

## Influência da Pós-Carga sobre a Taxa de Variação da Tensão Desenvolvida (dT/dt). Estudo em Músculo Cardíaco Isolado

Marina Politi Okoshi, Paulo José Ferreira Tucci, Katashi Okoshi, Carlos Roberto Padovani, Antônio Carlos Cicogna Botucatu, SP

**Objetivo** - Avaliar a influência da pós-carga sobre a taxa de variação da tensão desenvolvida (dT/dt) em músculo isolado.

**Métodos** - Músculos papilares isolados de ventrículo esquerdo de ratos Wistar foram estudados em contrações isométrica e isotônicas contra pós-carga, em solução de Krebs-Henseleit, com concentração de cálcio de 2,52mM, frequência de estímulos de 0,2Hz e temperatura de 28°C. O comprimento diastólico da fibra (pré-carga) foi mantido constante. A tensão máxima desenvolvida (TD) e dT/dt foram medidas durante elevações progressivas da pós-carga (25, 50, 75 e 100% da TD).

**Resultados** - Não ocorreu variação significativa ( $p > 0,05$ ) na dT/dt entre as alterações de pós-carga correspondentes a 50, 75 e 100% da tensão máxima desenvolvida. O valor da dT/dt foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em pós-carga de 25%, comparativamente à de 75% da TD.

**Conclusão** - Os resultados sugerem que elevações isoladas da pós-carga, a partir de 50% da tensão máxima desenvolvida, não acarretam variações nos valores da dT/dt.

**Palavras-chave:** músculo papilar isolado, pós-carga, dT/dt

### Effects of Afterload on Peak Rate of Tension Rise (dT/dt). Study in Isolated Cardiac Muscles

**Purpose** - To evaluate the effects of afterload on peak rate of tension rise (dT/dt) in the isolated muscle.

**Methods** - Left ventricular papillary muscles from Wistar rats were studied in isometric and isotonic afterloaded contractions. Muscles were analysed in Krebs-Henseleit solution with calcium concentration of 2.52mM at 28°C. The resting muscle length (preload) was maintained constant. The peak isometric developed tension (DT) and dT/dt were measured during increases of afterload (25, 50, 75 and 100% from DT).

**Results** - A rise in afterload corresponding to 50, 75 and 100% of DT, did not cause an increase in dT/dt values ( $p > 0.05$ ). The dT/dt value decreased ( $p < 0.05$ ) when afterload was changed from 75% to 25% of DT.

**Conclusion** - The data suggest that an increase in the afterload from 50% of the DT did not promote changes in the dT/dt.

**Key-words:** papillary muscle, after load, dT/dt

Arq Bras Cardiol, volume 65 (n° 5), 417-421, 1995

Em estudos conduzidos com o objetivo de analisar o comportamento da contratilidade miocárdica, em corações intactos ou em amostras isoladas de miocárdio, um parâmetro comumente utilizado como indicador do estado contrátil é a taxa de variação, no tempo, da força desenvolvida durante a contração: a 1ª derivada temporal da pressão ventricular (dp/dt), no caso de avaliações conduzidas no ventrículo, ou da tensão (dT/dt) quando são utilizadas amostras isoladas de miocárdio<sup>1-4</sup>.

Os conceitos mais tradicionais a respeito da fisiologia da contração miocárdica consideram que os seguintes fatores fisiológicos<sup>5-10</sup> podem interferir sobre os

valores da dp/dt e da dT/dt: 1) intervalo de tempo entre as contrações (frequência); 2) grau de estiramento diastólico do miocárdio (pré-carga) e 3) força desenvolvida durante a contração (pós-carga). Admite-se que as influências da frequência de contrações e da pré-carga sobre os valores da dp/dt e da dT/dt se processam por interferência direta sobre o estado contrátil. Por esta razão, as variações da dp/dt e da dT/dt que se estabelecem em associação com modificações da frequência de contrações ou da pré-carga são consideradas como expressões de flutuações do inotropismo<sup>11-13</sup>.

Não existe consenso na literatura a respeito da influência da pós-carga sobre a taxa de variação de força do miocárdio. Enquanto diversos pesquisadores observaram que a elevação da pós-carga promove aumento da dp/dt<sup>5,11,14-19</sup>, outros autores verificaram que a elevação da pressão arterial (PA) não interfere na dp/dt<sup>12,20-24</sup>. Por outro lado, também constatou-se que a redução dos níveis

Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp,  
Apoio: Fundunesp - Proc. 584/92, Fapesp - Proc. 91/3666-9  
Correspondência: Marina Politi Okoshi  
Caixa Postal 584 - CEP 18618-970 - Botucatu, SP  
Recebido para publicação em 16/3/95  
Aceito em 5/6/95

pressóricos pode acarretar queda nos valores deste parâmetro<sup>17,22</sup>. Estes resultados divergentes podem ser decorrentes da influência de outras variáveis sobre a dp/dt, além da pós-carga, como pré-carga e pressão de perfusão ou fluxo coronariano.

A presente investigação foi realizada com a finalidade de obter informações adicionais para melhor compreensão da interação entre pós-carga e dT/dt. Foi utilizada a preparação de músculo papilar isolado, que permite o estabelecimento preciso do comprimento em repouso da fibra cardíaca (pré-carga) e da carga contra a qual o músculo encurta (pós-carga). A manutenção do comprimento diastólico do músculo papilar, durante elevações seqüenciais da pós-carga, permite afastar a influência da pré-carga nos valores da dT/dt ocorridos durante as elevações da pós-carga. Além disso, o uso desta preparação permite também eliminar a influência de variações da perfusão miocárdica na dT/dt, uma vez que o músculo cardíaco isolado é suportado somente pelo processo de difusão.

### Métodos

Foram utilizados 10 ratos machos, Wistar, provenientes do Biotério do Campus de Botucatu, pesando entre 204 e 232g ( $218 \pm 10$ g). Os animais foram sacrificados, sem prévia anestesia, por meio de decapitação. Após o sacrifício dos ratos, os tórax foram abertos, os corações removidos rapidamente e colocados em recipiente contendo solução de Krebs-Henseleit 25 à temperatura de 28°C e previamente oxigenada durante 10min com 95% de oxigênio (O<sub>2</sub>) e 5% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Após os corações permanecerem aproximadamente 1min na solução, o ventrículo direito foi dissecado, o septo interventricular foi exposto e dividido ao meio, a fim de permitir a exposição adequada dos dois músculos papilares, anterior e posterior, do ventrículo esquerdo (VE). A seguir, completou-se a divisão do VE em duas partes, cada uma contendo o seu músculo papilar. Para o experimento, procurou-se escolher o músculo mais longo e fino, de conformação aproximadamente cilíndrica, que não apresentasse aderências às estruturas vizinhas. O músculo foi cuidadosamente dissecado, em câmara contendo solução de Krebs-Henseleit, previamente oxigenada e aquecida a 28°C. Durante a dissecação manteve-se segmentos do septo interventricular e da parede livre do VE, nas extremidades do músculo. Este excesso de musculatura tinha como finalidade evitar a lesão das extremidades dos músculos no momento em que os mesmos fossem presos a anéis de aço inoxidável (diâmetro interno de 3,8 a 4,2mm). O músculo papilar, após ter suas extremidades presas aos anéis foram, rapidamente, transferidos para câmara de vidro contendo solução de Krebs-Henseleit, continuamente oxigenada com 95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub> e mantida à temperatura de 28°C, graças ao uso de banho circulante (MLW - U2C).

O músculo papilar, imerso na solução, foi posicionado

verticalmente, sua extremidade inferior foi acoplada a fio de aço inoxidável de 0,38mm de diâmetro. O fio de aço atravessava uma fenda, preenchida por mercúrio, existente no assoalho da câmara de vidro e era conectado a transdutor de força (Kyowa 120T - 20B). A extremidade tendinosa superior do músculo foi conectada a fio de aço, semelhante ao anterior, que estava ligado à extremidade do braço longo de alavanca isotônica. Sobre esta extremidade, existia um micrômetro que, controlando a extensão dos movimentos da alavanca, permitia ajustar o comprimento de repouso do músculo. Na extremidade do braço curto da alavanca foi suspenso, por fio de aço, peso (pré-carga) de 2,5 a 5,0g que tinha por finalidade promover estiramento inicial do músculo papilar. Sobre o braço curto da alavanca, foi montado um transdutor de comprimento (Hewlett-Packard, modelo 7 DCDT-050) que media variações de comprimento muscular, durante as contrações. A alavanca era de magnésio e alumínio, rígida e leve, sendo a razão entre os braços longo e curto de 4:1.

Os músculos papilares eram estimulados 12 vezes por minuto, por meio de eletrodos de platina tipo agulha (E8 - Grass), colocados paralelamente ao eixo longitudinal dos músculos. Os eletrodos eram acoplados a estimulador elétrico, que emitia pulsos de onda quadrada de 5ms de duração. A voltagem utilizada foi, aproximadamente, 10% maior que o valor mínimo necessário para provocar resposta mecânica máxima do músculo (12 a 15 volts).

A composição da solução de Krebs-Henseleit (11) utilizada, em milimoles por litro, foi: 118,5 NaCl; 4,69 KCl; 2,52 CaCl<sub>2</sub>; 1,16 MgSO<sub>4</sub>; 1,18 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 5,50 glicose e 25,88 NaHCO<sub>3</sub>. O pH da solução variou de 7,38 a 7,42 e a pressão parcial de oxigênio da solução foi mantida entre 550 a 600mmHg.

Após período de 60min, durante os quais os músculos contraíram somente com a pré-carga (contração isotônica), foi colocada carga adicional de 50g (pós-carga) na extremidade do braço curto da alavanca. A carga total (pré + pós-carga) impedia os músculos de se encurtarem, passando os mesmos a desenvolverem somente força (contração isométrica). Excessivo estiramento muscular, que poderia ser causado pela adição da pós-carga, foi evitado pelo micrômetro, que impedia a movimentação da alavanca. Depois do músculo ter estabilizado em contração isométrica, o mesmo foi progressivamente estirado, até a tensão desenvolvida atingir o valor máximo. O comprimento diastólico da fibra muscular, associado com a tensão máxima desenvolvida durante contrações isométricas, denomina-se L<sub>max</sub>. Após atingir-se L<sub>max</sub>, o músculo foi novamente colocado em contração isotônica durante 5min. A seguir, o músculo foi recolocado em contração isométrica, para determinação final de L<sub>max</sub>. O registro das variáveis foi iniciado após verificar-se que o músculo permaneceu, durante 15min, em contração isométrica estável.

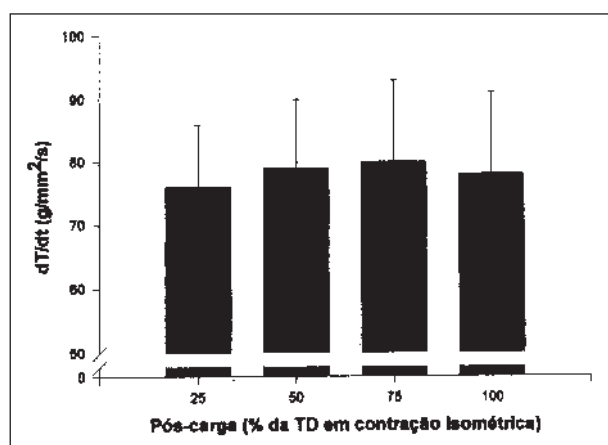


Fig. 1- Comportamento da taxa de variação da tensão desenvolvida (dT/dt) durante elevações progressivas da pós-carga. A pós-carga está expressa em porcentagem da tensão máxima desenvolvida em contração isométrica. Os músculos foram estudados em Lmax (comprimento diastólico da fibra muscular associado a tensão máxima desenvolvida). \* p < 0,05 quando comparado ao valor da dT/dt em pós-carga correspondente a 25% da tensão máxima desenvolvida.

Em contração isométrica, os seguintes parâmetros foram analisados: tensão máxima desenvolvida (TD), tensão de repouso (TR), tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida (TPT), velocidade de variação da tensão desenvolvida (dT/dt) e tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo (TR50). Em contração isotônica com pós-carga, analisaram-se: TD, TR e dT/dt.

Após o registro da contração isométrica em Lmax, os músculos foram colocados, no mesmo comprimento de repouso, em contrações isotônicas com três diferentes pós-cargas. A escolha das pós-cargas foi realizada de maneira que a TD atingisse 25, 50 e 75% da TD obtida em contração isométrica. O tempo entre as variações das pós-cargas foi de 4min.

A dT/dt foi determinada por método gráfico. Para tanto, utilizou-se curva de tensão desenvolvida que foi registrada estando a velocidade de transporte do papel regulada para 100mm/s. Por tentativa, era identificada e traçada a tangente à fase sistólica da curva que tivesse a maior inclinação. A análise da reta obtida permitia estimar a dT/dt, uma vez que seu valor corresponde ao coeficiente angular da reta, multiplicado pelo fator de calibração das tensões.

Os valores de TD, TR e dT/dt foram divididos pela área seccional do músculo. Este processo de normalização permite comparar o desempenho de músculos de diferentes tamanhos. Os valores de tensão divididos pelas correspondentes áreas seccionais foram expressos em g/mm<sup>2</sup>. Os parâmetros utilizados para caracterizar os músculos papilares, individualmente, foram: comprimento (mm), peso (mg) e área seccional (mm<sup>2</sup>). O comprimento, em Lmax, foi medido com auxílio de paquímetro (Mitutoyo Vernier Caliper - 150mm). A porção do músculo entre os anéis de

aço foi cortada, submetida a secagem com papel de filtro e pesada. A área seccional foi calculada dividindo-se o peso do músculo pelo seu comprimento, considerando-se que o músculo papilar tem forma cilíndrica, uniforme e peso específico aproximadamente unitário.

Os dados obtidos são apresentados como média ± desvio padrão. As comparações entre os valores da dT/dt nas diferentes pós-cargas foram feitas por análise multivariada de medidas repetidas. O nível de significância foi considerado 5%.

## Resultados

Nas tabelas I e II estão expostos os resultados obtidos nos experimentos. A tabela I mostra os valores basses obtidos em contração isométrica e na tabela II os valores da TD e dT/dt durante os aumentos progressivos da pós-carga. Foi identificada diferença significativa entre os valores da dT/dt (p < 0,05) somente entre as variações de pós-carga com valores de 25 e 75% da TD em contração isométrica (fig. 1). Não houve diferença significativa entre os valores da dT/dt correspondentes às outras pós-cargas.

## Discussão

O resultado do presente trabalho mostrou que em músculos cardíacos isolados, mantidos em comprimento diastólico constante, a elevação da pós-carga na faixa compreendida entre 50 e 100% da tensão máxima desenvolvida não acarretou variação no valor da dT/dt. Entretanto, quando se utilizou pós-carga com valor baixo, como 25% da tensão máxima desenvolvida, a dT/dt assumiu valores inferiores àqueles verificados com pós-

Tabela I - Parâmetros cardíacos obtidos em contração isométrica em Lmax

TD (g/mm <sup>2</sup> )	TR (g/mm <sup>2</sup> )	TPT (ms)	TR50 (ms)	dT/dt (g/mm <sup>2</sup> /s)	AS (mm <sup>2</sup> )
8,21±1,62	0,55±0,19	186±14	236±30	76±13	0,75±0,11

Valores expressos em média ± desvio-padrão; nº de preparações- 10; TD- tensão máxima desenvolvida; TR- tensão de repouso; TPT- tempo para a tensão desenvolvida atingir o valor máximo; TR50- tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% do seu valor máximo; dT/dt- taxa de variação da tensão desenvolvida; AS- área seccional; Lmax- comprimento da fibra associado a tensão máxima desenvolvida

Tabela II - Efeito da elevação da pós-carga sobre a dT/dt

	Pós-carga (% da TD em contração isométrica)			
	25	50	75	100
TD (g/mm <sup>2</sup> )	2,00±0,50	4,00±0,88	6,11±25	8,21±1,62
dT/dt(g/mm <sup>2</sup> /s)	76±10	79±11	80±13	78±13

Valores expressos em média + desvio padrão; número de preparações- 10; TD- tensão desenvolvida; dT/dt- velocidade de variação da tensão desenvolvida; \* p<0,05 quando comparado ao valor da dT/dt obtida em pós-carga correspondente a 25% da tensão máxima desenvolvida

carga de 75% (fig. 1, tab. II).

Autores trabalhando em coração intacto têm alertado para dificuldade em se analisar o valor da dp/dt em situação de pós-carga baixa. A antecipação do período de ejeção e, conseqüentemente, a diminuição do período de contração isovolumétrica, reduzem o valor da dp/dt, por impedirem a manifestação do seu valor máximo<sup>12,22</sup>. Em condição de pós-carga reduzida, a dp/dt não seria representativa do desempenho mecânico máximo que o músculo cardíaco é capaz de desenvolver. Se a observação acima for aplicada ao presente experimento e, portanto, não se utilizar o valor da dT/dt em pós-carga de 25% da TD, pode-se concluir que elevações seriadas da pós-carga em músculo isolado, mantido o comprimento de repouso fixo, não acarretam variações na dT/dt.

Nossos resultados, assim interpretados, são discordantes dos obtidos por Konishi e col<sup>10</sup>, em músculo papilar isolado de rato, em condições semelhantes às deste estudo. Os autores verificaram que elevações seriadas de pós-carga promoveram aumentos significantes da dT/dt. A explicação para estes resultados divergentes poderia se assentar no fato que Konishi e col usaram valores de pós-carga inferiores ao utilizados no presente experimento.

Em apoio aos nossos resultados, existem os trabalhos recentes de Bregagnollo e col<sup>12</sup> e Fioreto<sup>24</sup>. Bregagnollo e col<sup>12</sup> obtiveram dados, em coração in situ de cães, que se coadunam com o conceito que elevações da PA não modificam a dp/dt. Os autores observaram que aumento transitório da PA não se acompanhava de variações da dp/dt; entretanto, elevações sustentadas da PA promoveram

aumento significante da dp/dt. Os resultados foram interpretados como indicadores de que a hipertensão, de per se, não afeta a dp/dt. Os ajustes cardíacos, tempo dependentes, promovidos pela sobrecarga pressórica resultariam, por interferência do mecanismo de Frank-Starling, em estimulação inotrópica e, conseqüentemente, em elevação da dp/dt. De acordo com estas observações, Fioreto<sup>24</sup> verificou, em coração in situ de cão, que o aumento da PA, mantendo-se constante a pressão diastólica final do VE, não era acompanhado de modificações da dp/dt.

A análise dos experimentos de Bregagnollo e col e Fioreto<sup>12,24</sup> mostra que os cães apresentavam pressão PA dentro dos limites considerados normais; as variações de pós-carga foram obtidas por elevações da PA a partir da faixa pressórica normal. Este fato permite admitir que, para se analisar os dados obtidos em músculo papilar isolado, seria mais plausível utilizar valores da dT/dt obtidos a partir de 50% da TD, embora a faixa fisiológica de pós-carga neste tipo de preparação não esteja estabelecida.

Em resumo, os resultados do presente experimento indicam que os valores da dT/dt, quando avaliados a partir de valores de pós-carga supostamente mais próximos dos fisiológicos, não se alteram com a variação da força desenvolvida durante a contração.

### Agradecimentos

Ao Sr José Carlos Georgette pela ajuda na execução dos experimentos.

### Referências

- Buttrick P, Perla C, Malhotra A, Geenen D, Lahorra M, Scheuer J - Effects of chronic dobutamine on cardiac mechanics and biochemistry after myocardial infarction in rats. *Am J Physiol* 1991; 260: H473-9.
- Capasso JM, Bruno S, Cheng W, Li P, Rodgers R, Darzynkiewicz Z - Ventricular loading is coupled with DNA synthesis in adult cardiac myocytes after acute and chronic myocardial infarction in rats. *Circ Res* 1992; 71: 1379-89.
- Bing OHL, Hague NL, Perreault CL, Conrad CH, Brooks WW, Sen S - Thyroid hormone effects on intracellular calcium and inotropic responses of rat ventricular myocardium. *Am J Physiol* 1994; 267: H1112-21.
- Okoshi MP, Padovani CR, Nardi SC, Cicogna AC - Comparative mechanical study of isolated papillary muscle from Wistar-Kyoto and Wistar rats. *Jpn Heart J* 1994; 35: 333-43.
- Wallace AG, Skinner NS, Mitchel JH - Hemodynamic determinants of the maximal rate of rise of left ventricular pressure. *Am J Physiol* 1963; 205: 30-6.
- Van den Bos GC, Elzinga G, Westerhof N, Noble MIM - Problems in the use of indices of myocardial contractility. *Cardiovasc Res* 1973; 7: 834-48.
- Cicogna AC, Spadaro J, Tucci PJF - Influência da elevação da pré-carga sobre índices de contratilidade obtidos a partir das pressões isovolumétricas e dP/dt. *Arq Bras Cardiol* 1978; 31: 89-92.
- Little WC - The left ventricular dp/dt max - end diastolic volume relation in closed-chest dogs. *Circ Res* 1985; 56: 808-15.
- Little WC, Cheng CP, Mumma M, Igarashi Y, Vinten-Johansen J, Johnston WE - Comparison of measures of left ventricular contractile performance derived from pressure-volume loops in conscious dogs. *Circulation* 1989; 80:1378-87.
- Konishi T, Nakamura Y, Kato I, Kawai C - Dependence of peak dP/dt and mean ejection rate on load and effect of inotropic agents on the relationship between peak dP/dt and left ventricular developed pressure-assessed in the isolated working rat heart and cardiac muscles. *Int J Cardiol* 1992; 35: 333-41.
- Barnes GE, Bishop VS, Horwitz LD, Kaspar RL - The maximum derivatives of left ventricular pressure and transverse internal diameter as indices of the motropic state of the left ventricle in conscious dogs. *J Physiol* 1973; 235: 571-90.
- Bregagnollo EA, Matsubara BB, Padovani C, Tucci PJF - Influência da elevação transitória e da elevação sustentada da pressão arterial sobre a primeira derivada temporal da pressão ventricular. *Arq Bras Cardiol* 1992; 58: 437-43.
- Okoshi K - Influência da elevação da pressão diastólica do ventrículo esquerdo sobre os valores máximos da primeira derivada temporal da pressão ventricular. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, 1994.
- Clancy RL, Graham TP Jr, Ross J Jr, Sonnenblick EH, Braunwald E - Influence of aortic pressure-induced homeometric autoregulation on myocardial performance. *Am J Physiol* 1968; 214: 1186-92.
- Wildenthal K, Mierzwik DS, Mitchell JH - Effect of sudden changes in aortic pressure on left ventricular dp/dt. *Am J Physiol* 1969; 216: 185-90.
- Furnival CM, Linden RJ, Snow HM - Inotropic changes in the left ventricle: the effect of changes in heart rate, aortic pressure and end-diastolic pressure. *J Physiol* 1970; 211: 359-87.
- Mason DT, Braunwald E, Covell JW, Sonnenblick EH, Ross Jr J - Assessment of cardiac contractility. The relation between the rate of pressure rise and ventricular pressure during isovolumic systole. *Circulation* 1971; 44: 47-58.

18. Kass DA, Maughan WL, Guo ZM, Kono A, Sunagawa K, Sagawa K - Comparative influence of load versus inotropic states on indexes of ventricular contractility: experimental and theoretical analysis based on pressure-volume relationships. *Circulation* 1987; 76: 1422-36.
19. Henning RJ, Levy MN - Effects of autonomic nerve stimulation, asynchrony, and load on dP/dt max and on dP/dt min. *Am J Physiol* 1991; 260: H1290-8.
20. Bugge-Asperheim B, Kiil F - Preload, contractility, and afterload as determinants of stroke volume during elevation of aortic blood pressure in dogs. *Cardiovasc Res* 1973; 7: 528-41.
21. Mahler F, Ross Jr J, O'Rourke RA, Covell JW - Effects of changes in preload, afterload and inotropic state on ejection and isovolumic phase measures of contractility in the conscious dog. *Am J Cardiol* 1975; 35: 626-34.
22. Quinones MA, Gaasch WH, Alexander JK - Influence of acute changes in preload, afterload, contractile state and heart rate on ejection and isovolumic indices of myocardial contractility in man. *Circulation* 1976; 53: 293-302.
23. Elzinga G, Noble MIM, Stubbs J - The effect of an increase in aortic pressure upon the inotropic state of cat and dog left ventricles. *J Physiol* 1977; 273: 597-615.
24. Fioretto JR - Influência da elevação sustentada da pressão arterial sobre a primeira derivada temporal da pressão ventricular esquerda (dP/dt) mantendo-se constante a pressão diastólica do ventrículo esquerdo. Estudo experimental em cães anestesiados. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, 1994.
25. Krebs HA, Henseleit K - Untersuchungen über die Harnstoff-bildung im Tierkörper. *Hoppe Seylers. Z Physiol Chem* 1932; 210: 33-6.