. Diâmetros dos núcleos dos cardiomiócitos no VD, VE e SIV dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	57
Tabela 9. Porcentagem de área de colágeno no VD, SIV e VD dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	59
Tabela 10. Proliferação celular de cardiomiócitos no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	60
Tabela 11. Proliferação celular no interstício e vasos do ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	61

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Dispositivo de bandagem pulmonar ajustável implantado no tronco pulmonar e cateteres implantados no ventrículo direito (VD) e tronco pulmonar (TP).....	24
Figura 2. Dispositivo de bandagem ajustável do TP produzido pela <i>SILIMED (Rio de Janeiro, RJ)</i> para uso em animais adultos. Painel A: Dispositivo desinsuflado; Painel B: Dispositivo insuflado com 2 m.....	26
Figura 3. Gráfico temporal do protocolo do grupo Fixo.....	28
Figura 4. Gráfico temporal do protocolo do grupo Intermitente.....	30
Figura 5. Gráfico temporal do protocolo do grupo Sham.....	31
Figura 6. Comparativo da evolução semanal do gradiente VD/TP de pico nos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	43
Figura 7. Área de sobrecarga pressórica imposta pela bandagem nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, durante o período do protocolo; Painel A: Ilustração gráfica; Painel B: Comparação entre as áreas sob as curvas.....	44
Figura 8. Comparação temporal da relação VD/Ao máxima nos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	46
Figura 9. Razão de pressões VD/Ao ao longo do protocolo, nos grupos Sham, Fixo e Intermitente; Painel A: Ilustração gráfica; Painel B: Comparação entre as áreas sob as curvas.....	47
Figura 10. Variação percentual da espessura (delta) da parede livre do ventrículo direito (VD), medidas pelo ecocardiograma, nos grupos Sham, Fixo e Intermitente ao longo das quatro semanas de estudo.....	49
Figura 11. Variação percentual de espessura (delta) do SIV nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medida pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.....	51
Figura 12. Variação percentual de espessura (delta) da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medida pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.....	52

Figura 13. Pesos do VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) normalizados pelo peso corporal (g/kg) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	54
Figura 14. Conteúdo de água do VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	55
Figura 15. Diâmetros dos cardiomiócitos no VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	56
Figura 16. Diâmetros dos núcleos dos cardiomiócitos no VD (painel A), SIV (painel B) e no VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	58
Figura 17. Porcentagem de área de colágeno no VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	59
Figura 18. Proliferação celular de cardiomiócitos no VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	60
Figura 19. Proliferação celular no interstício e vasos no VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.....	61

RESUMO

MIANA LA. Análise do processo de adaptação ventricular após bandagem do tronco pulmonar em animais adultos [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.

Pacientes portadores de transposição das grandes artérias submetidos previamente à correção cirúrgica no plano atrial ou transposição corrigida das grandes artérias frequentemente evoluem com disfunção do ventrículo direito morfológico. Para estes casos, tem sido proposta a correção anatômica, chamada cirurgia de “*Double Switch*” ou dupla inversão, invariavelmente realizada na adolescência ou na idade adulta. Com isso, grande parte destes pacientes necessita preparar o ventrículo esquerdo, através da bandagem do tronco pulmonar. Várias são as dificuldades no preparo do miocárdio adulto e resultados desapontadores são relatados nestes indivíduos. O objetivo deste trabalho foi promover e analisar o processo de adaptação do ventrículo direito em modelo animal adulto, comparando o método de bandagem fixa, utilizado tradicionalmente na prática clínica, com um novo método de bandagem intermitente, por um período de quatro semanas. Foram utilizadas 18 cabras adultas, divididas em três grupos: Sham (n = 6, peso = 26,42 ± 2,63 Kg, bandagem frouxa, sem sobrecarga sistólica), Fixo (n = 6, peso = 26,33 ± 2,32 kg, bandagem convencional com sobrecarga sistólica contínua do ventrículo direito), Intermitente (n = 6, peso = 25,17 ± 2,48 kg, bandagem com dispositivo ajustável e 12 horas diárias de sobrecarga sistólica do ventrículo direito). No grupo Fixo, os animais foram submetidos à bandagem do tronco pulmonar

com fita umbilical, tentando alcançar uma relação pressórica entre ventrículo direito e aorta de 0,7 no momento da cirurgia. Nos animais do grupo Intermitente, a sobrecarga sistólica foi promovida por um dispositivo ajustável calibrado percutaneamente. A mesma relação pressórica foi almejada diariamente através da insuflação do dispositivo por 12 horas, alternada com 12 horas de desinsuflação do dispositivo. Aferições hemodinâmicas foram feitas três vezes por semana no grupo Intermitente e duas vezes por semana nos grupos Fixo e Sham. Exames ecocardiográficos foram realizados semanalmente em todos os animais. Após quatro semanas, os animais foram submetidos à eutanásia para avaliação das massas musculares, do conteúdo de água do miocárdio e estudo histológico. A área de sobrecarga pressórica, medida através do gradiente entre o ventrículo direito e o tronco pulmonar ao longo do estudo, foi maior no grupo Fixo ($p < 0,001$). O estudo ecocardiográfico demonstrou aumento de até 37,2% na espessura da parede livre do ventrículo direito ao longo do protocolo no grupo Intermitente, o que foi significativamente maior que a variação na espessura dos grupos Sham e Fixo ($p < 0,05$). Em relação ao peso do ventrículo direito normalizado para o peso do animal, os grupos Intermitente ($1,24 \text{ g/Kg} \pm 0,16 \text{ g/Kg}$) e Fixo ($1,08 \text{ g/Kg} \pm 0,17 \text{ g/Kg}$) apresentaram aumento da massa de 55,7% e 36,7% ($p < 0,05$), respectivamente, em comparação ao grupo Sham ($0,79 \text{ g/Kg} \pm 0,15 \text{ g/Kg}$). O conteúdo de água não variou entre os grupos estudados. As medidas dos diâmetros dos cardiomiócitos do ventrículo direito do grupo Intermitente apresentaram um incremento de 19,2% ($p = 0,036$), em relação às medidas do grupo Sham. Paralelamente, houve aumento de 22,8% no diâmetro dos núcleos dos cardiomiócitos no ventrículo direito do grupo Intermitente, em comparação com o grupo Sham ($p = 0,049$). Os animais do grupo Fixo exibiram um

incremento de 98,0% na porcentagem de área de colágeno no VD, quando comparado ao grupo Sham ($p < 0,01$), e de 69,2% em relação ao grupo Intermitente ($p < 0,05$). A análise de proliferação celular não evidenciou diferença entre os grupos. Este estudo ratifica a necessidade de se buscar uma melhor forma de preparo dos miocárdios maduros, uma vez que o método tradicional de bandagem do tronco pulmonar promoveu maior área de sobrecarga pressórica, sem, no entanto, gerar hipertrofia significativa, além de apresentar maior teor de colágeno no miocárdio. Por outro lado, o método alternativo de preparo intermitente foi capaz de promover hipertrofia miocárdica com menor sobrecarga sistólica do ventrículo direito. Com isso, supõe-se que, com vistas à cirurgia de “*Double Switch*”, a bandagem intermitente parece ser uma alternativa promissora para promover o preparo ventricular de forma mais eficiente e menos lesiva que o método de bandagem fixa, nos pacientes adolescentes e adultos portadores de transposição das grandes artérias ou de transposição corrigida das grandes artérias com falência ventricular direita.

Descritores: 1. Ventriculos cardíacos; 2. Hipertrofia / fisiopatologia; 3. Hipertrofia ventricular direita; 4. Transposição dos Grandes Vasos / cirurgia; 5. Procedimentos cirúrgicos cardíacos / métodos; 6. Artéria Pulmonar; 7. Cabras

SUMMARY

MIANA LA. Study of right ventricle's adaptation process following pulmonary artery banding in adult animals [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2009.

One of the late complications of patients with simple or congenitally corrected transposition of the great arteries includes right (systemic) ventricular failure. The policy of anatomic repair ("double switch operation") has often been proposed for adolescents and adults. However, a period of reconditioning the left ventricle through pulmonary artery banding is often required. Although it appears to be capable of providing adequate left ventricular training when done at an early age, it is not always suitable for mature myocardium, with disappointing results in older patients. This study sought to assess two different methods of promoting right ventricle's hypertrophy in adult animals for a four-week period, by means of fixed and intermittent adjustable pulmonary artery banding system. Eighteen healthy adult goats were distributed into three groups: Sham (n = 6, weight = 26.42 kg \pm 2.63 kg, loose pulmonary artery banding, no systolic pressure overload), Fixed (n = 6, weight = 26.33 kg \pm 2.32 kg, continuous systolic overload with fixed pulmonary artery band) and Intermittent (n = 6, weight = 25.17 kg \pm 2.48 kg, daily 12-hour systolic overload with adjustable pulmonary artery band). Sham group animals received a loose pulmonary band, while in the Fixed group, an umbilical tape was used to band the pulmonary trunk, adjusted during the implantation to achieve a 0.7 right ventricle / aorta pressure ratio. In the Intermittent group, an adjustable pulmonary artery banding device was

implanted on the pulmonary trunk and adjusted according to the volume injected percutaneously. The banding system was inflated daily until the 0.7 pressure ratio was achieved. Systolic overload was maintained for 12 hours, alternated with a 12-hour resting period. All animals were submitted to echocardiographic studies on a weekly basis, while hemodynamic evaluations were performed three times a week in the Intermittent group and twice a week in the Fixed and Sham groups. After four weeks, all animals were humanely killed for ventricular masses and water content assessment and histological evaluation. Intermittent group was submitted to a significant smaller systolic overload area, measured by right ventricle / pulmonary artery pressure gradient over time, as compared to Fixed group ($p < 0.001$), and both of them showed a greater systolic overload area when compared to the Sham group ($p < 0.001$). Echocardiographic findings revealed an increase in the right ventricle wall thickness, up to 37.2%, in the Intermittent group during the protocol, and this increase was significantly greater than in Sham and Fixed groups ($p < 0.05$). Regarding the right ventricular mass, both Intermittent ($1.24 \text{ g/kg} \pm 0.16 \text{ g/kg}$) and Fixed ($1.08 \text{ g/Kg} \pm 0.17 \text{ g/kg}$) groups showed a 55.7% and 36.7% increase respectively ($p < 0.05$) compared to Sham group ($0.79 \text{ g/Kg} \pm 0.15 \text{ g/kg}$). No differences in left ventricular and interventricular septum masses were observed among the three groups. Likewise, water content was not significantly different between groups. Intermittent group showed a 19.2% increase in right ventricle myocardial fiber diameter and a 22.8% increase in myocardial fiber nuclei diameter, compared to Sham group ($p < 0.05$). Fixed group showed a 98% increase in right ventricle's collagen percentage area, when compared to Sham group ($p < 0.01$), and a 69.2% increase compared to Intermittent group ($p < 0.05$). There was no significant cellular proliferation in any groups. This study shows the urgency in seeking

for an alternative method of promoting hypertrophy in mature myocardium, since traditional pulmonary artery banding caused increase in collagen area without significant hypertrophy and experimental adjustable intermittent pulmonary artery banding promoted hypertrophy with less systolic overload without increasing collagen area. In conclusion, it suggests that a more effective and less harmful hypertrophy can be achieved with intermittent pulmonary artery banding, as compared to the fixed method, to prepare the left ventricle for the double switch operation in adolescent and adult patients with simple and congenitally corrected transposition of great arteries with failed systemic right ventricle.

Descriptors: 1. Heart ventricles; 2. Hypertrophy / Physiopathology; 3. Right ventricular hypertrophy; 4. Transposition of the Great Vessels / surgery; 5. Cardiac surgical procedures; 6. Pulmonary Artery; 7. Goats.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A disfunção tardia do ventrículo direito (VD) sistêmico em pacientes portadores de Transposição das Grandes Artérias (TGA) operados no plano atrial ou naqueles com Transposição Corrigida das Grandes Artérias (TCGA) é uma complicação freqüente.¹⁻⁴ Desde o final dos anos 80, diversos autores vêm reportando resultados satisfatórios realizando uma operação que visa a correção anatômica destas afecções, através da inversão arterial (cirurgia de Jatene),⁵ associada à inversão atrial.⁶⁻⁹ Esta operação foi consagrada com o nome de “*Double Switch*”, isto é, a cirurgia de dupla inversão. Esta abordagem visa impedir a evolução natural da falência do VD sistêmico, e, conseqüentemente, evitar a adoção de medidas mais drásticas nestes pacientes, como o transplante cardíaco, pois resgata funcionalmente o ventrículo esquerdo (VE) morfológico para a circulação sistêmica, aliviando a sobrecarga pressórica sobre o VD, com melhora significativa de sua função.

Para a realização do “*Double Switch*”, é mister que o VE, que está conectado à circulação pulmonar, encontre-se hipertrofiado o suficiente para suportar a circulação sistêmica. Para isto, é preciso que haja uma hipertensão arterial pulmonar reversível, estenose pulmonar (EP) ou uma

comunicação interventricular (CIV) irrestrita, situações que permitam a manutenção da relação volume / massa adequada para suportar a resistência sistêmica.^{10, 11} Nos demais casos, faz-se necessário o preparo do VE, através de bandagem do tronco pulmonar (BTP), visando promover o preparo deste ventrículo, readaptando-o para trabalhar como bomba pressórica.^{6, 12, 13}

Entretanto, o preparo ventricular através da BTP nestes pacientes apresenta resultados insatisfatórios,^{8, 13-16} principalmente quando realizado na adolescência. Os principais problemas relacionam-se com o longo tempo necessário para obtenção do preparo, desenvolvimento de disfunção ventricular precoce e tardia, impossibilidade de preparo em pacientes maiores e necessidade de re-intervenções para ajuste da bandagem. Alguns autores vêm relatando estratégias alternativas ao preparo tradicional, inclusive em estudos clínicos, predominantemente através da realização de bandagens ajustáveis do tronco pulmonar,⁸ ou ainda promovendo sobrecargas pressóricas intermitentes, mimetizando o treinamento muscular esquelético de atletas.^{17, 18}

Algumas questões ainda persistem: conseguir-se-á obter hipertrofia ventricular direita em animais adultos, no período de quatro semanas? O processo de adaptação ventricular nos animais adultos seria fisiológico ou patológico? Haverá diferenças entre o estímulo de sobrecarga sistólica fixa e o intermitente?

Neste contexto, acredita-se que o presente estudo, além de esclarecer alguns questionamentos científicos, poderia consolidar os

conhecimentos do processo de adaptação ventricular em modelo animal adulto, no sentido de se obter um preparo adequado para o tratamento cirúrgico, com preservação da função ventricular.

Aspectos da literatura

2. ASPECTOS DA LITERATURA

2.1. Preparo ventricular

Até meados dos anos 70, os pacientes portadores de TGA eram submetidos exclusivamente à palição cirúrgica pelas técnicas de inversão atrial. Quando Jatene et al. descreveram a correção anatômica desta malformação,⁵ ela se aplicava apenas a crianças maiores portadoras de CIV associada, uma vez que a cirurgia em neonatos não era realizada. Em 1977, dois anos após, Yacoub et al.¹⁹ relataram um caso no qual foi realizada BTP, associada à anastomose sistêmico-pulmonar, para preparo do VE em paciente com TGA e septo íntegro. Esta técnica possibilitou a ampliação das indicações de correção anatômica nestes pacientes. No entanto, o longo tempo de acompanhamento necessário, somado ao elevado índice de complicações e mortalidade do preparo ventricular, foram fatores limitantes para sua consagração.^{20, 21} Em 1987, Ilbawi et al.²² compararam três protocolos de hipertrofia ventricular e identificaram que, quanto maior a sobrecarga pressórica, maior o prejuízo para a função ventricular, sugerindo

um protocolo de preparo ventricular menos agressivo, o que foi corroborado anos mais tarde em estudo de preparo ventricular em indivíduos adultos.²³

Em 1989, Jonas et al.²⁴ descreveram o conceito de preparo rápido do VE, no qual a correção anatômica era realizada, em média, oito dias após o primeiro estágio. Este recurso trouxe mais praticidade e melhora dos resultados imediatos.^{25, 26} Paralelamente a isto, foram publicados vários estudos mostrando os benefícios em longo prazo da correção anatômica,²⁷⁻²⁹ fazendo com que o conceito de preparo ventricular ganhasse força, em detrimento da correção no plano atrial.

Em 1994, Boutin et al.³⁰ avaliaram a aquisição de massa muscular durante o preparo ventricular e sua correlação com a função ventricular esquerda, tendo identificado que o pico de disfunção ventricular ocorre nas primeiras 12 horas pós-bandagem. Este inconveniente foi compensado após a obtenção de hipertrofia ventricular, o que ocorreu com 48 horas de evolução. Estes resultados puderam ser ratificados, em estudos experimentais, no Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.^{17, 31-33}

Pesquisadores japoneses avaliaram a função ventricular tardia em pacientes submetidos à cirurgia de Jatene com ou sem preparo do VE e concluíram haver disfunção tardia nos pacientes com preparo prévio,³⁴ quando comparados com aqueles que não necessitaram de tal procedimento.

Diante do alto índice de disfunção ventricular direita tardia nos pacientes portadores de TCGA e naqueles submetidos previamente à

correção a nível atrial,³⁵⁻⁴³ Roger Mee propôs a realização de preparo do VE com vistas ao recrutamento deste para a circulação sistêmica, através da BTP e posterior correção anatômica, através da cirurgia de “*Double Switch*”.⁶ Este preparo se faz indicado em 25% a 45% destes pacientes,^{8, 9, 14} contudo, a BTP constitui um desafio clínico-cirúrgico nesta situação, pois ocorre grande variabilidade no tempo do preparo, além da necessidade de reajuste da bandagem em torno de 30% dos casos,^{8, 9, 13, 14} o que limita a aplicação desta técnica em vários centros.

Mais recentemente, Benzaquen et al.²³ identificaram alguns casos de disfunção ventricular aguda do VE em indivíduos adultos submetidos à BTP para preparo ventricular, no qual foi objetivada uma relação pressórica VD / VE maior que 0,65. Os autores sugeriram, então, bandagens menos agressivas, deixando esta relação em aproximadamente 0,5, mesmo que isto exija um tempo mais prolongado de preparo.

Em 2008, Quinn et al.⁴⁴ avaliaram os resultados a médio prazo dos pacientes submetidos à cirurgia de “*Double Switch*” para correção de TCGA, comparando os pacientes que necessitaram preparo do VE e os que não necessitaram deste procedimento previamente. Os autores concluíram que o preparo do VE foi considerado fator de risco independente para disfunção ventricular e morte ou necessidade de transplante cardíaco em médio prazo.

2.2. Preparo ventricular no indivíduo jovem x adulto

O preparo ventricular em um indivíduo adulto consiste em tarefa ainda mais árdua que no jovem. As dificuldades inerentes ao procedimento - como a imprecisão do ajuste da bandagem, a necessidade de re-intervenções,^{13, 14} grande variabilidade no tempo necessário e risco de falência ventricular precoce e tardia^{23, 34, 44} são mais evidentes nesta população de pacientes.

O miocárdio jovem mantém a capacidade de hiperplasia e neoangiogênese,^{45, 46} enquanto o mesmo não ocorre com o miocárdio maduro.^{8, 18} Este fato pode explicar, em parte, a diferença na resposta ao estímulo hipertrófico entre eles. O tempo médio para o preparo do VE no indivíduo jovem é de alguns dias,^{24, 26, 30} porém, no indivíduo adulto, este período pode variar de poucos meses a alguns anos.^{6, 7, 14, 47}

Em 2005, Winlaw et al.¹³ avaliaram os resultados da BTP no preparo do VE em pacientes portadores de TCGA ou TGA submetidos à correção no plano atrial, tendo relatado um índice de falência em torno de 45%, com 30% dos pacientes necessitando de re-operações para ajuste da bandagem. Foi identificada pelos autores a idade de 16 anos como limite para obtenção do preparo ventricular. Acima desta idade, os resultados da BTP foram catastróficos.

Outras séries já haviam relatado a dificuldade para preparar o ventrículo de indivíduos maiores. Mavroudis e Backer¹⁴ identificaram grande área de fibrose na parede posterior do VE em paciente de 17 anos

submetido previamente à BTP para preparo desta câmara. O grupo de Michigan também reportou sérias dificuldades no preparo do VE em indivíduos acima de 12 anos de idade.⁸

2.3. Sobrecarga sistólica fixa X intermitente

Tem sido demonstrando que os pacientes portadores de TGA e TCGA, submetidos ao preparo do VE, tendem a apresentar mais disfunção ventricular a médio e longo prazo, quando comparados com pacientes que não necessitaram deste procedimento para submeterem-se à correção anatômica.^{23, 34, 44} Diante disto, várias linhas de pesquisa perseguem a forma ideal de preparo ventricular, objetivando o ganho de massa sem comprometimento da função.

Como o treinamento atlético promove uma hipertrofia ventricular fisiológica, sem disfunção miocárdica,⁴⁸ procurou-se transpor para o preparo ventricular alguns princípios já adotados para os atletas. Dentre eles, períodos de treinamento intenso, intercalados com períodos de descanso, o que permite ao músculo realizar a reposição de seus estoques intracelulares, adaptando-se gradativamente à nova condição pressórica.

Há uma óbvia limitação nos estudos experimentais, uma vez que o ventrículo subpulmonar, nestes casos, é o VD, diferentemente dos pacientes portadores de TGA e TCGA, quando o ventrículo a ser preparado pela BTP é o VE. Uma alternativa experimental é realizar a bandagem da aorta, como

utilizado para estudos em Hipertensão Arterial Sistêmica, entretanto, neste caso, promove-se uma sobrecarga nas artérias coronárias, o que também difere do cenário clínico e limita a extrapolação dos resultados.^{49, 50}

Pesquisadores franceses, estudando ovelhas adultas, demonstraram que a hipertrofia provocada por dois períodos diários de uma hora de sobrecarga sistólica, durante cinco semanas, através de um dispositivo de BTP ajustável, mimetizando o efeito do treinamento atlético, foi menos lesiva ao miocárdio destes animais que a bandagem fixa.¹⁸

Em 2006, um estudo conduzido na Universidade de Duke avaliou o processo hipertrófico do VE de camundongos, comparando a hipertrofia induzida por exercícios atléticos, como corrida e natação, com aquela induzida por bandagem aórtica fixa e intermitente por um período de quatro semanas. Estes autores demonstraram, através da avaliação ecocardiográfica e hemodinâmica, que a bandagem intermitente proporcionou uma hipertrofia mais fisiológica que a bandagem fixa, similar aos animais submetidos a treinamento atlético.⁵⁰

Em nosso meio, Assad et al.¹⁷ estudando cabritos jovens, compararam o estímulo hipertrófico contínuo e intermitente por quatro dias, usando dispositivo de BTP ajustável, e perceberam que, apesar da menor sobrecarga pressórica ofertada ao grupo intermitente, a hipertrofia ventricular obtida foi de magnitude semelhante, com melhor desempenho ventricular neste grupo.

2.4. Histórico da bandagem pulmonar ajustável

A primeira técnica para restringir o fluxo pulmonar foi descrita por Muller e Danimann,⁵¹ em 1952, através da excisão parcial da luz do TP. Pouco depois, vários autores propuseram variantes técnicas,⁵² principalmente através de BTP com fita ao redor do vaso,⁵³ o que facilitou tecnicamente o procedimento.

Naquela época, a ajustabilidade do grau de constrição do tronco pulmonar já era perseguida pelos cientistas. Jacobson et al.⁵⁴ desenvolveram, em 1957, um dispositivo de borracha composto de um reservatório e um manguito, visando promover bandagem da aorta e da artéria pulmonar de cães para desenvolver insuficiência cardíaca. Contudo, a ocorrência de solidificação do contraste injetado em seu interior inviabilizou o projeto. Doze anos depois, Bishop e Cole⁵⁵ aprimoraram este dispositivo com o mesmo objetivo e esbarraram em problemas de vazamento e constrição ineficaz dos vasos. Em 1967, Shane et al.⁵⁶ desenvolveram um dispositivo metálico de “bola e sela” para promover uma BTP ajustável, objetivando transpor os percalços da BTP fixa, já sentidos naquele tempo.⁵⁷
⁵⁸ Apesar de sua eficácia, o dispositivo foi abandonado devido à atrofia da camada média do vaso observada após três meses de uso.⁵⁹ Em 1968, Simpson et al.⁶⁰ propuseram a introdução de um cateter balão endovascular no TP para promover o controle do fluxo pulmonar, que também falhou devido à migração do cateter, ora para o VD, ora para os ramos pulmonares. Em 1972, Edmunds et al.⁵⁹ descreveram o uso de um dispositivo de BTP

ajustável siliconizado, composto de botão de insuflação e manguito circular distensível, porém, o protótipo apresentou inúmeras falhas como vazamentos, distensão assimétrica e rotura do balão, o que limitou seu desenvolvimento. Em meados dos anos 80, para solucionar estes inconvenientes, Park et al.⁶¹ descreveram um manguito hidráulico acoplado a um botão auto-selante que dispunha de uma válvula unidirecional, o que minimizava os problemas de vazamento, todavia impedia a reversibilidade da bandagem. Ainda nesta época, dois grupos isolados descreveram técnicas semelhantes de BTP ajustável através de torniquetes,^{62, 63} sendo que ambos testaram seus dispositivos em humanos com sucesso. Entretanto, não se encontra relato na literatura de continuidade do uso da técnica. Na segunda metade da década de 80, Solis et al.⁶⁴ desenvolveram dispositivo hidráulico de silicone com reforço da parede externa do manguito, o que evitava as distensões centrífugas. Apesar do caráter experimental do estudo, este autor sugeriu, pela primeira vez, os benefícios da ajustabilidade para o preparo do ventrículo subpulmonar.

No Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (Incor - HC - FMUSP), vem sendo desenvolvida, há mais de 15 anos, uma linha de pesquisa envolvendo o estudo da adaptação ventricular induzida por BTP ajustável. Em 1998, Assad et al.^{65, 66} demonstraram a presença de hipertrofia induzida por cateter balão na artéria pulmonar de cabritos jovens com seis a dez dias de estresse sistólico progressivo. No final da década de 90, Dias et al.^{31, 32} estudaram o desempenho de um dispositivo hidráulico de bandagem ajustável do tronco

pulmonar, promovendo a equalização das massas musculares ventriculares em cabritos jovens durante um período de 96 horas de sobrecarga sistólica contínua e progressiva. Posteriormente, Caneo et al.⁶⁷ compararam a hipertrofia rápida do VD por dois métodos: um endovascular, induzido pelo cateter balão, e outro extravascular, através de um dispositivo hidráulico de BTP ajustável, mostrando que ambos foram capazes de promover hipertrofia de igual magnitude nas 96 horas de sobrecarga sistólica do VD. No mesmo ano, Rabello et al.⁶⁸ analisaram a atividade da enzima conversora da angiotensina como um dos principais marcadores da síntese protéica do miocárdio submetido à sobrecarga sistólica ajustável por cateter balão. Os autores demonstraram um aumento expressivo da atividade daquela enzima no próprio músculo cardíaco do VD submetido à sobrecarga sistólica. Em 2006, Assad et al.¹⁷ compararam o estresse sistólico contínuo versus o estresse intermitente, em animais e tempo semelhantes ao dos estudos anteriores, revelando nítido benefício do último sobre o protocolo de sobrecarga sistólica contínua. Em 2007, Abduch et al.⁴⁵ estudaram a histopatologia deste mesmo grupo de animais, revelando achados histológicos similares nos dois grupos, apesar do menor estresse sistólico no grupo intermitente. Subsequentemente, Valente et al.³³ avaliaram o ganho hipertrófico diário destes animais, demonstrando haver hipertrofia ventricular com apenas 48 horas de estresse sistólico intermitente. A miniaturização do protótipo proposto por Assad et al. possibilitou sua primeira aplicação clínica no tratamento cirúrgico da síndrome de hipoplasia de câmaras esquerdas.^{45,69}

Ainda hoje, persistem os estudos experimentais em busca de aprimoramento técnico dos dispositivos e da sua melhor forma de aplicação. Leeuwenburgh et al.⁷⁰ estudaram experimentalmente o comportamento crônico de seu dispositivo percutâneo de ajuste da BTP, enquanto outros autores utilizaram-se de bandagens ajustáveis usadas em cirurgia de bandagem gástrica para uso no coração e relataram relativo sucesso.^{71, 72}

Em 2002, uma inovação tecnológica foi introduzida por Corno et al.⁷³ Trata-se de um dispositivo controlado por telemetria, o que torna o método mais prático para o uso clínico, porém traz consigo o inconveniente do custo elevado e a impossibilidade de uso em pacientes acima de 20 kg⁷⁴. Após estudos de segurança e efetividade em longo prazo,⁷⁵ o dispositivo batizado como Flo-Watch-R-PAB[®] (EndoArt S.A., Lausanne, Switzerland) tem sido utilizado com excelentes resultados.^{74, 76, 77}

Em 2003, Devaney et al.⁸ descreveram o uso de BTP ajustável, com auxílio de dispositivo hidráulico siliconizado e botão de insuflação implantado no subcutâneo, em alguns pacientes submetidos a preparo do VE e portadores de TCGA e TGA com correção a nível atrial prévia.

No entanto, não existe até hoje um dispositivo ajustável para uso clínico em pacientes adultos e nem uma padronização da melhor forma de se obter preparo ventricular nestes indivíduos.

Objetivos

3. OBJETIVOS

- 3.1. Analisar e comparar o processo de adaptação ventricular em animais adultos, através de medidas hemodinâmicas e ecocardiográficas, durante quatro semanas de sobrecarga sistólica.
- 3.2. Identificar as diferenças morfológicas envolvidas nos dois protocolos de sobrecarga sistólica do VD, comparadas ao grupo Sham, quanto ao peso e conteúdo de água das massas ventriculares.
- 3.3. Avaliar, após o período de quatro semanas, as alterações histológicas ventriculares provocadas pela sobrecarga sistólica.

Métodos



4. MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HC – FMUSP (protocolo 621/05) e foi realizado na Divisão de Fisiologia Aplicada do Incor - HC - FMUSP, de acordo com as normas de uso de animais em ensino e pesquisa da COFIPA (Comissão de Fiscalização de Pesquisa Animal).

Foram utilizadas 18 cabras adultas, divididas em três grupos: grupo Sham (n = 6, peso = 26,42 kg \pm 2,63 kg, bandagem frouxa, sem sobrecarga do ventrículo direito), grupo Fixo (n = 6, peso = 26,33 kg \pm 2,32 kg, BTP com sobrecarga sistólica contínua do VD) e grupo Intermitente (n = 6, peso = 25,17 kg \pm 2,48 kg, BTP com dispositivo ajustável e 12 horas / dia de sobrecarga sistólica intermitente do VD). O peso dos animais não diferiu entre os grupos, conforme mostrado na tabela 1.

Tabela 1. Peso dos animais no momento da eutanásia.

	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6	Valor de <i>p</i>
Peso	26,42 ± 2,63	26,33 ± 2,32	25,17 ± 2,48	0,63

Valores (kg) = média ± desvio padrão

4.1. Avaliação pré-operatória

Na entrada ao biotério, os animais foram pesados e examinados por veterinário para afastar doenças preexistentes. Foi realizada avaliação ecocardiográfica basal para certificação da inexistência de alterações anatômicas ou morfológicas prévias ao procedimento.

4.2. Anestesia

Os animais permaneceram 36 horas em jejum de alimentos sólidos e 12 horas em jejum de líquidos antes da cirurgia. Ainda no biotério, foi realizada a tricotomia cervical e torácica à esquerda. Foi administrada medicação pré-anestésica com Xilazina 2%, na dose de 0,1 mg/kg, intramuscular (IM). A veia cervical esquerda foi puncionada com cateter venoso *Introcath* 16G (BD, Juiz de Fora, MG) para infusão de medicações e soro fisiológico. A indução anestésica foi obtida com propofol 1% (7 mg/kg)

intravenoso (IV) para intubação orotraqueal. Os animais foram mantidos em ventilação mecânica com aparelho de anestesia microprocessado Takaoka Fuji Maximus (Takaoka, São Paulo, SP), com fração inspirada de oxigênio de 60 - 100%, volume corrente de 10 ml/kg, mantendo capnometria entre 35 - 45 mmHg. A anestesia foi mantida de forma inalatória com Isoflurano (1 a 2%). As cabras foram posicionadas em decúbito lateral direito, monitorizadas com eletrocardiograma contínuo (ECG) e linha de pressão arterial invasiva contínua, medida através de cateterismo da artéria auricular esquerda com cateter *Introcath* 22G (BD, Juiz de Fora, MG). As cabras, então, foram preparadas para procedimento estéril, realizando-se antissepsia com iodopovidona (solução degermante e tópica) e colocação de campos estéreis. Todos os animais receberam antibioticoprofilaxia 30 minutos antes da incisão, que consistia de cefazolina (30 mg/kg), gentamicina (4mg/kg) e Penicilina Benzatina (500.000 UI) por via IM. Após duas semanas, repetia-se a dose de Penicilina Benzatina. Também foi administrada heparina sódica na dose de 5.000 UI, por via subcutânea, diariamente até o final do protocolo. A analgesia pós-operatória foi obtida nos três primeiros dias com a administração de Cloridrato de Tramadol (2 mg/kg, IM).

4.3. Procedimento cirúrgico

4.3.1. Toracotomia e colocação dos cateteres

Foi realizada toracotomia lateral esquerda no quarto espaço intercostal. O pulmão foi afastado para abordagem da aorta torácica descendente (Ao) e implante de cateter arterial *Intracath* 17G (BD, Juiz de Fora, MG), previamente heparinizado. A seguir, o saco pericárdico foi amplamente aberto para exposição da via de saída do VD e do Tronco Pulmonar (TP). Foram implantados mais dois cateteres heparinizados no VD e TP, conforme descrito previamente.¹⁷ Os cateteres foram fixados com suturas em bolsa de prolene 5-0 e exteriorizados através da parede torácica, onde também foram fixados à pele com fio de mononylon 4-0. Os cateteres foram conectados ao monitor multiparamétrico Biomonitor 7 (BESE, Belo Horizonte, MG) e testados quanto à permeabilidade e curvas de pressão.

4.3.2. Bandagem do tronco pulmonar (BTP)

O TP foi dissecado para implante da bandagem do tronco pulmonar. Procurou-se evitar dissecções extensas, limitando o descolamento ao mínimo necessário para o implante dos dispositivos ou fitas de bandagem, conforme descrito anteriormente.^{17, 32} Nos animais do grupo Fixo, a BTP foi realizada com fita cardíaca de algodão (Polysuture, São Sebastião do

Paraíso, MG), posicionada cerca de 10 mm acima do plano valvar. Após o devido ajuste, a fita foi fixada à adventícia do TP. Nos animais dos grupos Intermitente e Sham, o dispositivo de bandagem ajustável foi posicionado imediatamente acima da valva pulmonar e também fixado à adventícia do TP, para prevenir sua migração (Figura 1). Nos grupos de sobrecarga, as bandagens foram ajustadas para se obter uma pressão sistólica no VD em torno de 70% da pressão sistólica sistêmica. Para conseguir obter esta relação no intra-operatório, foi necessário atingir plena adequação volêmica e evitar manipulação excessiva das estruturas cardíacas, pois estes animais possuíam limiar baixo para arritmias atriais e ventriculares. A pressão sistólica sistêmica foi mantida em torno de 100 mmHg através do ajuste de anestésicos inalatórios e/ou do uso de Efedrina venosa em infusão contínua, quando necessário. Como dito, no grupo Fixo foi mantida a bandagem ajustada, desde o momento da cirurgia até o final do protocolo, fazendo-se necessária uma melhor adaptação intra-operatória do animal ao novo regime de sobrecarga aguda. No grupo Sham, não foi apertada a bandagem em algum momento.

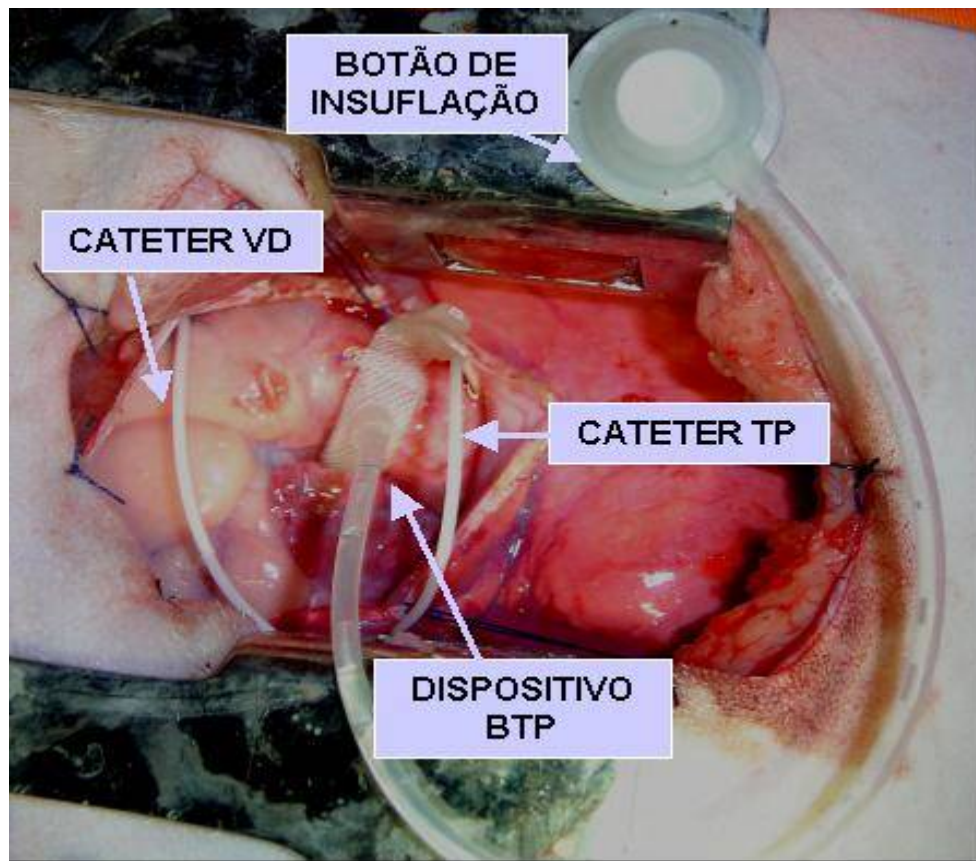


Figura 1. Dispositivo de bandagem pulmonar ajustável implantado no tronco pulmonar e cateteres implantados no ventrículo direito (VD) e tronco pulmonar (TP).

4.3.3. Descrição do dispositivo de bandagem ajustável

O dispositivo de bandagem ajustável utilizado neste estudo representa o desenvolvimento e aprimoramento de mais de 15 anos desta linha de pesquisa, com a colaboração da SILIMED, Silicone e Instrumental Médico-Cirúrgico e Hospitalar Ltda. (Rio de Janeiro, RJ), projetado para o

uso clínico em adultos. Até o início deste trabalho, toda a elaboração do dispositivo havia sido baseada no uso em animais jovens.^{17, 31-33, 45, 65-69} Por isso, inicialmente foi tentada a utilização do mesmo protótipo em tamanhos maiores para os animais adultos. No entanto, a maior pressão exercida sobre a bandagem nestes animais não permitiu gerar gradientes adequados ao desenho do estudo, por falhas do dispositivo. Juntamente com o departamento de bioengenharia da SILIMED, durante os 12 primeiros meses da pesquisa foi desenvolvido um dispositivo mais adequado ao perfil dos pacientes adultos, com maior espessura, resistência e maior tolerância às pressões impostas sobre ele, além do prolongado tempo do estudo. O protótipo final de bandagem ajustável para adultos está demonstrado na Figura 2. O dispositivo é constituído por três partes: anel de bandagem, tubo extensor e botão de insuflação. O anel de bandagem é um manguito hidráulico em forma de U, cuja parede externa é constituída por dois milímetros de silicone rígido, o que impede sua distensão centrífuga. Apresenta diâmetro interno de 15,5 mm, diâmetro externo de 24,5 mm e largura de seis milímetros. Um reforço de poliéster, de aproximadamente 0,8 mm de espessura, com furos ao longo do seu comprimento, foi planejado na camada externa da bandagem, para sutura na adventícia da artéria. A superfície interna apresenta uma camada distensível de silicone com espessura entre 0,6 e 0,8 mm, cuja expansão comprime a luz do TP, conforme a quantidade de líquido injetada no botão de insuflação. Para se evitar a distensão lateral desta superfície interna, foi planejado um reforço adicional, entre a membrana e a cinta de fechamento, com a mesma

espessura (0,8 mm), que envolve lateralmente a membrana. Nas duas extremidades do manguito, existem abas previstas para ajuste do perímetro do dispositivo no TP. O tubo extensor, também de silicone, comunica hermeticamente o anel de bandagem com o botão de insuflação, com a finalidade de conduzir o líquido injetado de um compartimento para o outro. Apresenta diâmetro interno de dois milímetros e comprimento de 25 cm. O botão de insuflação é um reservatório circular feito em silicone auto-selante, cuja base apresenta uma placa rígida. O reservatório apresenta uma saída, que é conectada ao tubo extensor. Este botão é implantado no subcutâneo, permitindo assim o ajuste fino do diâmetro do anel de bandagem por via percutânea.

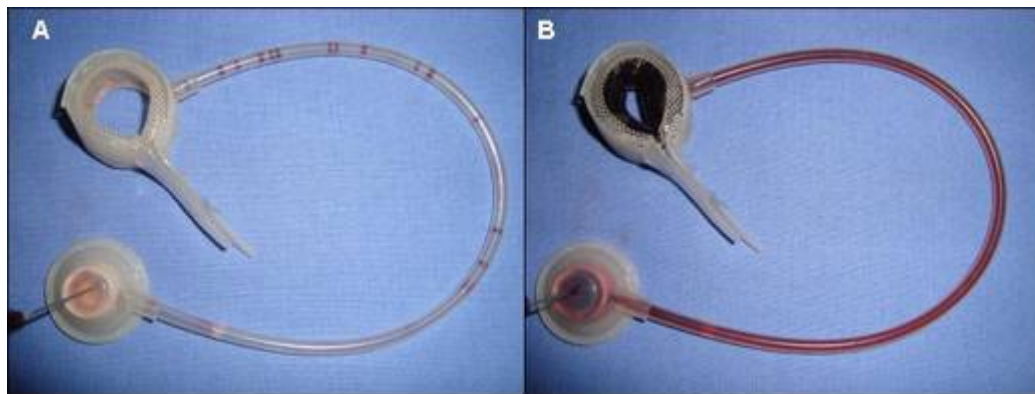


Figura 2. Dispositivo de bandagem ajustável do TP produzido pela *SILIMED* (Rio de Janeiro, RJ) para uso em animais adultos. Painel A: Dispositivo desinsuflado; Painel B: Dispositivo insuflado com 2 ml.

4.3.4. Síntese e recuperação

Após o implante da BTP, a cavidade pleural esquerda foi drenada em selo d'água. Nos animais dos grupos Sham e Intermitente, o botão de insuflação foi implantado e fixado no plano subcutâneo, próximo à coluna vertebral do animal. As costelas e as partes moles foram aproximadas por planos. Após a síntese, os cateteres foram novamente testados e mantidos cheios com heparina. Foi realizado curativo especial com compressas, atadura de crepom e esparadrapo impermeável para proteger a incisão e os cateteres durante o pós-operatório.

Após recuperação anestésica completa, com respiração espontânea satisfatória, os animais foram extubados e encaminhados ao biotério em maca especial (InCor - FMUSP) para quadrúpedes, onde foram mantidos em observação por aproximadamente seis horas. O dreno de tórax foi então removido após constatação de drenagem mínima, ausência de fístula bronco-pleural e boa expansibilidade pulmonar. Posteriormente, os animais foram acomodados em suas respectivas baias.

4.4. Protocolo de sobrecarga sistólica do VD e leitura das pressões

4.4.1. Grupo Fixo

O treinamento do VD foi iniciado na cirurgia de implante da bandagem, conforme mencionado. Os animais permaneceram em sobrecarga sistólica contínua do VD por um período de quatro semanas, com bandagem fixa, ajustada no momento da cirurgia, tentando-se obter uma relação pressórica sistólica de 0,7 entre o VD e a Ao. Com o animal consciente e imobilizado em maca especial, foram anotadas as pressões de VD, TP e Ao duas vezes por semana (Figura 3), já que as pressões mantiveram-se relativamente constantes ao longo do período de treinamento, conforme constatado em estudo piloto. O gradiente pressórico entre VD e TP e a relação de pressões entre o VD e a Ao foram obtidos pela medida de suas respectivas pressões sistólicas.

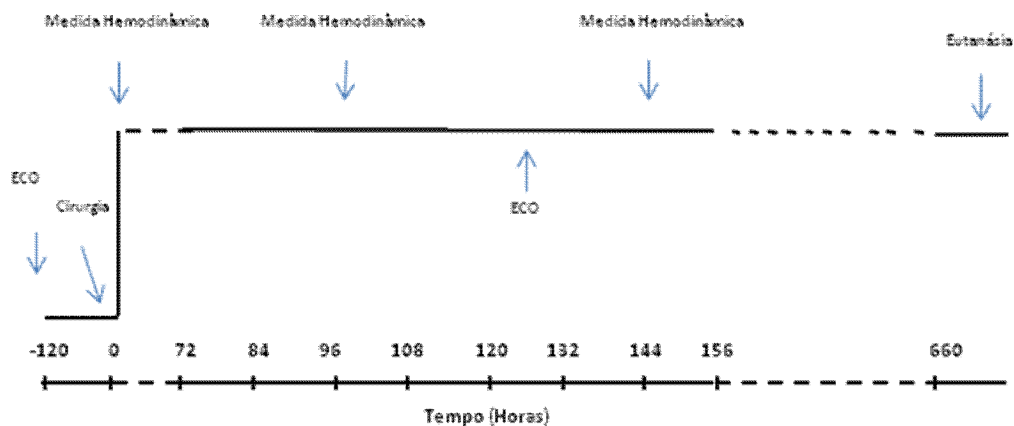
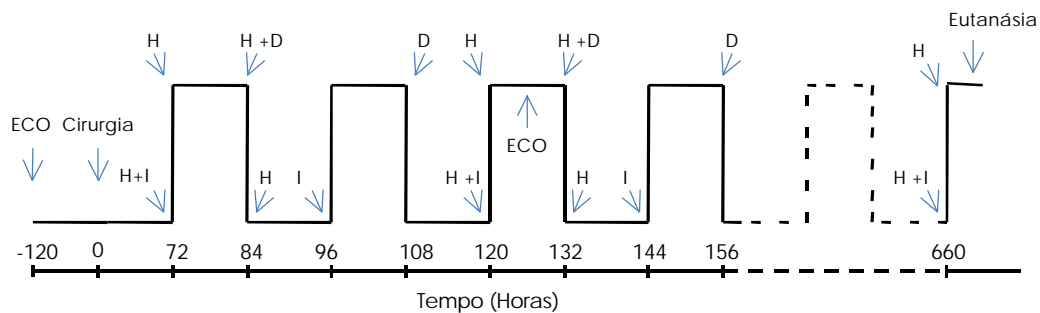


Figura 3. Gráfico temporal do protocolo do grupo Fixo.

4.4.2 Grupo Intermitente

O treinamento do VD foi iniciado após recuperação plena da cirurgia (aproximadamente 70 horas de convalescença). Como no grupo Fixo, as pressões basais de VD, TP e Ao foram anotadas com o animal consciente, imobilizado em maca especial e com o dispositivo completamente desinsuflado. Após a leitura das pressões basais, o dispositivo de bandagem ajustável foi insuflado, utilizando soro fisiológico 0,9% em seringa de três ml com agulha Surecan 20G (BBraun, Melsungen, Alemanha), observando-se as curvas de pressões do VD e Ao, de modo a atingir uma pressão sistólica de VD de aproximadamente 70% da pressão sistólica sistêmica, desde que não provocasse queda superior a 10% da última, conforme descrito em estudos prévios.^{17, 32, 62} As pressões finais foram então aferidas e anotadas. A seguir, o animal retornava ao biotério e a sobrecarga sistólica do VD foi mantida por um período de 12 horas. Passado este período, o animal foi novamente colocado na maca especial para monitorização hemodinâmica. Após nova leitura de pressões, o dispositivo foi desinsuflado e, mais uma vez, as pressões foram aferidas. O procedimento de insuflar e desinsuflar o dispositivo foi realizado duas vezes ao dia, todos os dias do protocolo, sendo que as pressões foram aferidas duas vezes ao dia, três dias por semana. Nos demais dias, o volume injetado correspondeu ao mesmo volume calculado no último dia de medidas hemodinâmicas (Figura 4).



ECO= estudo ecocardiográfico; H+I= Medidas Hemodinâmicas seguidas de Insuflação do dispositivo; H= Medidas Hemodinâmicas; H+D= Medidas Hemodinâmicas seguidas de Desinsuflação do dispositivo; I=Insuflação do dispositivo; D= Desinsuflação do dispositivo.

Figura 4. Gráfico temporal do protocolo do grupo Intermitente.

Nas situações em que o animal apresentou sinais clínicos de hipóxia importante, como agitação, dificuldade respiratória ou arritmias, o volume do dispositivo foi reduzido para o maior valor previamente tolerado pelo animal.

4.4.3. Grupo Sham

As medidas hemodinâmicas foram realizadas duas vezes por semana, durante as quatro semanas do estudo, assim como no grupo Fixo (Figura 5).

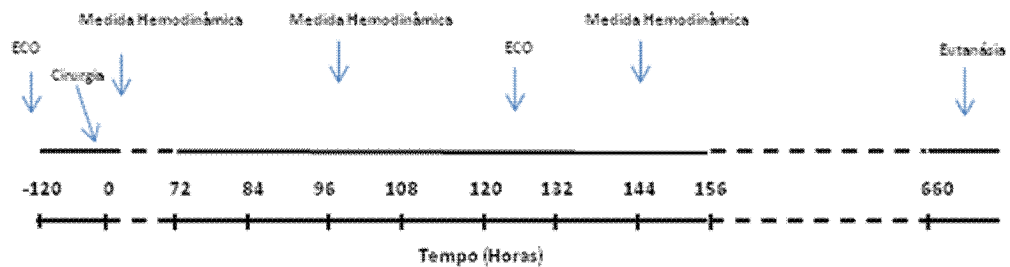


Figura 5. Gráfico temporal do protocolo do grupo Sham.

4.5. Estudo ecocardiográfico

Todos os animais foram submetidos à avaliação ecocardiográfica pelo mesmo observador, que foi cegado para o grupo dos animais, previamente ao início do protocolo, assim como semanalmente no pós-operatório, para avaliar o processo de adaptação do VD de ambos os grupos estimulados, durante as quatro semanas de sobrecarga sistólica.

Para a realização dos exames, as cabras foram tricotomizadas no hemitórax direito, sedadas com Quetamina (10 mg/kg, IM) e mantidas em decúbito lateral esquerdo durante os exames. Utilizou-se aparelho de ecocardiograma ACUSON Cypress (Siemens, Munique, Alemanha) e transdutor setorial multifrequencial (2,4 MHz) para a obtenção das imagens. Todos os animais foram avaliados antes do procedimento cirúrgico com a finalidade de aferir as espessuras basais da parede livre do VD, do septo interventricular (SIV) e parede posterior do VE e para afastar anormalidades cardíacas.

As espessuras do SIV e da parede posterior do VE foram mensuradas no ecocardiograma bidimensional, no final da diástole, através do corte paraesternal longitudinal na altura das cúspides da valva mitral.⁷⁸

A espessura da parede livre do VD foi obtida no corte paraesternal eixo curto (na altura dos vasos da base e no nível dos músculos papilares) e no corte longitudinal quatro câmaras, na região onde seus limites fossem mais facilmente visibilizados. A seguir, obteve-se a média aritmética desses valores.

4.6. Estudo morfológico

4.6.1. Pesagem das massas cardíacas

Após o encerramento do protocolo de cada animal, foi realizada a eutanásia para ressecção do coração. Antes da indução anestésica, o animal foi pesado. Após a anestesia, conduzida como descrito anteriormente para realização do primeiro procedimento, foi procedida toracotomia esquerda na incisão prévia e foram realizadas medidas das pressões de VD, TP e Ao. Foi, então, realizada lise das aderências, isolamento das veias cavas superior e inferior e dissecação das grandes artérias. Após aprofundamento do plano anestésico, foram administrados heparina (5 mg/kg, IV) e cloreto de potássio 19,1% (20 ml, IV) para se obter a parada cardíaca. O coração foi então removido do tórax e a gordura epicárdica

cuidadosamente ressecada. Os grandes vasos e os átrios, juntamente com as valvas cardíacas, foram removidos. Os ventrículos e o SIV foram separados de acordo com a técnica de Fulton et al.⁷⁹ As paredes livres do VD e VE foram separadas do SIV, através de incisão paralela ao trajeto das artérias interventriculares anterior e posterior, nos lados direito e esquerdo do SIV, respectivamente. A seguir, o VD, VE e o SIV foram pesados em balança digital METTLER AE-200 (Mettler-Toledo AG, Greifensee, Suíça). Devido à variação de peso dos animais, as medidas foram normalizadas pelo respectivo peso corporal de cada animal no dia da eutanásia, conforme sugestão de Bishop e Cole.⁵⁵ Os pesos normalizados foram expressos em g/kg.

4.6.2. Conteúdo de água dos tecidos

Depois de realizada a pesagem total das massas, 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, a seguir, as amostras foram acondicionadas em papel alumínio e devidamente identificadas, 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 percentual do conteúdo de água foi então obtido através da seguinte fórmula, assumindo que a distribuição de água foi homogênea no septo e nos ventrículos:

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

O conteúdo de água das massas musculares cardíacas dos grupos Fixo e Intermitente foi comparado ao do grupo Sham, com o fim de se esclarecer se o ganho de peso do VD dos grupos de estudo estaria associado a edema miocárdico ou a aquisição real de massa muscular.

4.6.3 Análise Histológica

Após a eutanásia e o processo descrito acima de separação, pesagem e coleta de fragmentos para secagem, as peças de VD, VE e SIV foram fixadas em formalina a 10% por 48 horas. Foram obtidas secções transversais de ambos os ventrículos e do SIV no nível da massa miocárdica. Após processamento histológico de rotina, cortes de 5 micrômetros (μm) de espessura (obtidos com micrótomo Leica RM 2145) foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE) e Picro-Sirius vermelho (PS). Os cortes também foram submetidos à reação de imunohistoquímica para detecção de células marcadas para Ki-67 (ver descrição abaixo).

4.6.3.1 Diâmetro dos cardiomiócitos e núcleos

Através da coloração HE, os cortes foram observados em microscópio ótico. O sistema de análise de imagens Quantimet-Leica (Leica Cambridge Ltda, Cambridge, Inglaterra) foi utilizado para medir o diâmetro médio das fibras miocárdicas medido ao nível do núcleo. Os núcleos foram medidos nos mesmos campos.⁸⁰

Para cada parede miocárdica (VD, VE e SIV), foram medidos os diâmetros de 60 células e de seus respectivos núcleos, sob objetiva de 40X, conforme sugerido por Abduch et al.⁴⁵. As medidas foram tomadas na altura dos núcleos, no maior eixo transversal das células. Os campos foram analisados sequencialmente, sendo que as células deveriam ter os limites bem definidos para que fossem avaliadas. Para cada parede ventricular foi determinada uma média de diâmetro de cardiomiócitos e uma de núcleos.

4.6.3.2. Porcentagem da área de colágeno

Através da coloração PS vermelho, os cortes foram observados em microscópio ótico. O sistema de análise de imagens Quantimet-Leica (Leica Cambridge Ltda, Cambridge, Inglaterra) foi utilizado para quantificar a porcentagem de área de colágeno no tecido cardíaco.⁸⁰ Este método cora o colágeno em vermelho e as fibras musculares em amarelo-pálido. Quantificou-se o colágeno através da cor, por meio da marcação prévia de

uma região sabidamente preenchida, de forma que o programa reconhecesse automaticamente todas as estruturas coradas no mesmo tom (vermelho). Ajustes manuais fortuitos foram necessários a fim de adicionar ou remover áreas não marcadas ou reconhecidas incorretamente pelo sistema. Com lente objetiva de 20X, vinte campos foram analisados e os resultados expressos como média da porcentagem de área ocupada por colágeno. Regiões ocupadas por vasos com calibre acima de 50 μm e a presença de artefatos histológicos foram evitados.

4.6.4. Análise imuno-histoquímica da proliferação celular

A análise quantitativa da distribuição das células positivas para Ki-67 (antígeno marcador de proliferação celular) foi realizada através de cortes fixados em formalina e embebidos em parafina. Cortes histológicos de cinco μm de espessura foram submetidos a reações de imuno-histoquímica de acordo com protocolo do sistema Streptavidina conjugada com peroxidase.⁸¹ Como controle positivo da reação, utilizou-se corte histológico de esôfago de um dos animais, obtendo-se células marcadas nas porções basais do epitélio. Este controle é feito com um segmento de órgão em que as células apresentam alta capacidade de proliferação (como epitélio, por exemplo), com a finalidade de comprovar se a prova imuno-histoquímica aplicada é eficiente para o indivíduo estudado.

Lâminas contendo cortes de tecido foram desparafinadas em três banhos de xilol, hidratadas e submetidas à técnica de recuperação de antígenos com a finalidade de expor os epitopos teciduais para as reações imuno-histoquímicas.

O marcador de proliferação celular utilizado foi o anticorpo primário Ki-67 produzido em camundongo, clone MIB- 1, código IM0505 (DAKO, Grostrup, Dinamarca). Conforme estabelecido em estudo anterior, este marcador foi utilizado com êxito em tecidos de caprinos.^{45, 82, 83}

Para recuperação antigênica, as lâminas foram imersas em citrato de sódio e aquecidas em panela de pressão por 15 segundos. Depois de feita a recuperação de antígenos, as lâminas foram lavadas em dois banhos de PBS (tampão salina fosfato 1M pH 7,4) e realizou-se o bloqueio da peroxidase endógena pelo tratamento com peróxido de hidrogênio 130 volumes a 3% em PBS. As lâminas foram então colocadas numa câmara úmida e submetidas a soro fetal bovino por uma hora em estufa a 37°C. A seguir foram secas e expostas ao anticorpo primário.

O anticorpo primário foi diluído em PBS, na titulação de 1/400.

Após a aplicação do anticorpo primário, as lâminas foram deixadas em câmara úmida a 4°C na geladeira durante a noite. Após 18 a 20 horas de incubação, foram então lavadas em três banhos de PBS pH 7,4 e incubadas em câmara úmida com anticorpo secundário diluído em PBS por uma hora em estufa a 37°C. Foi utilizado anticorpo secundário anti-camundongo IgG biotinilado, produzido em coelho, código E0354 (DAKO), na diluição de

1/200 em PBS, para marcação dos núcleos de miocardiócitos e células do interstício e vasos em proliferação.

Seguiu-se passagem em três banhos de PBS e incubação com estreptoavidina (Streptavidin/ HRP, código PO397, DAKO) conjugada com peroxidase na diluição 1/100 em PBS por uma hora em estufa a 37°C.

As lâminas foram novamente lavadas em três banhos de PBS, seguindo-se a revelação da reação, quando se usou 3,0 tetracloridrato de diaminobenzidina (DAB, código K3466, DAKO) – (0,04%), por cinco minutos em banho-maria a 37°C.

Após passagem em água corrente, os cortes foram contracorados com hematoxilina de Harris para evidenciar os núcleos. A seguir foram desidratados em banhos sucessivos de água corrente, álcool a 70%, álcool a 95%, álcool a 100%, xilol e cobertos com lamínula usando-se resina sintética.

Os cardiomiócitos e as células do interstício e dos vasos marcados com o anticorpo (coloração castanho-dourada) foram quantificados microscopicamente pelo número médio de células por campo com aumento de 40x. Avaliaram-se 12 campos por lâmina, o que correspondeu a aproximadamente 1000 cardiomiócitos e 1500 células de interstício e vasos. As células marcadas foram identificadas, contadas e diferenciadas em cardiomiócitos ou células do interstício e vasos. Para cada parede ventricular foi obtida a média de células de cardiomiócitos e de interstício e vasos marcadas, considerados os 12 campos analisados.

4.7. Análise estatística

A normalidade da distribuição de cada variável foi avaliada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. As médias de variáveis como espessuras da parede livre do VD, da parede posterior do VE e SIV (medidos pelo exame de ecocardiograma), razão VD/Ao e gradiente de pressão VD/TP foram comparadas entre os grupos e ao longo do protocolo por meio de Análise de Variância (ANOVA) de dois fatores para medidas repetidas, seguida das comparações múltiplas de Bonferroni. Já os valores de massa, conteúdo de água, diâmetros de cardiomiócitos e núcleos e porcentagem de área de colágeno foram comparados por meio de ANOVA de um fator, seguido das comparações múltiplas de Bonferroni. A análise de proliferação celular, devido à raridade de eventos, foi analisada por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de comparações múltiplas de Dunns. A sobrecarga sistólica imposta ao VD, dos grupos Sham, Fixo e Intermitente, foi avaliada através do cálculo das áreas sob as curvas (método trapezoidal). A comparação das áreas sob as curvas foi realizada por meio de ANOVA de um fator, seguido das comparações múltiplas de Bonferroni. Os valores foram apresentados na forma de média \pm desvio padrão (DP), a não ser na análise de proliferação celular, que foi expressa em mediana com limites inferiores e superiores. Para todos os casos, o nível de significância utilizado foi de 5%. As análises estatísticas foram realizadas através dos softwares utilizando o programa GraphPad Prism v.4 (San Diego, CA - EUA) e SigmaStat v.3.11.0 (Systat Software, Inc.).

Resultados

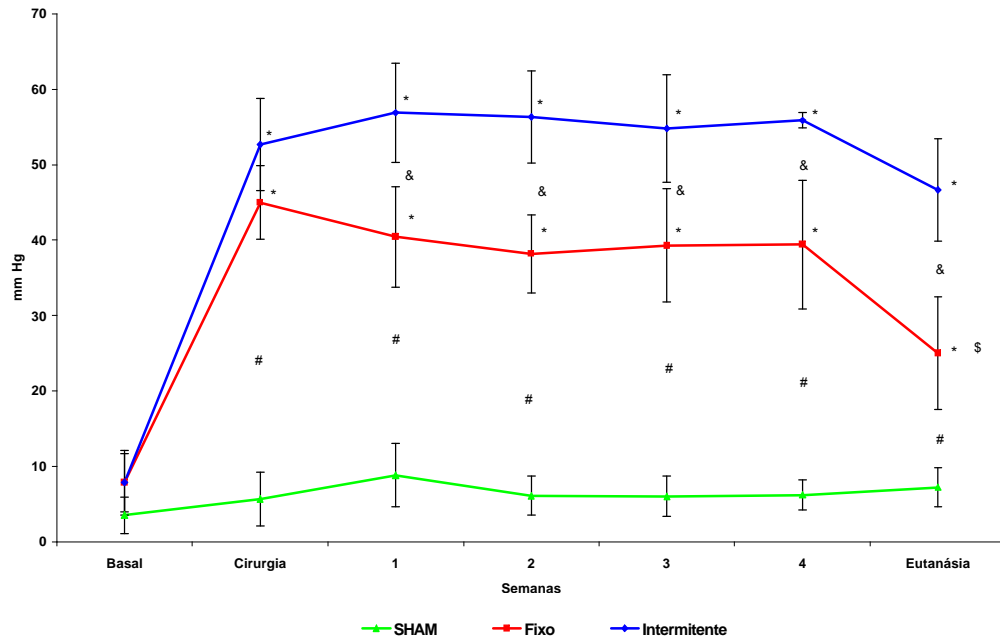
5. RESULTADOS

Foram operados 26 animais, porém apenas 18 completaram o protocolo, perfazendo uma mortalidade global de 30,8%. A mortalidade no grupo Intermitente foi de dois animais (25%), sendo um óbito por infecção na terceira semana pós-operatória e outro por sangramento na reoperação para trocar um dispositivo com vazamento, na segunda semana. No grupo Fixo, houve perda de três animais (33,3%), sendo um por infecção na quarta semana, um por broncoaspiração no pós-operatório imediato e um por causa não esclarecida na primeira semana. No grupo Sham, a mortalidade foi de 33,3% (três animais), sendo um por broncoaspiração no pós-operatório imediato, um por arritmia ventricular no intra-operatório e outro por hipóxia no pós-operatório imediato, provavelmente causada por depressão respiratória, devido ao efeito sinérgico de analgésicos opióides.

5.1. Medidas hemodinâmicas

5.1.1. Gradiente de pressão VD/TP

No momento Basal, todos os grupos foram semelhantes. No grupo Sham, o gradiente basal foi mantido durante todo o protocolo (Figura 6), diferentemente dos demais grupos ($p < 0,05$). Na cirurgia, os gradientes de pico no grupo Fixo e Intermitente se equipararam. No entanto, a partir da primeira semana, quando ocorreu queda não significativa dos gradientes no grupo Fixo, os valores foram significativamente maiores no grupo Intermitente ($p < 0,05$). O gradiente VD/TP no grupo Fixo apresentou uma queda significativa no momento da eutanásia ($p < 0,05$), comparado aos valores da quarta semana (Figura 6).



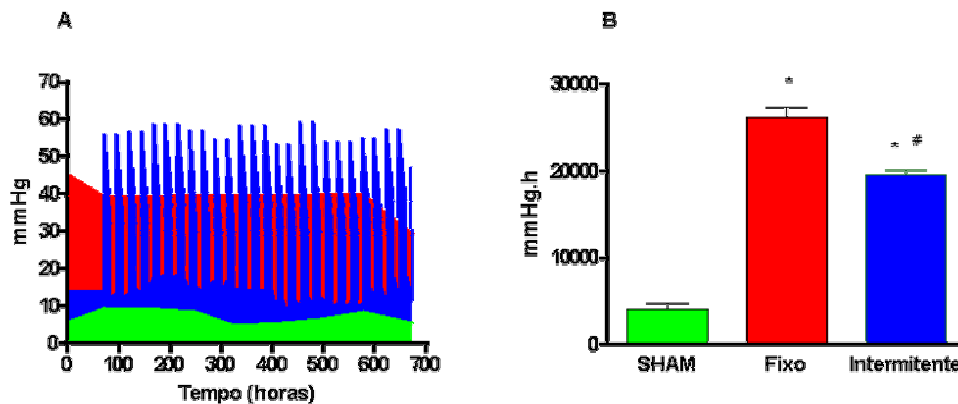
* $p < 0,05$ comparado ao instante Basal em relação ao seu respectivo grupo; # $p < 0,05$ diferença entre os grupos Fixo e Intermitente quando comparado ao grupo Sham; & $p < 0,05$ diferença entre os grupos Fixo e Intermitente para os instantes. \$ $p < 0,05$ diferença entre os momentos Eutanásia e 4ª semana no grupo Fixo.

Figura 6. Comparativo da evolução semanal do gradiente VD/TP de pico nos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

A área de sobrecarga sistólica gerada pela bandagem do TP nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, ao longo de todo o protocolo, está representada na Figura 7, painel A. O painel B mostra a comparação das áreas sob as curvas de sobrecarga sistólica global imposta ao VD, durante todo o período de estudo. No grupo Intermitente, após o período de recuperação pós-operatória de 72 horas, foi possível notar picos de gradientes sistólicos VD/TP superiores aos daqueles gerados no grupo Fixo, alternados com períodos de “descanso” do VD. É importante ressaltar que o

volume de líquido injetado no dispositivo de bandagem ajustável do grupo Intermitente foi repetido nos intervalos das avaliações hemodinâmicas. No grupo Fixo, observa-se um gradiente praticamente contínuo, com pequenas quedas do gradiente entre a cirurgia e a primeira semana e entre a quarta semana e o momento da eutanásia. No grupo Sham, observa-se um gradiente praticamente linear, sem grandes alterações, que se manteve próximo à linha de base (Figura 7, painel A).

Ambos os grupos estimulados apresentaram aumento da sobrecarga sistólica imposta ao VD ($p < 0,001$), quando comparados ao grupo Sham (Figura 7, painel B). No entanto, quando comparados entre si, notou-se maior sobrecarga sistólica global imposta ao VD no grupo Fixo ($p < 0,001$).

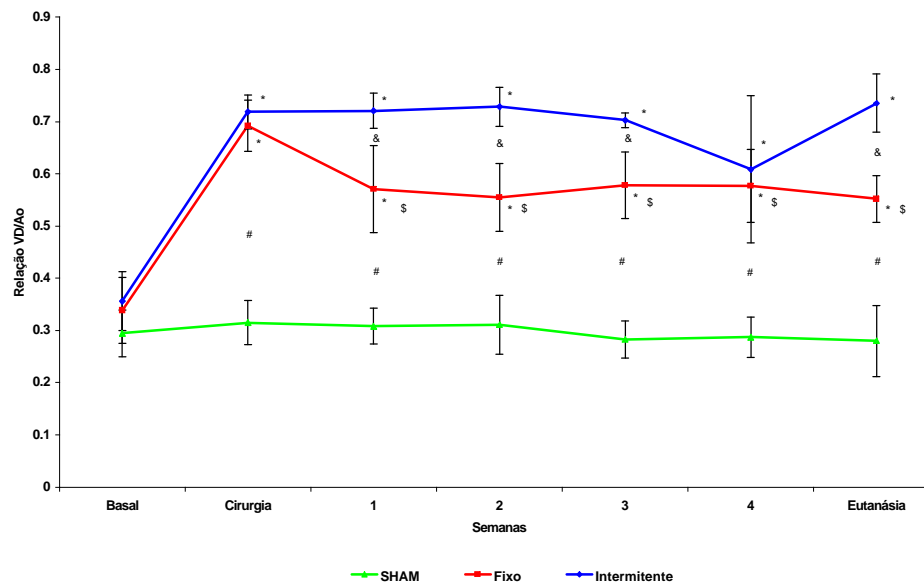


* $p < 0,001$: comparado ao grupo Sham; # $p < 0,001$ comparado ao grupo Fixo.

Figura 7. Área de sobrecarga pressórica imposta pela bandagem nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, durante o período do protocolo; Painel A: Ilustração gráfica; Painel B: Comparação entre as áreas sob as curvas.

5.1.2. Razão de pressões VD/Ao

A razão pressórica VD/Ao basal foi semelhante em todos os grupos e ao redor de 0,25. Conforme objetivado, na cirurgia, foi possível alcançar uma relação pressórica entre VD e Ao de 0,7 nos grupos estimulados. No entanto, notou-se queda significativa desta razão no grupo Fixo, a partir da primeira semana ($p < 0,05$), que se manteve ao longo do período estudado. Já no grupo Intermitente, diante da possibilidade do ajuste diário da bandagem, a relação VD/Ao máxima manteve-se em torno de 0,7 ao longo de todo o período de estudo, diferentemente do grupo Fixo ($p < 0,05$), a não ser por uma redução não significativa na quarta semana (Figura 8), com recuperação da relação no momento Eutanásia. No grupo Sham, observou-se relações VD/Ao próximas aos valores basais, portanto inferiores aos demais grupos ao longo de todo o protocolo ($p < 0,05$).



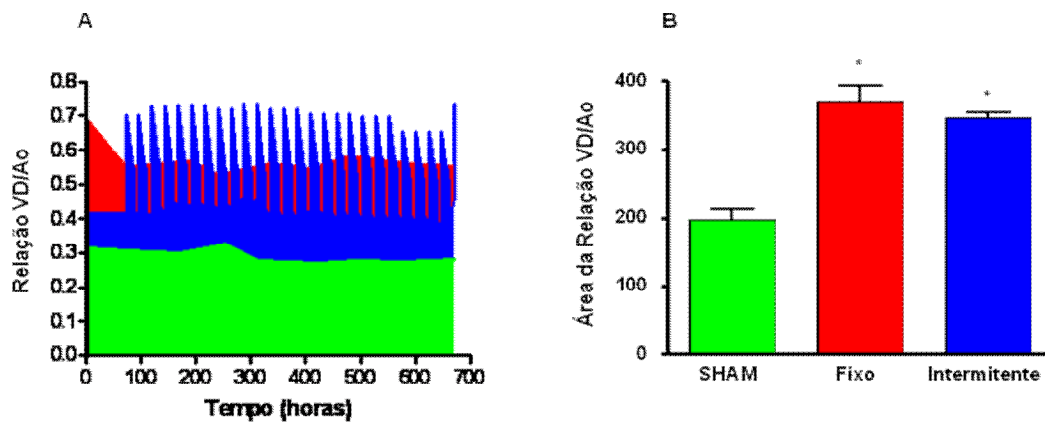
* $p < 0,05$ comparado ao instante Basal em relação ao seu respectivo grupo; # $p < 0,05$ diferença entre os grupos Fixo e Intermitente quando comparado ao grupo SHAM; & $p < 0,05$ diferença entre os grupos Fixo e Intermitente para os instantes. \$ $p < 0,05$ diferença entre o momento Cirurgia e os momentos subsequentes no grupo Fixo.

Figura 8. Comparação temporal da relação VD/Ao máxima nos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

O painel A da Figura 9 mostra a razão de pressões VD/Ao ao longo das quatro semanas nos grupos Sham, Fixo e Intermitente. Nota-se que as oscilações diárias desta razão no grupo Intermitente se iniciaram tardiamente em relação ao grupo Fixo, devido ao período de recuperação pós-operatória. Observa-se ainda, no grupo Intermitente, uma queda dos picos da relação na última semana. No grupo Fixo, há uma queda da relação VD/Ao após a cirurgia. Entretanto, esta relação permaneceu superior a do

grupo Sham e dos valores observados nos períodos de “repouso” (dispositivo de BTP desinsuflado) do grupo Intermitente.

A comparação das áreas sob as curvas da razão VD/Ao nos grupos estudados mostrou aumentos similares na sobrecarga pressórica imposta ao VD nos grupos Fixo e Intermitente (Figura 9, painel B), quando comparados ao grupo Sham ($p < 0,05$).



* $p < 0,05$ comparados ao grupo Sham

Figura 9. Razão de pressões VD/Ao ao longo do protocolo, nos grupos Sham, Fixo e Intermitente; Painel A: Ilustração gráfica; Painel B: Comparação entre as áreas sob as curvas.

5.2. Achados ecocardiográficos

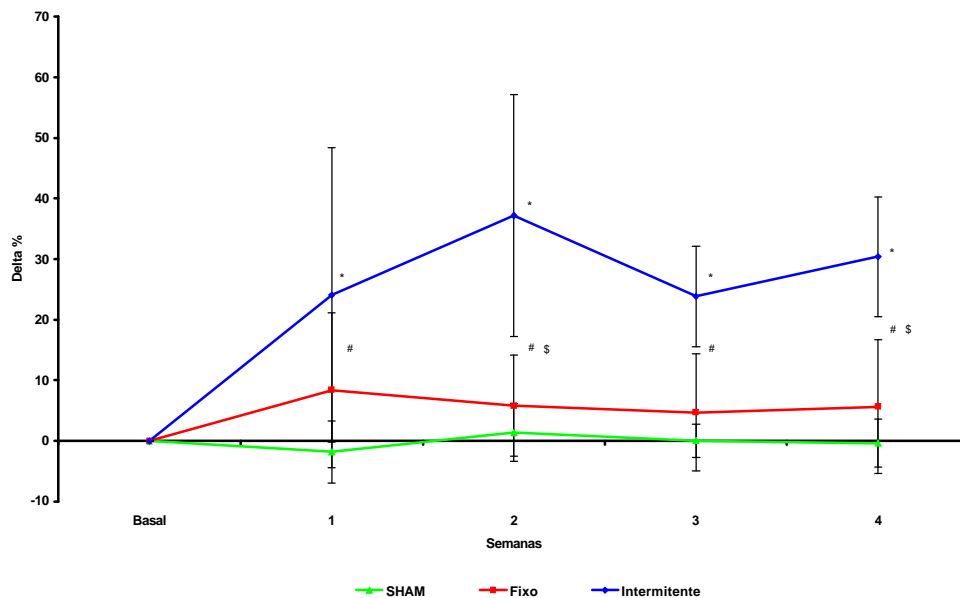
5.2.1. Espessura da parede livre do VD

Quando se avaliaram os valores absolutos das medidas das espessuras da parede livre do VD através da ANOVA de dois fatores para medidas repetidas, notou-se uma maior espessura no grupo Intermitente, comparado ao grupo Sham, a partir da segunda semana de estudo. No entanto, não foi constatada significância estatística entre as medidas dos grupos Intermitente e Fixo (tabela 2). Por sua vez, a análise das variações relativas (delta percentual) da espessura da parede livre do VD, ao longo do período de estudo (Figura 10), pôde constatar uma variação de espessura expressiva no grupo Intermitente a partir da 1ª semana do estudo ($p < 0,001$), além de uma maior variação da espessura neste grupo, quando comparado ao grupo Sham em todas as semanas ($p < 0,001$) e quando comparado ao grupo Fixo na segunda e na quarta semanas ($p < 0,01$).

Tabela 2. Espessura da parede livre do ventrículo direito (VD) nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medida pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.

Tempo	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6
BASAL	0,44 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,43 ± 0,03
1a. semana	0,43 ± 0,03	0,53 ± 0,09	0,53 ± 0,06
2a. semana	0,45 ± 0,02	0,52 ± 0,07	0,59 ± 0,05 [#]
3a. semana	0,44 ± 0,02	0,53 ± 0,07	0,54 ± 0,05 [#]
4a. semana	0,44 ± 0,01	0,52 ± 0,07	0,57 ± 0,05 [#]

Valores (cm) = média ± desvio padrão; # p<0,05 comparado ao grupo Sham para o mesmo momento.



* p<0,001 comparado ao Basal do grupo Intermitente; # p<0,001 diferença entre os grupos Intermitente e Sham; \$ p<0,01 diferença entre os grupos Intermitente e Fixo.

Figura 10. Variação percentual da espessura (delta) da parede livre do ventrículo direito (VD), medidas pelo ecocardiograma, nos grupos Sham, Fixo e Intermitente ao longo das quatro semanas de estudo.

5.2.2. Espessura do septo interventricular (SIV)

A espessura do SIV, medida por meio do exame ecocardiográfico, não apresentou variações entre os grupos (Tabela 3). A avaliação dos deltas de variação da espessura do SIV também não mostrou diferenças entre os grupos (Figura 11).

Tabela 3. Espessuras do Septo interventricular (SIV) nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medidas pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.

Tempo	SIV		
	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6
BASAL	0,64 ± 0,04	0,69 ± 0,02	0,69 ± 0,01
1 ^a semana	0,66 ± 0,05	0,68 ± 0,05	0,71 ± 0,01
2 ^a semana	0,64 ± 0,04	0,70 ± 0,05	0,70 ± 0,02
3 ^a semana	0,66 ± 0,05	0,71 ± 0,07	0,70 ± 0,04
4 ^a semana	0,63 ± 0,02	0,68 ± 0,05	0,70 ± 0,02

Valores (cm) = média ± desvio padrão

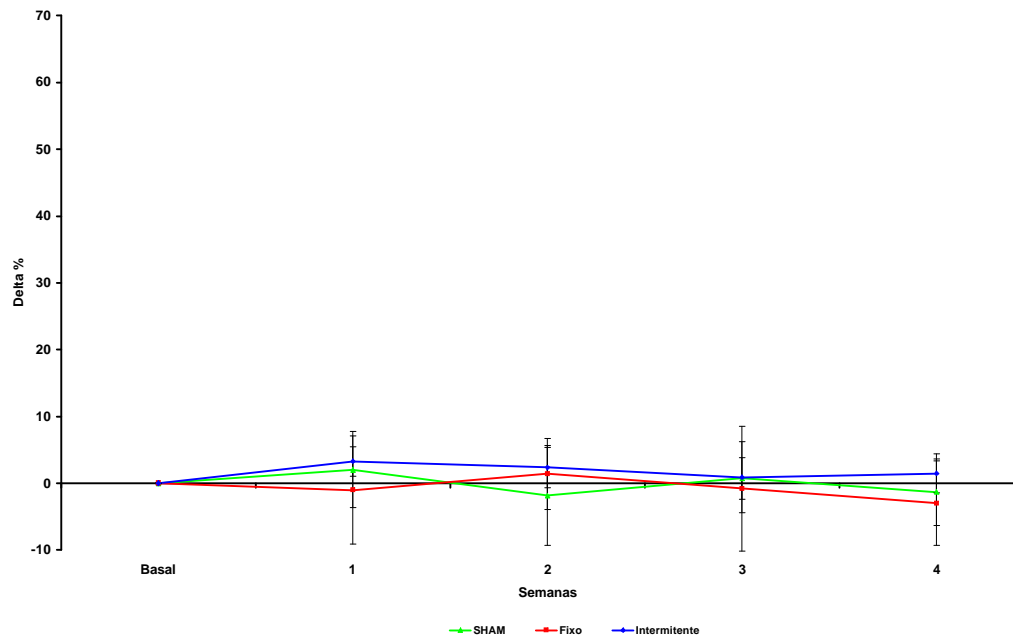


Figura 11. Variação percentual de espessura (delta) do SIV nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medida pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.

5.2.3. Espessura da parede posterior do VE

Assim como para o SIV, as medidas de espessura da parede posterior do VE não foram diferentes entre os grupos (Tabela 4). Nota-se que as curvas que descrevem as variações percentuais das espessuras (delta de variação) da parede posterior pouco se modificam ao longo do protocolo (Figura 12).

Tabela 4. Espessuras da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medidas pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.

Tempo	VE		
	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6
BASAL	0,64 ± 0,03	0,68 ± 0,06	0,70 ± 0,03
1 ^a semana	0,65 ± 0,04	0,68 ± 0,05	0,71 ± 0,01
2 ^a semana	0,65 ± 0,03	0,68 ± 0,01	0,70 ± 0,02
3 ^a semana	0,66 ± 0,03	0,70 ± 0,06	0,70 ± 0,02
4 ^a semana	0,64 ± 0,03	0,70 ± 0,02	0,69 ± 0,02

Valores (cm) = média ± desvio padrão

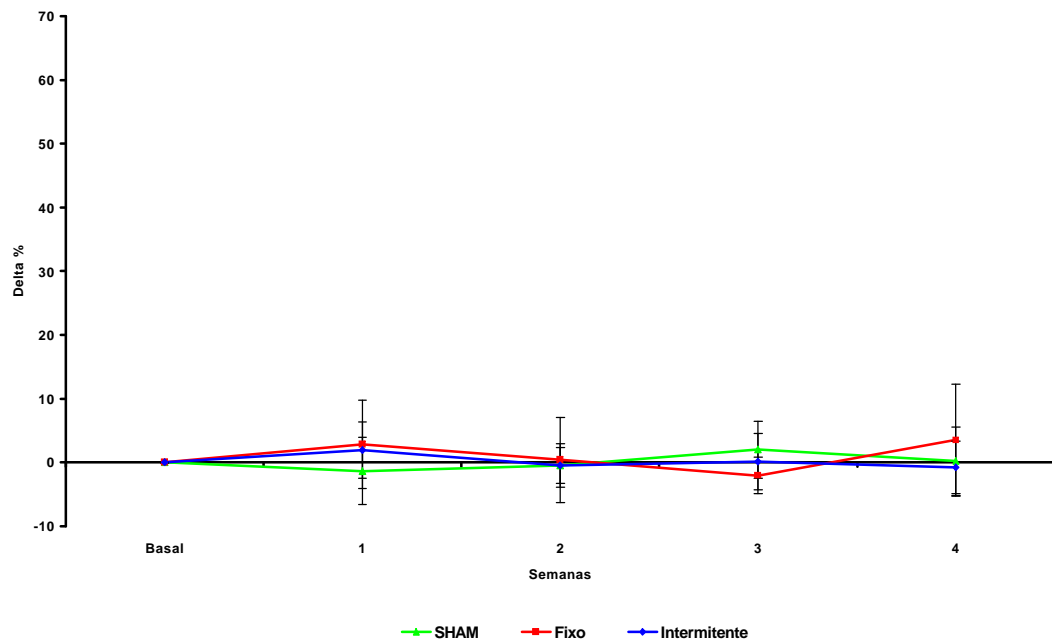


Figura 12. Variação percentual de espessura (delta) da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) nos grupos Sham, Fixo e Intermitente, medida pelo ecocardiograma, nas quatro semanas de estudo.

5.3. Achados Morfológicos

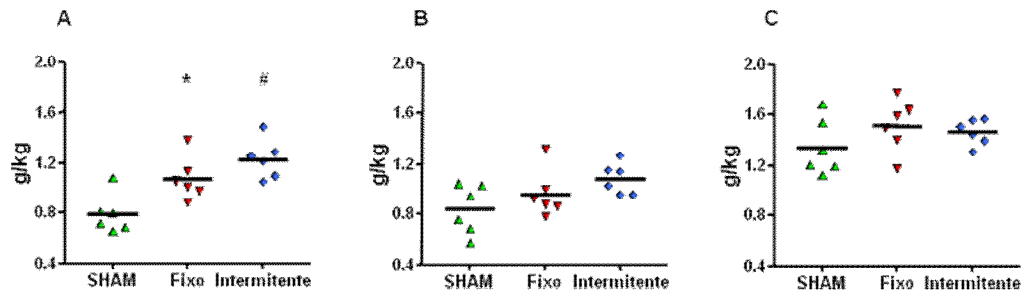
5.3.1. Pesagem das Massas Cardíacas

Os dados de peso das massas das cavidades ventriculares, normalizadas para o peso de cada animal, estão apresentadas na tabela 5. Os grupos Intermitente e Fixo apresentaram um aumento de 55,7% e 36,7%, respectivamente, da massa do VD em relação ao grupo Sham ($p < 0,05$; Figura 13, painel A). Os pesos das massas do SIV ($p = 0,09$) e do VE ($p = 0,30$) não variaram entre os grupos (Figura 13, painéis B e C).

Tabela 5. Peso das massas cardíacas de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) normalizadas pelo peso dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6	Valor de p
VD	0,79 ± 0,15	1,08 ± 0,17 *	1,24 ± 0,16 #	<0,05
SIV	0,84 ± 0,20	0,96 ± 0,19	1,09 ± 0,13	0,09
VE	1,35 ± 0,22	1,52 ± 0,21	1,47 ± 0,10	0,30

Valores= média em g/Kg ± desvio padrão; * $p < 0,05$ comparado ao grupo Sham; # $p < 0,001$ comparado ao grupo Sham.



* $p < 0,05$ comparado ao grupo Sham; # $p < 0,001$ comparado ao grupo Sham.

Figura 13. Pesos do VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) normalizados pelo peso corporal (g/kg) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

5.3.2. Conteúdo de Água

Não houve diferença significativa no conteúdo de água entre os grupos (tabela 6), em nenhum dos segmentos estudados (Figura 14).

Tabela 6. Conteúdo de Água do ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

Conteúdo de Água	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6	Valor de p
VD	79,16 ± 1,28	79,67 ± 1,25	80,61 ± 1,87	0,27
SIV	78,72 ± 1,15	78,74 ± 1,95	79,47 ± 1,55	0,65
VE	78,23 ± 1,03	79,25 ± 1,79	79,98 ± 2,30	0,26

Valores (%) = média ± desvio padrão.

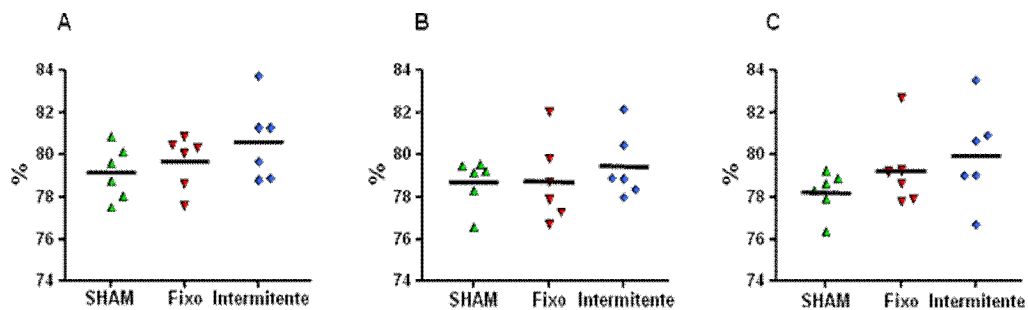


Figura 14. Conteúdo de água do VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

5.4. Achados histológicos

5.4.1. Diâmetro dos cardiomiócitos

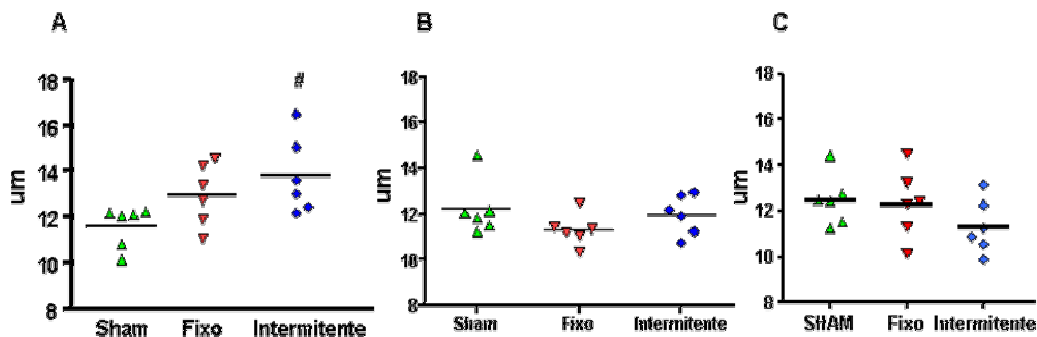
Nota-se que as medidas dos diâmetros dos cardiomiócitos do VD dos grupos Fixo e Intermitente apresentaram um incremento de 12,3% e 19,2%, respectivamente, em relação às medidas do grupo Sham (Tabela 7). No entanto, apenas o grupo Intermitente apresentou aumento significativo nos diâmetros em comparação ao grupo Sham ($p=0,036$). Por sua vez, os

diâmetros dos cardiomiócitos do SIV ($p=0,25$) e VE ($p=0,28$) não apresentaram diferenças entre os grupos (Figura 15).

Tabela 7. Diâmetros dos cardiomiócitos do ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6	Valor de p
VD	11,54 ± 0,89	12,96 ± 1,35	13,76 ± 1,68 #	<0,05
SIV	12,24 ± 1,19	11,32 ± 0,70	11,98 ± 0,86	0,25
VE	12,49 ± 1,13	12,35 ± 1,51	11,35 ± 1,19	0,28

Valores (μm) = média ± desvio padrão; # $p<0,05$ comparado ao grupo Sham



$p<0,05$ comparado ao grupo Sham.

Figura 15. Diâmetros dos cardiomiócitos no VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

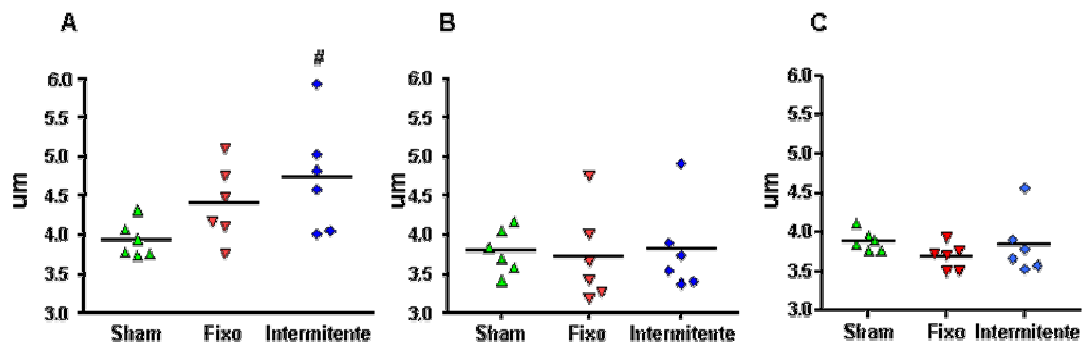
5.4.2. Diâmetro dos núcleos dos cardiomiócitos

Paralelamente, os diâmetros dos núcleos dos cardiomiócitos do VD dos grupos Fixo e Intermitente foram 14% e 22,8% superiores aos do grupo Sham, respectivamente (Tabela 8). Entretanto, foi detectada significância estatística apenas na comparação entre o grupo Intermitente e o grupo Sham ($p < 0,05$). Os diâmetros dos núcleos do SIV ($p = 0,95$) e do VE ($p = 0,38$) não variaram entre os grupos (Figura 16).

Tabela 8. Diâmetros dos núcleos dos cardiomiócitos no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6	Valor de p
VD	3,86 ± 0,14	4,40 ± 0,48	4,74 ± 0,71 [#]	<0,05
SIV	3,80 ± 0,28	3,73 ± 0,59	3,82 ± 0,58	0,95
VE	3,89 ± 0,13	3,69 ± 0,16	3,84 ± 0,38	0,38

Valores (μm) = média ± desvio padrão; # $p < 0,05$ comparado ao grupo Sham.



$p < 0,05$ quando comparado ao grupo Sham.

Figura 16. Diâmetros dos núcleos dos cardiomiócitos no VD (painel A), SIV (painel B) e no VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermittente.

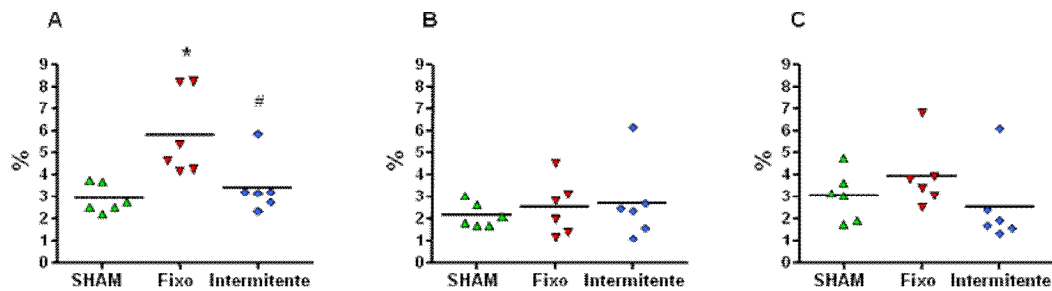
5.4.3. Porcentagem de área de colágeno

Os animais do grupo Fixo exibiram um incremento de 98,0% na porcentagem de área de colágeno no VD (Tabela 9), quando comparados aos animais do grupo Sham ($p < 0,01$) e de 69,2% em relação aos do grupo Intermittente ($p < 0,05$) (Figura 17, painel A). As porcentagens de área de colágeno no SIV ($p = 0,768$) e no VE ($p = 0,284$) não diferiram entre os grupos (Figura 17, painéis B e C).

Tabela 9. Porcentagem de área de colágeno no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6	Valor de p
VD	2,94 ± 0,65	5,82 ± 1,91 *	3,44 ± 1,24 #	<0,05
SIV	2,19 ± 0,56	2,52 ± 1,24	2,74 ± 1,79	0,768
VE	3,06 ± 1,11	3,93 ± 1,50	2,52 ± 1,80	0,284

Valores (%) = média ± desvio padrão; * p<0,01 comparado ao grupo Sham; # p<0,05 comparado ao grupo Fixo



* p<0,01 comparado ao grupo Sham; # p<0,05 comparado ao grupo Fixo.

Figura 17. Porcentagem de área de colágeno no VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

5.4.4. Proliferação celular dos cardiomiócitos

Não se observou proliferação celular de elementos contráteis no VD ($p=0,89$) dos grupos estudados (Tabela 10), assim como não houve proliferação de cardiomiócitos no SIV ($p=0,87$), nem no VE ($p=0,28$) de nenhum dos grupos (Figura 18).

Tabela 10. Proliferação celular de cardiomiócitos no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6	Valor de p
VD	0,33 (0,08-0,75)	0,33 (0,08-0,83)	0,25 (0,08-0,58)	0,89
SIV	0,12 (0,00-0,58)	0,25 (0,00-0,41)	0,13 (0,00-0,83)	0,87
VE	0,08 (0,00-0,25)	0,12 (0,00-0,50)	0,33 (0,00-0,92)	0,28

Valores (células / campo) = mediana (limites)

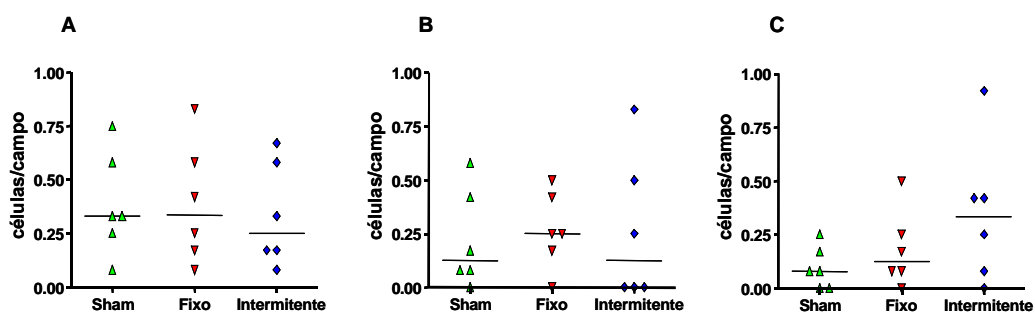


Figura 18. Proliferação celular de cardiomiócitos no VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

5.4.5. Proliferação celular no interstício e vasos

Não ocorreu aumento significativo da proliferação celular de elementos não contráteis no VD em nenhum dos grupos ($p=0,68$), conforme mostrado na tabela 11 e na figura 19, painel A. Também não se evidenciou proliferação celular no interstício e vasos do SIV ($p=0,73$) e do VE ($p=0,12$) (Figura 19, painéis B e C).

Tabela 11. Proliferação celular no interstício e vasos do ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

	Sham N = 6	Fixo N = 6	Intermitente N = 6	Valor de p
VD	2,67 (1,00-3,58)	2,83 (1,25-8,50)	2,17 (1,75-4,75)	0,68
SIV	2,04 (0,58-5,00)	1,96 (0,91-8,91)	1,54 (1,00-4,08)	0,73
VE	1,21 (0,67-2,25)	1,71 (1,00-5,83)	2,37 (0,92-3,33)	0,12

Valores (células/campo) = mediana (limites)

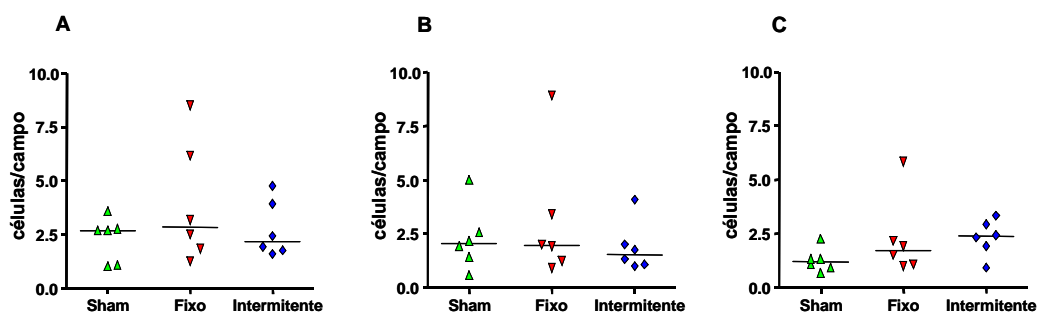


Figura 19. Proliferação celular no interstício e vasos no VD (painel A), SIV (painel B) e VE (painel C) dos grupos Sham, Fixo e Intermitente.

Discussão

6. DISCUSSÃO

O presente estudo representa mais um passo desta linha de pesquisa na avaliação do processo de adaptação e hipertrofia ventricular com o uso da bandagem pulmonar ajustável. Os trabalhos anteriores analisaram este processo em animais jovens submetidos à bandagem pulmonar por um período de quatro dias.^{17, 31-33, 45, 65-68} No entanto, o processo de adaptação ventricular dos animais adultos ainda não havia sido estudado. Apesar da grande importância clínica, devido à dificuldade relatada no preparo ventricular de pacientes adolescentes e adultos,^{18, 50, 70, 84, 85} poucos estudos a este respeito foram publicados, fazendo com que as dúvidas se acumulem.

Desde o princípio do estudo, foram encontradas dificuldades com o modelo adulto. A maior parte delas inerente ao pioneirismo do projeto e à consequente curva de aprendizado. Porém, os obstáculos foram superados com a melhoria do dispositivo estudado e com a estruturação de uma equipe multidisciplinar.

6.1. Desenho do protocolo de treinamento

Após revisão dos estudos publicados e realização de estudo piloto, optou-se por manter o estímulo hipertrófico durante quatro semanas, tempo considerado suficiente para desencadear a hipertrofia nestes animais.^{18, 50, 70,}

⁸⁴ Como trabalho inédito dentro da linha de pesquisa utilizando cabras adultas, a curva de aprendizado determinou mortalidade elevada durante os estudos preliminares.

Com relação ao protótipo do dispositivo, foram necessárias várias modificações em relação ao modelo usado em animais jovens, para adequá-lo a um regime de pressões mais elevadas, pois, além de apresentar vazamentos, ocasionava uma sobrecarga sistólica sub-máxima no final do protocolo. Este fato foi um estímulo para tentar melhorar ainda mais o dispositivo, pensando no seu futuro uso clínico. Após diversos aprimoramentos e entendimentos com a Divisão de Bioengenharia e Desenvolvimento da SILIMED, obteve-se um dispositivo de desempenho adequado para uso em animais adultos.

A opção pela manutenção do estímulo intermitente por 12 horas, alternadas com 12 horas de “descanso” do VD, decorreu da continuidade do raciocínio de estudos anteriores desta linha de pesquisa que utilizaram este regime de intermitência.^{17, 33, 45} Outros autores utilizaram dois períodos curtos diários de sobrecarga, com intenção de mimetizar ainda mais o treinamento atlético.^{18, 50} Pesquisas futuras poderão comparar estes dois protocolos de intermitência.

6.2. Parâmetros hemodinâmicos

O desenho inicial do protocolo estabelecia uma leitura diária das pressões para os animais dos grupos Sham e Fixo e duas leituras por dia no grupo intermitente para guiar as insuflações e desinsuflações dos dispositivos. Entretanto, notou-se a inexecuabilidade deste protocolo no estudo piloto, pois a manipulação excessiva dos cateteres provocava fraturas e deslocamentos dos mesmos. Além disso, a medida em dias alternados no grupo Intermitente mostrou-se satisfatória, uma vez que não havia variações significativas do volume injetado no dispositivo para promover o gradiente desejado. Já nos grupos Sham e Fixo, optou-se por realizar as medidas pressóricas duas vezes por semana, decorrente da ausência de variações hemodinâmicas importantes, evitando-se manipulação desnecessária dos cateteres. Mesmo assim, não foi possível obter as medidas pressóricas em algumas ocasiões, pela disfunção dos cateteres no decorrer do estudo.

Nos animais do grupo Fixo, as principais dificuldades foram encontradas ainda no ato operatório, quando pequenos ajustes na fita de bandagem provocavam intensa instabilidade hemodinâmica, determinando repetidos reajustes da BTP e um ato cirúrgico mais moroso e laborioso naqueles animais, em consonância com o que relatam os estudos clínicos.^{22, 25, 86} Apesar disto, foi possível atingir a relação VD/Ao almejada em todos os animais do grupo Fixo no ato cirúrgico. Entretanto, o ajuste obtido no intra-operatório tornava-se menos preciso após a recuperação anestésica, com queda da relação VD/Ao, conforme relatado em vários estudos clínicos e experimentais.^{64, 74, 75, 77, 87} Os picos de gradiente VD/TP maiores atingidos no grupo Intermitente refletem uma das vantagens da ajustabilidade, a qual

permitiu o controle do nível adequado de sobrecarga sistólica, enquanto que, na bandagem fixa, o ajuste foi realizado apenas no momento da cirurgia, incorrendo em perda do gradiente pretendido ao longo do protocolo, seja por dilatação ou disfunção da câmara subpulmonar, seja por alteração da pressão pulmonar.^{59, 70, 88} Mesmo assim, observou-se uma maior área de sobrecarga sistólica imposta ao VD no grupo Fixo, uma vez que os períodos de “descanso” do VD (dispositivo BTP desinsuflado) no grupo Intermitente compensaram os maiores gradientes de pico. Interessante notar que esta maior sobrecarga sistólica no grupo Fixo não resultou em um maior ganho de massa ventricular, quando comparado ao grupo Intermitente. Pelo contrário, o grupo Intermitente apresentou uma tendência de maior ganho de massa ventricular, apesar da menor área de sobrecarga sistólica, o que foi comprovado posteriormente na avaliação dos diâmetros dos cardiomiócitos e núcleos do VD.

A queda não significativa da relação VD/Ao, observada na quarta semana do grupo Intermitente, provavelmente foi relacionada ao vazamento no sistema de bandagem ajustável de um dos animais, no qual foi impossível manter esta relação nos parâmetros preconizados ao final do protocolo. Além disso, analisando-se as curvas diárias desta razão de pressões no grupo Intermitente, observou-se uma queda média de 25% dos valores ao longo das 12 horas de dispositivo BTP insuflado. Supõe-se que tal perda deva ser decorrente da acomodação pressórica do ventrículo, associada à passagem osmótica de pequenas quantidades de ar residual e/ou líquido através da membrana de silicone. Este fenômeno foi também relatado anteriormente em estudos com animais jovens.^{17, 33}

6.3. Parâmetros ecocardiográficos

Ficou claramente demonstrado neste estudo o aumento da espessura da parede livre do VD no grupo Intermitente, corroborando os achados de aumento de massa. No grupo Fixo, nota-se também um aumento na espessura, porém não significativo, apesar do aumento de massa do VD neste grupo de animais em relação ao Grupo Sham.

A avaliação de demais parâmetros ecocardiográficos, tais como dimensões e função ventriculares, foi uma intenção deste estudo. No entanto, revelou-se impossível pelas dificuldades técnicas decorrentes da conformação torácica em quilha dos caprinos e da calcificação da junção costochondral dos animais adultos, prejudicando a análise desses parâmetros.

Além das dificuldades supracitadas, percebeu-se que para a realização de estudo ecocardiográfico nestes animais, faz-se necessário o uso de sedação, o que dificulta ainda mais o procedimento. Talvez por estes motivos, não se encontre disponível na literatura estudos semelhantes para que estes achados sejam cotejados, haja vista que grande parte dos estudos experimentais envolvendo a BTP ajustável, em animais de médio e grande porte, não utiliza esta ferramenta diagnóstica para acompanhamento da adaptação ventricular dos animais adultos,^{18, 70, 71} diferentemente da linha de pesquisa em animais jovens ou menores.^{17, 45, 50, 85}

A realização de ressonância nuclear magnética, que, atualmente, é considerada uma poderosa ferramenta na avaliação da dimensão e função ventricular direita,^{89, 90} poderia solucionar estes problemas, porém o alto custo e as enormes dificuldades técnicas para realizar tal exame inviabilizaram que ele fosse feito neste estudo.

6.4. Parâmetros morfológicos

Diante do achado de ganho de massa do VD nos grupos estimulados, procurou-se analisar os possíveis substratos morfológicos para justificar este incremento. Inicialmente, foi avaliado o conteúdo de água nos tecidos miocárdicos, para identificar possível edema, que promoveria aumento do peso e da espessura das massas musculares, o que não ocorreu.

Notou-se, então, que o preparo ventricular intermitente promoveu hipertrofia ventricular direita significativa, enquanto o mesmo não ocorreu com o grupo Fixo, apesar do aumento do diâmetro de cardiomiócitos e núcleos de 12 e 14%, respectivamente, em relação ao grupo Sham.

O presente estudo comprova de forma consistente a possibilidade de hipertrofia no miocárdio maduro, através da obtenção de aumento no peso e espessura do VD, associada a aumento no diâmetro de cardiomiócitos e núcleos. No entanto, estes achados só foram encontrados no protocolo de sobrecarga intermitente, enquanto que, com a bandagem fixa convencional, o mesmo não foi observado. Estudos experimentais prévios utilizando a BTP em animais adultos reportam resultados de obtenção de hipertrofia miocárdica constatada apenas através da medida do peso e/ou da espessura das paredes ventriculares,^{18,91} o que se demonstrou ser impreciso.

Conforme esperado, a ocorrência de células positivas para o marcador de proliferação celular no miocárdio foi fenômeno raro nestes

animais, provando não haver hiperplasia em indivíduos adultos, diferentemente dos jovens.^{45, 46}

Confirmando a inaptidão do método tradicional para a realização do preparo ventricular em indivíduos adultos, encontrou-se maior porcentagem de colágeno nos ventrículos direitos destes animais, quando comparados aos demais grupos.

Este achado corrobora estudos clínicos e experimentais prévios. Le Bret et al.¹⁸ relataram a presença de fibrose no coração de ovelhas adultas submetidas à bandagem fixa, diferentemente daquelas submetidas à bandagem intermitente. Mavroudis e Backer¹⁴ relataram encontro de fibrose miocárdica em paciente de 17 anos, portadora de TCGA, submetida a preparo ventricular visando a cirurgia de “Double Switch”. Vida et al.⁸⁵ compararam o processo adaptativo ventricular de ratos jovens e adultos submetidos a BTP e também encontraram maior acúmulo de colágeno nos corações adultos.

Este maior acúmulo de colágeno no miocárdio pode ser o substrato para o desenvolvimento de disfunção ventricular precoce e futura, como demonstrado em alguns estudos clínicos de pacientes submetidos a preparo ventricular.^{23, 44}

O estímulo intermitente promoveu hipertrofia com menor imposição de sobrecarga ventricular e sem aumentar a área de colágeno. Com isso, natural seria propor tal regime pressórico como uma alternativa mais saudável ao modelo tradicional de preparo.

No entanto, interessantes observações a este respeito foram encontradas no trabalho de Perrino et al.,⁵⁰ que estudaram o VE de camundongos submetidos a estímulos fisiológicos de hipertrofia, como correr e nadar, comparados com sobrecargas pressóricas fixas e intermitentes, através de bandagem da aorta. Os autores demonstraram que a sobrecarga fixa desencadeou disfunção ventricular. Já a sobrecarga intermitente manteve a função ventricular, à semelhança dos estímulos fisiológicos (correr e nadar). Entretanto, quando marcadores biomoleculares de hipertrofia foram analisados, percebeu-se que havia sinalização patológica em ambos os tipos de sobrecarga artificial, fixa e intermitente, diferentemente dos estímulos fisiológicos.

Portanto, deve-se ter muito cuidado ao afirmar a sobrecarga intermitente como uma solução para o desenvolvimento de disfunção ventricular em ventrículos submetidos a preparo.

6.5. Implicações clínicas

No cenário clínico, a avaliação do preparo do VE em pacientes adultos leva em consideração alguns fatores: relação pressórica do VE morfológico / pressão sistêmica adequada com boa função ventricular; boa resposta inotrópica; e obtenção de hipertrofia desencadeada pela sobrecarga sistólica da bandagem.^{6, 16, 87, 92} No entanto, não raro, pacientes apresentam disfunção ventricular após a correção anatômica, alguns inclusive necessitando transplante cardíaco,^{8, 44}

Alguns estudos clínicos relatam a impossibilidade de se realizar o preparo ventricular em pacientes que já chegaram à adolescência, tamanha a dificuldade para se obter hipertrofia ventricular sem provocar disfunção nestes pacientes.^{8, 13, 93} Outros autores concluem que a idade é o maior fator de risco para o desenvolvimento de mudanças mal adaptativas.⁸⁵

Com isso, futuramente, protocolos de sobrecarga intermitente, semelhantes ao testado neste estudo, poderiam ser sugeridos nestes pacientes, visando promover hipertrofia efetiva, sem dano ao tecido miocárdio, evitando o desenvolvimento de disfunção ventricular.

6.6. Limitações do estudo

O presente estudo possui as limitações inerentes a um estudo experimental, sendo que o principal deles reside no fato de que a BTP realizada para preparo ventricular nos estudos experimentais promove readaptação do VD, enquanto na prática clínica, em pacientes portadores de TGA e TCGA, o ventrículo a ser preparado é o VE.

A observação da ausência de hipertrofia no grupo Fixo pode refletir a dificuldade no preparo de miocárdios maduros na prática clínica, como também a necessidade de períodos mais prolongados de estímulo para se atingir tal efeito. No presente estudo, baseou-se o tempo de sobrecarga sistólica em estudos anteriores realizados em ovinos e ratos.

Como foi evidenciada hipertrofia no grupo Intermitente e, ainda, maior teor de colágeno no grupo Fixo, conclui-se que o tempo foi adequado para o estudo proposto.

Ademais, há outros fatores limitantes para um estudo com tempo maior de sobrevivência. A manutenção dos animais confinados no biotério por tempo muito prolongado, o fato de alguns dispositivos de bandagem pulmonar ajustável terem apresentado vazamento, principalmente na última semana de estudo, e a constante falência dos cateteres após algumas semanas de manipulação seriam questões a se solucionar para se aventar um estudo mais crônico.

O uso de cateteres intracavitários que medem a relação pressão/volume, ou de dispositivos de aferição pressórica totalmente

implantáveis poderia minimizar grande parte dos problemas. Além do que, o uso destes cateteres poderia oferecer dados importantes sobre função ventricular, através das curvas de relação pressão / volume.^{70, 84, 94}

A dificuldade do estudo ecocardiográfico em aferir a função ventricular neste estudo foi também fator limitante, uma vez que esta análise poderia trazer informações fundamentais para ratificar a má adaptação ventricular com o preparo fixo convencional. A análise do Índice de “*Performance*” Miocárdica, do Doppler Tecidual e de softwares mais modernos de análise global, como o Syngo VVI, forneceria substrato para conclusões mais substanciadas.^{90, 95-98}

Necessita-se, portanto, de estudos futuros comparando diferentes tempos e protocolos de preparo, principalmente com análise da função ventricular e de marcadores biomoleculares, os quais poderiam predizer uma possível sinalização de preparo mais fisiológico.

Conclusões

7. CONCLUSÕES

- 7.1. O ventrículo direito (VD) do grupo Fixo foi submetido a uma maior área de sobrecarga sistólica. Apesar disto, o grupo Intermitente gerou maiores picos de gradientes sistólicos e promoveu maior variação da espessura da parede livre do VD ao ecocardiograma.
- 7.2. Tanto a sobrecarga intermitente quanto a fixa promoveram aumento da massa ventricular direita ao longo das quatro semanas, sem que isso fosse acompanhado por acúmulo de água.
- 7.3. A sobrecarga intermitente determinou hipertrofia miocárdica no ventrículo direito (VD), enquanto a sobrecarga fixa proporcionou maior teor de colágeno neste ventrículo. Em nenhum dos grupos houve alteração da proliferação celular.

Anexos

8. ANEXOS

Anexo 1: Peso inicial e final dos animais do grupo Sham.

Grupo Sham		
animais	Peso Inicial	Peso Final
220607	27,00	25,50
250408	29,00	27,50
50608	35,00	30,00
71108	27,50	22,50
160109M	25,00	25,00
160109F	27,00	28,00

valores em kg

Anexo 2: Peso inicial e final dos animais do grupo Fixo.

Grupo Fixo		
animais	Peso Inicial	Peso Final
150607	24,00	25,50
250707	29,00	28,00
270707	25,00	29,50
170807	23,50	23,00
51007	30,00	27,00
300508	27,00	25,00

valores em kg

Anexo 3: Peso inicial e final dos animais do grupo Intermitente.

Grupo Intermitente		
animais	Peso Inicial	Peso Final
300807	23,00	21,00
210907	28,00	26,50
261007	28,00	27,00
71107	27,00	23,50
30108	28,20	27,50
40108	28,20	25,50

valores em kg

Anexo 4: Medidas de gradiente VD-TP do grupo Sham ao longo do protocolo.

Gradiente VD/TP - Grupo Sham											
Animal	Basal	Cirurgia	Tempo (horas)								Eutanásia
			0	48	120	204	276	372	444	528	
220607	3	3	3	5		3	-	-	-	-	5
250408	7	11	11	13	12	7	-	-	3	-	10
50608	5	5	5	4	3	-	4	4	5	-	-
71108	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	9
160109M	0	8	8	12	10	12	7	7	10	7	8
160109F	4	6	6	13	11	11	3	-	8	10	4

valores em mmHg

Anexo 5: Medidas de gradiente VD -TP do grupo Fixo ao longo do protocolo.

Gradiente VD/TP - Grupo Fixo											
Animal	Basal	Cirurgia	Tempo (horas)								Eutanásia
			0	48	120	204	276	372	444	528	
150607	13	42	42	-	39	39	37	37	31	31	38
250707	9	51	51	22	42	22	48	42	-	48	-
270707	9	46	46	52	-	52	45	45	-	49	23
170807	9	46	46	-	39	39	31	31	30	38	20
51007	7	48	48	46	40	46	30	41	25	32	24
300508	0	37	37	37	38	38	32	40	50	42	20

valores em mmHg

Anexo 6: Medidas de gradiente VD-TP do grupo Intermitente ao longo do protocolo.

Gradiente VD/TP - Grupo Intermitente												
Animais	Basal	Cirurgia	Tempo (horas)									
			72	84	120	132	168					
300807	7	51	32	70	34	25	20	60	38	22	23	63
210907	2	49	6	50	36	10	10	40	24	11	6	57
261007	9	45	11	36	18	6	13	63	15	6	11	51
71107	8	63	15	64	41	12	18	63	35	17	25	60
30108	7	55	7	56	33	5	5	55	47	20	33	53
40108	14	53	11	58	32	17	15	58	36	14	12	67

Animais	180		240		252		288		300		336	
300807	32	20	17	58	30	17	30	59	37	19	16	63
210907	37	7	7	53	27	6	20	58	43	13	5	61
261007	38	22	15	48	34	22	16	29	20	16	20	68
71107	35	15	18	64	28	16	10	79	24	8	17	54
30108	44	24	14	56	25	14	17	55	27	19	14	46
40108	39	18	12	61	36	18	12	46	30	12	14	56

Animais	348		408	420		456		468		504		
300807	35	19	19	48	32	16	14	56	29	19	15	54
210907	45	12	1	53	47	11	-	-	-	-	-	-
261007	35	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71107	37	9	0	68	16	4	13	71	18	8	7	62
30108	39	12	10	47	28	9	5	52	39	11	9	45
40108	37	18	11	49	34	18	8	57	34	13	12	54

Animais	516		576		588		624		636		Eutanásia	
300807	31	10	-	-	-	-	12	57	38	20	13	60
210907	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	42
261007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	44
71107	23	7	16	55	30	18	-	-	-	-	14	47
30108	32	10	5	52	32	14	11	58	40	15	6	45
40108	33	14	11	57	36	12	8	56	37	18	14	42

valores em mmHg

Anexo 7: Medidas de relação VD/Ao do grupo Sham ao longo do protocolo.

Relação VD/Ao - Grupo Sham											
			Tempo (horas)								
Animal	Basal	Cirurgia	0	48	120	204	276	372	444	528	Eutanásia
220607	0,33	0,33	0,33	0,34	-	0,40	-	-	-	-	0,29
250408	0,34	0,39	0,39	0,35	0,35	0,32	-	-	0,33	-	0,35
50608	0,27	0,28	0,28	0,27	0,29	-	0,25	0,24	0,25	-	-
71108	0,33	0,32	0,32	-	-	-	-	-	-	-	0,33
160109M	0,23	0,29	0,29	0,29	0,29	0,28	0,29	0,30	0,27	0,26	0,18
160109F	0,27	0,28	0,28	0,29	0,27	0,30	0,30		0,27	0,29	0,25

Anexo 8: Medidas de relação VD/Ao do grupo Fixo ao longo do protocolo.

Relação VD/Ao - Grupo Fixo											
Animal	Basal	Cirurgia	Tempo (horas)								Eutanásia
			0	48	120	204	276	372	444	528	
150607	0,38	0,73	0,73	-	0,50	0,50	0,55	-	0,52	-	0,58
250707	0,34	0,69	0,69	0,52	0,66	0,52	-	0,61	0,60	-	-
270707	0,33	0,73	0,73	0,66	-	0,66	-	0,70	0,70	-	0,59
170807	0,33	0,73	0,73	-	0,66	0,60	-	0,51	0,58	0,58	0,52
51007	0,42	0,66	0,66	0,56	0,56	0,56	0,55	0,58	0,56	0,54	0,58
300508	0,23	0,61	0,61	0,45	0,46	0,46	0,48	0,51	0,51	-	0,49

Anexo 9: Medidas de relação VD/Ao do grupo Intermitente ao longo do protocolo.

Relação VD/Ao - Grupo Intermitente												
Animais	Basal	Cirurgia	Tempo (horas)									
			72		84		120		132		168	
300807	0,27	0,66	0,51	0,77	0,57	0,52	0,46	0,78	0,59	0,45	0,48	0,81
210907	-	0,74	0,44	0,70	0,61	0,49	0,45	0,70	0,51	0,42	0,40	0,77
261007	0,35	0,70	0,39	0,65	0,39	0,33	0,41	0,77	0,44	0,40	0,42	0,71
71107	0,35	0,74	0,38	0,72	0,58	0,37	0,43	0,71	-	-	-	-
30108	0,39	0,73	0,42	0,68	0,57	0,40	0,35	0,70	0,73	0,57	0,59	0,70
40108	0,42	0,74	0,37	0,70	0,48	0,39	0,36	0,70	0,50	0,42	0,32	0,70

Animais	180		240		252		288		300		336	
300807	0,52	0,41	0,44	0,78	0,54	0,48	0,48	0,75	0,56	0,44	0,43	0,77
210907	0,58	0,42	0,40	0,70	0,55	0,44	0,45	0,84	0,63	0,45	0,40	0,73
261007	0,51	0,47	0,46	0,70	0,56	0,46	0,58	0,67	0,46	0,46	0,37	0,70
71107	-	-	-	-	0,55	0,44	0,48	0,77	0,51	0,43	0,45	0,76
30108	0,66	0,55	0,48	0,71	0,54	0,49	-	-	-	-	0,36	0,69
40108	0,42	0,34	0,33	0,72	0,46	0,37	0,30	0,68	0,42	0,35	0,33	0,68

Animais	348		408		420		456		468		504	
300807	0,56	0,46	0,46	0,76	0,59	0,46	0,39	0,70	0,55	0,42	0,37	0,70
210907	0,55	0,42	0,43	0,70	0,57	0,43	-	-	-	-	-	-
261007	0,56	0,46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71107	0,58	0,45	0,43	0,71	0,55	0,40	0,40	0,71	0,53	0,44	0,41	0,72
30108	0,55	0,38	0,47	0,70	0,55	0,47	0,40	0,70	0,51	0,43	0,32	0,65
40108	0,47	0,37	0,33	0,66	0,47	0,30	0,36	0,72	0,38	0,37	0,35	0,71

Animais	516		576		588		624		636		Eutanásia	
300807	0,56	0,41	-	-	-	-	-	-	-	-	0,47	0,77
210907	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,58	0,76
261007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,43	0,64
71107	0,53	0,40	0,41	0,72	0,48	0,39	-	-	-	-	0,36	0,72
30108	0,48	0,44	0,38	0,45	0,39	0,37	0,38	0,45	0,39	0,37	0,40	0,80
40108	0,49	0,39	0,32	0,65	0,48	0,44	0,32	0,66	0,45	0,30	0,50	0,72

Anexo 10: Medidas de gradiente VD-TP de pico do grupo Sham ao longo do protocolo.

Gradiente VD/TP - Grupo Sham							
Animal	Basal	Cirurgia	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	eutanásia
220607	3	3	5	3	-	5	5
250408	7	11	12,5	7	3	4	10
50608	5	5	3,5	4	4,5	-	-
71108	2	1	-	-	-	9	9
160109M	0	8	11	9,5	8,5	5,5	8
160109F	4	6	12	7	8	7,5	4

valores em mmHg

Anexo 11: Medidas de gradiente VD-TP de pico do grupo Fixo ao longo do protocolo.

Gradiente VD/TP - Grupo Fixo							
Animal	Basal	Cirurgia	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	eutanásia
150607	13	42	39	38	34	31	38
250707	9	51	32	35	47	48	-
270707	9	46	52	48,5	47	49	23
170807	9	46	39	35	30,7	38	20
51007	7	48	43	36	33	28,5	24
300508	0	37	37,5	36,7	44	42	20

valores em mmHg

Anexo 12: Medidas de gradiente VD-TP de pico do grupo Intermitente ao longo do protocolo.

Gradiente VD/TP de pico - Grupo Intermitente							
Animal	Basal	Cirurgia	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	eutanásia
300807	7	51	64,3	60	52,7	57	60
210907	2	49	49	57,3	53	-	42
261007	9	45	50	48,3	-	-	44
71107	8	63	62,3	65,7	67	55	47
30108	7	55	62,3	52,3	48	55	45
40108	14	53	62,3	54,3	53,3	56,5	42

valores em mmHg

Anexo 13: Medidas de relação VD/Ao de pico do grupo Sham ao longo do protocolo.

Relação VD/Ao - Grupo Sham							
Animal	Basal	Cirurgia	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	eutanásia
220607	0,33	0,33	0,34	0,40	-	0,29	0,29
250408	0,34	0,39	0,35	0,32	0,33	0,29	0,35
50608	0,27	0,28	0,28	0,25	0,25	-	-
71108	0,33	0,32	-	-	-	0,33	0,33
160109M	0,23	0,29	0,29	0,29	0,29	0,23	0,18
160109F	0,27	0,28	0,28	0,30	0,27	0,30	0,25

Anexo 14: Medidas de relação VD/Ao de pico do grupo Fixo ao longo do protocolo.

Relação VD/Ao - Grupo Fixo							
Animal	Basal	Cirurgia	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	eutanásia
150607	0,38	0,73	0,50	0,53	0,54	0,52	0,58
250707	0,34	0,69	0,59	0,56	0,64	0,60	-
270707	0,33	0,73	0,66	0,66	0,68	0,70	0,59
170807	0,33	0,73	0,66	0,58	0,52	0,58	0,52
51007	0,42	0,66	0,56	0,56	0,57	0,55	0,58
300508	0,23	0,61	0,46	0,46	0,53	0,51	0,49

Anexo 15: Medidas de relação VD/Ao de pico do grupo Intermitente ao longo do protocolo

Relação VD/Ao - Grupo Intermitente							
Animal	Basal	Cirurgia	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	eutanásia
300807	0,27	0,66	0,79	0,77	0,72	-	0,77
210907	-	0,74	0,72	0,76	0,70	-	0,76
261007	0,35	0,70	0,71	0,69	-	-	0,64
71107	0,35	0,74	0,71	0,77	0,71	0,72	0,72
30108	0,39	0,73	0,69	0,70	0,68	0,45	0,80
40108	0,42	0,74	0,70	0,69	0,70	0,66	0,72

Anexo 16: Medidas ecocardiográficas de espessura da parede livre do ventrículo direito (VD), do septo interventricular (SIV) e da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) do grupo Sham ao longo do protocolo.

Grupo Sham															
Animal	Basal			1ª semana			2ª semana			3ª semana			4ª semana		
	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE
220607	-	-	-	0,43	0,72	0,71	0,43	0,72	0,7	0,44	0,73	0,7	-	-	-
250408	0,44	0,66	0,68	0,46	0,62	0,63	0,47	0,62	0,67	0,46	0,64	0,68	0,46	0,64	0,67
50608	0,47	0,69	0,67	0,47	0,71	0,66	0,46	0,62	0,64	0,46	0,7	0,69	0,45	0,63	0,66
71108	0,43	0,65	0,61	0,43	0,66	0,65	0,41	0,62	0,61	0,42	0,64	0,65	0,43	0,65	0,62
160109M	0,45	0,6	0,6	0,41	0,66	0,6	0,46	0,62	0,62	0,45	0,61	0,63	0,43	0,6	0,65
160109F	0,43	0,6	0,65	0,41	0,61	0,62	0,45	0,65	0,65	0,43	0,63	0,62	0,44	0,63	0,61

valores em cm

Anexo 17: Medidas ecocardiográficas de espessura da parede livre do ventrículo direito (VD), do septo interventricular (SIV) e da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) do grupo Fixo ao longo do protocolo.

Grupo Fixo															
Animal	Basal			1ª semana			2ª semana			3ª semana			4ª semana		
	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE
150607	-	-	-	-	0,66	0,61	-	-	-	-	-	-	-	-	-
250707	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,62	0,74	0,73	-	-	-
270707	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,52	0,77	0,76	0,51	0,72	0,72
170807	0,48	0,71	0,7	0,52	0,7	0,72	0,49	0,73	0,68	-	-	-	-	-	-
51007	0,52	0,69	0,73	0,63	0,74	0,7	0,6	0,73	0,7	0,58	0,73	0,7	0,59	0,7	0,71
300508	0,46	0,67	0,62	0,44	0,61	0,68	0,46	0,64	0,67	0,45	0,62	0,62	0,45	0,62	0,68

valores em cm

Anexo 18: Medidas ecocardiográficas de espessura da parede livre do ventrículo direito (VD), do septo interventricular (SIV) e da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) do grupo Intermitente ao longo do protocolo.

Grupo Intermitente															
Animal	Basal			1ª semana			2ª semana			3ª semana			4ª semana		
	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE
300807	0,47	0,71	0,67	0,5	0,71	0,71	0,53	0,7	0,68	0,57	0,7	0,7	0,57	0,71	0,71
210907	0,43	0,68	0,72	-	-	-	0,57	0,7	0,71	0,55	0,7	0,72	0,61	0,7	0,7
261007	0,44	0,7	0,73	0,51	0,73	0,7	0,65	0,7	0,7	0,54	0,76	0,69	0,61	0,72	0,71
71107	0,4	0,68	0,68	0,64	0,71	0,69	0,66	0,72	0,71	0,45	0,68	0,71	0,48	0,71	0,68
30108	0,43	0,69	0,69	0,49	0,72	0,72	0,55	0,72	0,67	0,58	0,65	0,67	0,56	0,67	0,66
40108	-	-	-	0,5	0,69	0,71	0,57	0,66	0,7	0,56	-	-	-	-	-

valores em cm

Anexo 19: Pesos normalizados das massas de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Sham.

Grupo SHAM			
animais	VD	SIV	VE
220607	1,09	1,05	1,69
250408	0,69	0,76	1,12
50608	0,82	1,03	1,33
71108	0,81	0,95	1,54
160109M	0,72	0,69	1,20
160109F	0,66	0,57	1,21

valores em g/kg

Anexo 20: Pesos normalizados das massas de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Fixo.

Grupo Fixo			
animais	VD	SIV	VE
150607	0,98	0,93	1,41
250707	1,39	1,32	1,78
270707	1,14	0,86	1,64
170807	1,01	0,88	1,50
51007	1,06	1,00	1,59
300508	0,89	0,78	1,18

valores em g/kg

Anexo 21: Pesos normalizados das massas de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Intermitente.

Grupo Intermitente			
animais	VD	SIV	VE
300807	1,22	0,96	1,57
210907	1,29	1,16	1,40
261007	1,49	1,27	1,56
71107	1,26	1,15	1,51
30108	1,05	0,96	1,45
40108	1,10	1,03	1,31

valores em g/kg

Anexo 22: Conteúdo de água das massas de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Sham.

Grupo Sham			
animais	VD	SIV	VE
220607	78,04	76,54	76,37
250408	77,52	79,47	78,91
50608	79,60	78,30	78,30
71108	80,17	79,18	79,26
160109M	80,86	79,55	77,90
160109F	78,80	79,26	78,65

valores em %

Anexo 23: Conteúdo de água das massas de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Fixo.

Grupo Fixo			
animais	VD	SIV	VE
150607	80,32	78,72	79,26
250707	80,05	82,03	82,68
270707	77,63	77,27	79,20
170807	78,67	76,70	77,78
51007	80,86	77,90	77,95
300508	80,47	79,85	78,63

valores em %

Anexo 24: Conteúdo de água das massas de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Intermitente.

Grupo Intermitente			
animais	VD	SIV	VE
300807	83,71	82,14	80,92
210907	81,29	80,49	83,52
261007	78,90	78,40	76,72
71107	78,81	78,01	79,01
30108	81,29	78,88	80,67
40108	79,66	78,91	79,03

valores em %

Anexo 25: Diâmetros dos cardiomiócitos de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Sham.

Grupo Sham			
animais	VD	SIV	VE
220607	12,08	11,24	11,25
250408	12,12	11,55	12,53
50608	10,76	14,57	14,43
71108	12,00	12,15	12,46
160109M	10,09	11,88	11,50
160109F	12,18	12,05	12,75

valores em micrômetros

Anexo 26: Diâmetros dos cardiomiócitos de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Fixo.

Grupo Fixo			
animais	VD	SIV	VE
150607	11,03	12,50	13,25
250707	12,69	11,37	14,54
270707	14,54	11,07	12,30
170807	13,37	10,34	12,46
51007	14,21	11,20	10,19
300508	11,90	11,45	11,33

valores em micrômetros

Anexo 27: Diâmetros dos cardiomiócitos de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Intermitente.

Grupo Intermitente			
animais	VD	SIV	VE
300807	12,96	11,95	10,87
210907	13,58	11,24	12,28
261007	12,12	12,82	10,58
71107	12,41	10,75	9,90
30108	15,04	12,16	13,17
40108	16,47	12,94	11,28

valores em micrômetros

Anexo 28: Diâmetros dos núcleos dos cardiomiócitos de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Sham.

Grupo Sham			
animais	VD	SIV	VE
220607	4,32	3,71	3,85
250408	3,77	4,17	3,77
50608	3,74	3,84	4,12
71108	3,95	3,42	3,9
160109M	3,78	4,06	3,76
160109F	4,07	3,59	3,96

valores em micrômetros

Anexo 29: Diâmetros dos núcleos dos cardiomiócitos de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Fixo.

Grupo Fixo			
animais	VD	SIV	VE
150607	4,12	3,43	3,71
250707	4,76	4,76	3,93
270707	5,11	4,02	3,50
170807	4,48	3,20	3,73
51007	4,18	3,27	3,51
300508	3,77	3,67	3,76

valores em micrômetros

Anexo 30: Diâmetros dos núcleos dos cardiomiócitos de ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Intermitente.

Grupo Intermitente			
animais	VD	SIV	VE
300807	4,06	3,38	3,54
210907	4,02	3,41	3,66
261007	5,93	4,92	3,78
71107	4,58	3,74	3,58
30108	5,03	3,55	3,90
40108	4,83	3,90	4,57

valores em micrômetros

Anexo 31: Percentagem da área de colágeno no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Sham.

Grupo SHAM			
animais	VD	SIV	VE
220607	2,56	1,73	1,95
250408	2,77	1,72	1,75
50608	3,79	2,11	3,15
71108	3,72	2,67	4,76
160109M	2,53	3,08	3,07
160109F	2,25	1,85	3,66

valores em %

Anexo 32: Percentagem da área de colágeno no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Fixo.

Grupo Fixo			
animais	VD	SIV	VE
150607	4,27	3,10	3,08
250707	4,16	1,20	2,56
270707	8,25	1,44	3,40
170807	4,65	2,83	3,93
51007	8,21	2,04	3,82
300508	5,40	4,54	6,81

valores em %

Anexo 33: Percentagem da área de colágeno no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Intermitente.

Grupo Intermitente			
animais	VD	SIV	VE
300807	3,24	1,57	6,10
210907	2,78	1,13	1,57
261007	2,36	2,73	1,96
71107	3,23	2,47	1,36
30108	3,17	2,34	2,43
40108	5,87	6,19	1,69

valores em %

Anexo 34: Proliferação celular de elementos contráteis e não contráteis no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Sham.

Grupo Sham						
	Interstício e Vasos			Cardiomiócitos		
Animal	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE
220607	2,75	5,00	1,33	0,33	0,42	0,00
250408	1,00	1,92	2,25	0,08	0,00	0,25
50608	3,58	0,58	0,92	0,75	0,08	0,00
71108	2,67	2,17	1,33	0,58	0,08	0,08
160109M	1,08	1,42	0,67	0,33	0,17	0,08
160109F	2,67	2,58	1,08	0,25	0,58	0,17

valores em células/campo

Anexo 35: Proliferação celular de elementos contráteis e não contráteis no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Fixo.

Grupo Fixo						
	Interstício e Vasos			Cardiomiócitos		
Animal	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE
150607	6,17	8,92	5,83	0,17	0,42	0,17
250707	8,50	3,42	1,00	0,83	0,50	0,08
270707	1,83	0,91	1,50	0,08	0,00	0,00
170807	2,50	2,00	2,17	0,42	0,25	0,50
51007	3,17	1,92	1,92	0,58	0,25	0,08
300508	1,25	1,25	1,08	0,25	0,17	0,25

valores em células/campo.

Anexo 36: Proliferação celular de elementos contráteis e não contráteis no ventrículo direito (VD), septo interventricular (SIV) e ventrículo esquerdo (VE) do grupo Intermitente.

Grupo Intermitente						
	Interstício e Vasos			Cardiomiócitos		
Animal	VD	SIV	VE	VD	SIV	VE
300807	3,92	2,00	3,33	0,67	0,50	0,92
210907	1,92	1,33	2,33	0,08	0,00	0,25
261007	4,75	4,08	1,92	0,58	0,83	0,08
71107	1,58	1,00	0,92	0,17	0,00	0,00
30108	1,75	1,08	2,42	0,33	0,25	0,42
40108	2,42	1,75	2,92	0,17	0,00	0,42

valores em células/campo

Referências Bibliográficas

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wilson NJ, Clarkson PM, Barratt-Boyes BG, Calder AL, Whitlock RM, Easthope RN, et al. Long-term outcome after the mustard repair for simple transposition of the great arteries. 28-year follow-up. *J Am Coll Cardiol* 1998;32(3):758-65.
2. Sarkar D, Bull C, Yates R, Wright D, Cullen S, Gewillig M, et al. Comparison of long-term outcomes of atrial repair of simple transposition with implications for a late arterial switch strategy. *Circulation* 1999;100(19 Suppl):II176-81.
3. Puley G, Siu S, Connelly M, Harrison D, Webb G, Williams WG, et al. Arrhythmia and survival in patients >18 years of age after the mustard procedure for complete transposition of the great arteries. *Am J Cardiol* 1999;83(7):1080-4.
4. Oechslin E, Jenni R. 40 years after the first atrial switch procedure in patients with transposition of the great arteries: long-term results in Toronto and Zurich. *Thorac Cardiovasc Surg* 2000;48(4):233-7.
5. Jatene AD, Fontes VF, Paulista PP, de Souza LC, Neger F, Galantier M, et al. Successful anatomic correction of transposition of the great vessels. A preliminary report. *Arq Bras Cardiol* 1975;28(4):461-64.

6. Mee RB. Severe right ventricular failure after Mustard or Senning operation. Two-stage repair: pulmonary artery banding and switch. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;92(3 Pt 1):385-90.
7. Reddy VM, McElhinney DB, Silverman NH, Hanley FL. The double switch procedure for anatomical repair of congenitally corrected transposition of the great arteries in infants and children. *Eur Heart J* 1997;18(9):1470-7.
8. Devaney EJ, Charpie JR, Ohye RG, Bove EL. Combined arterial switch and Senning operation for congenitally corrected transposition of the great arteries: patient selection and intermediate results. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125(3):500-7.
9. Imamura M, Drummond-Webb JJ, Murphy DJ, Jr., Prieto LR, Latson LA, Flamm SD, et al. Results of the double switch operation in the current era. *Ann Thorac Surg* 2000;70(1):100-5.
10. Reisman M, Rosengart RM, Degner TL, Sintek C, Khonsari S. Post-Mustard procedure pulmonary venous obstruction: An opportunity for anatomic correction with a one-stage arterial switch. *Pediatr Cardiol* 1999;20(4):301-3.
11. de Jong PL, Bogers AJ, Witsenburg M, Bos E. Arterial switch for pulmonary venous obstruction complicating Mustard procedure. *Ann Thorac Surg* 1995;59(4):1005-7.
12. Padalino MA, Stellin G, Brawn WJ, Fasoli G, Daliento L, Milanese O, et al. Arterial switch operation after left ventricular retraining in the adult. *Ann Thorac Surg* 2000;70(5):1753-7.

13. Winlaw DS, McGuirk SP, Balmer C, Langley SM, Griselli M, Stumper O, et al. Intention-to-treat analysis of pulmonary artery banding in conditions with a morphological right ventricle in the systemic circulation with a view to anatomic biventricular repair. *Circulation* 2005;111(4):405-11.
14. 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.
15. Poirier NC, Mee RB. Left ventricular reconditioning and anatomical correction for systemic right ventricular dysfunction. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu* 2000;3:198-215.
16. Poirier NC, Yu JH, Brizard CP, Mee RB. Long-term results of left ventricular reconditioning and anatomic correction for systemic right ventricular dysfunction after atrial switch procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127(4):975-81.
17. Assad RS, M.A.Q. R, Abduch MC, Valente AS, Andrade JL, Krieger JE, et al. Adjustable pulmonary trunk banding: comparison of two methods of acute subpulmonary ventricle hypertrophy. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2006;21(4):418-428.
18. Le Bret E, Lupoglazoff JM, Borenstein N, Fromont G, Laborde F, Bachet 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.

19. Yacoub MH, Radley-Smith R, Maclaurin R. Two-stage operation for anatomical correction of transposition of the great arteries with intact interventricular septum. *Lancet* 1977;1(8025):1275-8.
20. Yacoub M, Bernhard A, Lange PE, Radley-Smith R, Keck EW, Stephan E, et al. Clinical and Hemodynamic Results of the Two-stage Anatomical Correction of Simple Transposition of the Great Arteries. *Circulation* 1980;62(1):190-196.
21. Bosisio IBJ. Avaliação do desempenho do ventrículo esquerdo na operação de Jatene em Transposição das Grandes Artérias com septo interventricular íntegro após preparo rápido. [Doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1997.
22. Ilbawi MN, Idriss FS, DeLeon SY, Muster AJ, Gidding SS, Duffy CE, et al. Preparation of the left ventricle for anatomical correction in patients with simple transposition of the great arteries. Surgical guidelines. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987;94(1):87-94.
23. Benzaquen BS, Webb GD, Colman JM, Therrien J. Arterial switch operation after Mustard procedures in adult patients with transposition of the great arteries: is it time to revise our strategy? *Am Heart J* 2004;147(3):E8.
24. 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):1203-8.

25. Lacour-Gayet F, Piot D, Zoghbi J, Serraf A, Gruber P, Mace L, et al. Surgical management and indication of left ventricular retraining in arterial switch for transposition of the great arteries with intact ventricular septum. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;20(4):824-9.
26. Gontijo Filho B, Fantini FA, Martins C, Lopes RM, Pereira RST, Rabelo SM, et al. Surgical Strategy for Transposition of Great Arteries with Intact Ventricular Septum after the Neonatal Period. *Brazilian Archives of Cardiology* 2005;85(1):39-44.
27. Jatene FB, Bosisio IB, Jatene MB, Souza LC, Barbero-Marcial M, Jatene AD. Late results (50 to 182 months) of the Jatene operation. *Eur J Cardiothorac Surg* 1992;6(11):575-7; discussion 578.
28. Yamagishi M. [Technical modification and late results of arterial switch operation]. *Kyobu Geka* 2008;61(4):297-302.
29. Aoki M, Fujiwara T, Nakajima H, Aotsuka H. [Arterial switch operation: late results and a future perspective]. *Kyobu Geka* 2008;61(4):268-73.
30. 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.
31. Dias CA, Assad RS, Caneo LF, Abduch MC, 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):328-337.

32. Dias CA, Assad RS, Caneo LF, Abduch MC, Aiello VD, Dias AR, et al. Reversible pulmonary trunk banding. II. An experimental model for rapid pulmonary ventricular hypertrophy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124(5):999-1006.
33. Valente AS, Assad RS, Abduch MC, Silva GJ, Thomaz PG, Miana LA, et al. [IV Pulmonary trunk reversible banding: analysis of right ventricle acute hypertrophy in an intermittent loading experimental model]. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2008;23(1):60-9.
34. 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.
35. Sano T, Riesenfeld T, Karl TR, Wilkinson JL. Intermediate-term outcome after intracardiac repair of associated cardiac defects in patients with atrioventricular and ventriculoarterial discordance. *Circulation* 1995;92(9 Suppl):II272-8.
36. Graham TP, Jr., Parrish MD, Boucek RJ, Jr., Boerth RC, Breitwieser JA, Thompson S, et al. Assessment of ventricular size and function in congenitally corrected transposition of the great arteries. *Am J Cardiol* 1983;51(2):244-51.

37. Parrish MD, Graham TP, Jr., Bender HW, Jones JP, Patton J, Partain CL. Radionuclide angiographic evaluation of right and left ventricular function during exercise after repair of transposition of the great arteries. Comparison with normal subjects and patients with congenitally corrected transposition. *Circulation* 1983;67(1):178-83.
38. Dimas AP, Moodie DS, Sterba R, Gill CC. Long-term function of the morphologic right ventricle in adult patients with corrected transposition of the great arteries. *Am Heart J* 1989;118(3):526-30.
39. Benson LN, Burns R, Schwaiger M, Schelbert HR, Lewis AB, Freedom RM, et al. Radionuclide angiographic evaluation of ventricular function in isolated congenitally corrected transposition of the great arteries. *Am J Cardiol* 1986;58(3):319-24.
40. Peterson RJ, Franch RH, Fajman WA, Jones RH. Comparison of cardiac function in surgically corrected and congenitally corrected transposition of the great arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988;96(2):227-36.
41. Turina MI, Siebenmann R, von Segesser L, Schonbeck M, Senning A. Late functional deterioration after atrial correction for transposition of the great arteries. *Circulation* 1989;80(3 Pt 1):1162-7.
42. Gelatt M, Hamilton RM, McCrindle BW, Connelly M, Davis A, Harris L, et al. Arrhythmia and mortality after the Mustard procedure: a 30-year single-center experience. *J Am Coll Cardiol* 1997;29(1):194-201.
43. Kirjavainen M, Happonen JM, Louhimo I. Late results of Senning operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;117(3):488-95.

44. Quinn DW, McGuirk SP, Metha C, Nightingale P, de Giovanni JV, Dhillon R, et al. The morphologic left ventricle that requires training by means of pulmonary artery banding before the double-switch procedure for congenitally corrected transposition of the great arteries is at risk of late dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;135(5):1137-44, 1144 e1-2.
45. Abduch MC, Assad RS, Rodriguez MQ, Valente AS, Andrade JL, Demarchi LM, et al. Reversible pulmonary trunk banding III: assessment of myocardial adaptive mechanisms-contribution of cell proliferation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;133(6):1510-6.
46. Leeuwenburgh BP, Helbing WA, Wenink AC, Steendijk P, de Jong R, Dreef EJ, et al. Chronic right ventricular pressure overload results in a hyperplastic rather than a hypertrophic myocardial response. *J Anat* 2008;212(3):286-94.
47. Langley SM, Winlaw DS, Stumper O, Dhillon R, De Giovanni JV, Wright JG, et al. Midterm results after restoration of the morphologically left ventricle to the systemic circulation in patients with congenitally corrected transposition of the great arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125(6):1229-41.
48. Oliveira EM, Krieger JE. Hipertrofia Cardíaca e Treinamento Físico. Aspectos Moleculares. *Hipertensão* 2002;5:73-78.
49. Keech GB, Smith AC, Swindle MM, Koide M, Carabello BA, DeFreyte G. An adult canine model of progressive left ventricular pressure overload. *J Invest Surg* 1997;10(5):295-304.

50. 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.
51. Muller WH, Jr., Danimann JF, Jr. The treatment of certain congenital malformations of the heart by the creation of pulmonic stenosis to reduce pulmonary hypertension and excessive pulmonary blood flow; a preliminary report. *Surg Gynecol Obstet* 1952;95(2):213-9.
52. Albert HM, Fowler RL, Craighead CC, Glass BA, Atik M. Pulmonary artery banding. A treatment for infants with intractable cardiac failure due to interventricular septal defects. *Circulation* 1961;23:16-20.
53. Goldberg SJ, Low JC, Zane WG, Kurrasch M. The use of umbilical tape in pulmonary banding. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1966;52(3):433-6.
54. Jacobson JH, 2nd, McAllister FF. A method for the controlled occlusion of larger blood vessels. *Ann Surg* 1957;145(3):334-43.
55. Bishop SP, Cole CR. Production of externally controlled progressive pulmonic stenosis in the dog. *J Appl Physiol* 1969;26(5):659-63.
56. Shane RA, Kimmell GO, Jaques WE, Campbell GS. Adjustable prosthesis for pulmonary artery banding. Comparison with umbilical tape and teflon bands. *Circulation* 1967;35(4 Suppl):I148-51.
57. Goldblatt A, Bernhard WF, Nadas AS, Gross RE. Pulmonary Artery Banding: Indications and Results in Infants and Children. *Circulation* 1965;32:172-84.

58. Osborn JR, Hall RJ, Winn DF, Jr., Capper RS, Blake HA. An unusual late complication of pulmonary artery banding. *Circulation* 1966;34(1):61-4.
59. Edmunds LH, Jr., Rudy LW, Heymann MA, Boucher JK. An adjustable pulmonary arterial band. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1972;18(0):217-25.
60. Simpson JA, Wise WS, Bulloch RT, Campbell GS. Chronic pulmonary artery occlusion with a silastic transvenous balloon catheter. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1968;14:335-7.
61. Park SC, Griffith BP, Siewers RD, Hardesty RL, Ladowski J, Zoltun RA, et al. A percutaneously adjustable device for banding of the pulmonary trunk. *Int J Cardiol* 1985;9(4):477-84.
62. Muraoka R, Yokota M, Aoshima M, Nomoto S, Kyoku I, Kobayashi A, et al. Extrathoracically adjustable pulmonary artery banding. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983;86(4):582-6.
63. Dajee H, Benson L, Laks H. An improved method of pulmonary artery banding. *Ann Thorac Surg* 1984;37(3):254-7.
64. Solis E, Heck CF, Seward JB, Kaye MP. Percutaneously adjustable pulmonary artery band. *Ann Thorac Surg* 1986;41(1):65-9.
65. Assad RS, Cardarelli M, Abduch MC, Aiello VD, Maizato M, Jatene AD. Bandagem Reversível do Tronco Pulmonar: Modelo Experimental para o Preparo Rápido do Ventrículo Pulmonar. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 1998;13(3):239-248.

66. Assad RS, Cardarelli M, Abduch MC, Aiello VD, Maizato M, Barbero-Marcial M, et al. Reversible pulmonary trunk banding with a balloon catheter: assessment of rapid pulmonary ventricular hypertrophy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120(1):66-72.
67. Caneo LF, Dias CA, Assad RS, Abduch MC, Aiello VD, Lourenço JR D, et al. Preparo do ventrículo subpulmonar através de dois modelos ajustáveis de estenose do tronco pulmonar: Estudo experimental. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2001;16(1):35-48.
68. Rabello RR, Assad RS, Krieger JE, Abduch MC, Oliveira SA. Análise da enzima conversora da angiotensina na hipertrofia aguda do ventrículo direito em modelo experimental de estenose endovascular ajustável do tronco pulmonar. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2001;16(4):363-75.
69. Assad RS, Zamith MM, Silva MF, Thomaz PG, Miana LA, Guerra VC, et al. Nova Bandagem Ajustável das Artérias Pulmonares na Síndrome de Hipoplasia de Câmaras Esquerdas. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2007;22(1):41-48.
70. Leeuwenburgh BP, Schoof PH, Steendijk P, Baan J, Mooi WJ, Helbing WA. Chronic and adjustable pulmonary artery banding. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125(2):231-7.
71. Boudjemline Y, Pineau E, Bonnet C, Mollet A, Abadir S, Bonnet D, et al. Off-label use of an adjustable gastric banding system for pulmonary artery banding. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;131(5):1130-5.

72. Marini D, Pineau E, Avenet PL, Mollet A, Abadir S, Bonnet D, et al. [Utilisation of gastric ring systems for pulmonary artery banding: an animal study.]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2007;100(5):386-93.
73. Corno AF, Sekarski N, von Segesser LK. Remote control of pulmonary blood flow: a dream comes true. *Swiss Med Wkly* 2002;132(29-30):423-4.
74. Corno AF, Bonnet D, Sekarski N, Sidi D, Vouhe P, von Segesser LK. Remote control of pulmonary blood flow: initial clinical experience. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126(6):1775-80.
75. Corno AF, Sekarski N, Bernath MA, Payot M, Tozzi P, von Segesser LK. Pulmonary artery banding: long-term telemetric adjustment. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;23(3):317-22.
76. Corno AF, Prosi M, Fridez P, Zunino P, Quarteroni A, von Segesser LK. The non-circular shape of FloWatch-PAB prevents the need for pulmonary artery reconstruction after banding. Computational fluid dynamics and clinical correlations. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;29(1):93-9.
77. Bonnet D, Corno AF, Sidi D, Sekarski N, Beghetti M, Schulze-Neick I, et al. Early clinical results of the telemetric adjustable pulmonary artery banding FloWatch-PAB. *Circulation* 2004;110(11 Suppl 1):II158-63.

78. 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(12):1440-63.
79. Fulton RM, Hutchinson EC, Jones AM. Ventricular weight in cardiac hypertrophy. *Br Heart J* 1952;14(3):413-20.
80. Binotto MA, Higuchi Mde L, Aiello VD. Left ventricular remodeling in hearts with tricuspid atresia: morphologic observations and possible basis for ventricular dysfunction after surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126(4):1026-32.
81. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29(4):577-580.
82. Flores JM, Sanchez MA, Nieto A, Sanchez B, Gonzalez M, Garcia P. Detection of estrogen alpha and progesterone receptors and cell proliferation in the uterus during early pregnancy in the goat. *Theriogenology* 2001;56(2):341-55.
83. de Louw AJ, Vles HS, Freling G, Herpers MJ, Arends JW, Kleef M. The morphological effects of a radio frequency lesion adjacent to the dorsal root ganglion (RF-DRG)--an experimental study in the goat. *Eur J Pain* 2001;5(2):169-74.

84. Faber MJ, Dalinghaus M, Lankhuizen IM, Steendijk P, Hop WC, Schoemaker RG, et al. Right and left ventricular function after chronic pulmonary artery banding in rats assessed with biventricular pressure-volume loops. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291(4):H1580-6.
85. Vida VL, Angelini A, Ausoni S, Bilardi A, Ori C, Vlassich F, et al. Age is a risk factor for maladaptive changes in rats exposed to increased pressure loading of the right ventricular myocardium. *Cardiol Young* 2007;17(2):202-11.
86. 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.
87. Honjo O, Kawada M, Akagi T, Kotani Y, Ishino K, Sano S. Left ventricular retraining and anatomic correction in teenage patient with congenitally corrected transposition of the great arteries. *Circ J* 2007;71(4):613-6.
88. Corno AF, Ladusans EJ, Pozzi M, Kerr S. FloWatch versus conventional pulmonary artery banding. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;134(6):1413-9; discussion 1419-20.
89. Pettersen E, Fredriksen PM, Urheim S, Thaulow E, Smith HJ, Smevik B, et al. Ventricular function in patients with transposition of the great arteries operated with arterial switch. *Am J Cardiol* 2009;104(4):583-9.

90. Sade LE, Gulmez O, Ozyer U, Ozgul E, Agildere M, Muderrisoglu H. Tissue Doppler study of the right ventricle with a multisegmental approach: comparison with cardiac magnetic resonance imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22(4):361-8.
91. Cusimano RJ, Ashe KA, Abel JG, Lichtenstein SV, Salerno TA. A simple model of right ventricular hypertrophy. *J Invest Surg* 1988;1(1):45-53.
92. Helvind MH, McCarthy JF, Imamura M, Prieto L, Sarris GE, Drummond-Webb JJ, et al. Ventriculo-arterial discordance: switching the morphologically left ventricle into the systemic circulation after 3 months of age. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998;14(2):173-8.
93. Di Donato RM, Fujii AM, Jonas RA, Castaneda AR. Age-dependent ventricular response to pressure overload. Considerations for the arterial switch operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104(3):713-22.
94. Leeuwenburgh BP, Helbing WA, Steendijk P, Schoof PH, Baan J. Biventricular systolic function in young lambs subject to chronic systemic right ventricular pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281(6):H2697-704.
95. Tei C, Ling LH, Hodge DO, Bailey KR, Oh JK, Rodeheffer RJ, et al. New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: a simple and reproducible measure of cardiac function-a study in normals and dilated cardiomyopathy. *J Cardiol* 1995;26(6):357-66.

96. Tei C, Nishimura RA, Seward JB, Tajik AJ. Noninvasive Doppler-derived myocardial performance index: correlation with simultaneous measurements of cardiac catheterization measurements. *J Am Soc Echocardiogr* 1997;10(2):169-78.
97. Horton KD, Meece RW, Hill JC. Assessment of the right ventricle by echocardiography: a primer for cardiac sonographers. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22(7):776-92; quiz 861-2.
98. Takeuchi D, Nakanishi T, Tomimatsu H, Nakazawa M. Evaluation of right ventricular performance long after the atrial switch operation for transposition of the great arteries using the Doppler Tei index. *Pediatr Cardiol* 2006;27(1):78-83.