

Efeito do Verapamil na Hipertrofia Ventricular Esquerda Induzida pelo Isoproterenol

Maria Teresa Nogueira Bombig, Bráulio Luna F^o, Eduardo Augusto Costa, Denise A. Leite, Rui Póvoa, Neif Murad, Andréa Costa, Andréa Brandão, Celso Ferreira

São Paulo, SP

Objetivo - Avaliar, em ratos, se o verapamil (VERA) apresenta efeito protetor sobre a hipertrofia do ventrículo esquerdo (HVE) induzida pelo isoproterenol (ISO).

Métodos - Foram estudados 72 ratos, machos, adultos, divididos em quatro grupos que, durante oito dias, receberam os tratamentos: controle (CON), VERA (10mg/kg), ISO (0,3mg/kg) e VERA+ISO. Mediram-se a frequência cardíaca (FC), pressão arterial (PA), peso do ventrículo esquerdo (PSVE) e a relação do PSVE pelo peso do rato (VE/P). Foram retiradas amostras do ventrículo esquerdo (VE) para estudo morfológico pela microscopia de luz.

Resultados - Em relação ao PSVE, obtiveram-se os seguintes resultados: CON 0,145g, VERA 0,144g, ISO 0,201g, VERA+ISO 0,148g, com diferença significativa entre o grupo ISO e os demais ($p < 0,05$). A análise do VE/P mostrou o mesmo comportamento. As alterações estruturais induzidas pelo ISO incluíram hipertrofia cardiomiocitária e aumento do tecido colágeno. No grupo VERA+ISO observou-se ação protetora em relação à hipertrofia (ISO 97,5% vs VERA+ISO 87%, $p < 0,001$).

Conclusão - VERA preveniu as manifestações deletérias da ação do ISO sobre o miocárdio dos ratos. Resultado ocorrido por um efeito protetor que inibiu a síntese do colágeno e a hipertrofia das fibras musculares do coração.

Palavras-chave: proteção miocárdica, hipertrofia ventricular, isoproterenol, verapamil

Verapamil Effects on Left Ventricular Hypertrophy Induced by Isoproterenol

Purpose - We evaluated whether verapamil (VERA) has a protective effect on left ventricular hypertrophy (LVH) induced by Isoproterenol (ISO) in rat.

Methods - Seventy two male adult rats were divided in four groups and treated accordingly during eight days: Control (CON), VERA (10mg/kg), ISO (0.3mg/kg) and VERA+ISO. It was measured in 10 animals from each group heart rate, blood pressure, left ventricle dry weight and ratio between left ventricular weight (LVW) and rat weight. Samples were taken from the left ventricle to be examined by light microscopy.

Results - LVW of the CON group was 0.145g, of VERA was 0.144g, of ISO with 0.201g, and of VERA+ISO was 0.148g. The difference between ISO group and others was statistically significant ($p < 0.05$). The LVW/W ratio also showed similar result. The myocardial pattern induced by ISO was left hypertrophy and collagen content increase. In VERA+ISO group it was found a protective effect to hypertrophy (ISO group 97% vs VERA + ISO 87%; $p < 0.001$) and increased collagen content.

Conclusion - VERA prevents the deleterious effects of ISO in the myocardium. Probably this action is due to prevention the myocardial hypertrophy and proliferation of collagen tissue.

Key-words: myocardial protection, ventricular hypertrophy, isoproterenol, verapamil

Arq Bras Cardiol, volume 67 (nº2), 81-85, 1996

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) é um processo que leva à deterioração progressiva da função ventricular¹. Além disso, é um importante fator de risco cardiovascular, aumentando a mortalidade da insuficiência cardíaca (ICC) e da doença coronariana². Também está associada a maior incidência de morte súbita em pacientes hipertensos e naqueles com arritmias ventriculares^{3,4}.

Macroscopicamente, a HVE caracteriza-se pelo aumento da espessura do septo ventricular e da parede livre do ventrículo esquerdo (VE) e, frequentemente, está associada à diminuição do volume da cavidade ventricular. Do ponto de vista microscópico, observa-se aumento da massa tecidual, resultante do aumento da fibra muscular e da replicação das células não-miocíticas⁵. Do ponto de vista biomolecular, a hipertrofia cardíaca envolve uma seqüência de eventos que inclui sinais transmembrânicos dentro do sarcolema do miócito (receptores beta, proteína G e a adenil-ciclase), mecanismos de acoplamento e regulação da expressão gênica⁶. A hipertrofia miocárdica tem sido produzida em animais através de vários mecanismos, incluindo coarctação da aorta, isquemia do miocárdio, anemia,

exercício, hormônio tireoidiano e hipertensão renal^{7,8}.

No estudo experimental da HVE, vários métodos têm sido propostos. Os mais utilizados provocam hipertensão arterial (HA) em animais, através de bandagem da aorta, clipagem da artéria renal e ressecção de barorreceptores aórticos. A HVE pode também ser desenvolvida pelo isoproterenol (ISO), um agonista beta adrenérgico sintético, que não eleva a pressão arterial (PA)⁹.

A administração de ISO, em animais de experimentação, produz alterações patológicas no músculo cardíaco, dependente da dose utilizada e do tempo de uso¹⁰. Quando utilizada em doses altas, induz hipertrofia cardíaca com grave lesão tecidual e falência ventricular. Em doses baixas, por outro lado, estimula o crescimento cardíaco, sem evidências visíveis de necrose¹⁰⁻¹⁵. A HVE induzida pelo ISO desenvolve-se rapidamente, revertendo-se em poucos dias após sua suspensão¹⁰.

Considerando a proeminência da HVE como fator de risco cardiovascular, é indubitável a importância em estudar os vários aspectos relacionados não apenas ao seu tratamento, mas, principalmente, à sua prevenção. A utilização de modelo experimental, sem interferência da HA, propicia a oportunidade de estudar fatores humorais locais e sistêmicos moduladores da hipertrofia miocárdica. Simultaneamente, permite avaliar a possibilidade de interferir, preventivamente, na sua expressão clínica. Descortina, também, a possibilidade de estudar os tipos de resposta celular característicos desse fenômeno, abrindo caminho para uma intervenção menos empírica neste difícil e complexo problema que é a HVE. O objetivo deste trabalho é avaliar, em ratos, a possível proteção do verapamil (VERA) à hipertrofia do VE induzida pelo ISO.

Métodos

Foram utilizados 72 ratos Wistar, machos, adultos, pesando entre 250 e 300g, provenientes do biotério central da Escola Paulista de Medicina. Os animais foram distribuídos em quatro grupos, sem escolha preferencial: grupo A (controle - CON), submetidos a doses subcutâneas de 1mL de soro fisiológico às 8h e 0,3mL de óleo oliva às 18h, durante oito dias seguidos; grupo B (VERA), submetidos a doses subcutâneas de 10mg/kg de peso de VERA às 8h e 0,3mL de óleo oliva às 18h, durante oito dias seguidos; grupo C (ISO), submetido a doses subcutâneas de 1mL de soro fisiológico às 8h e 0,3mg/kg de peso de ISO para 1mL às 18h durante oito dias seguidos; grupo D (VERA e ISO) submetidos a doses subcutâneas de 10mg/kg de peso de VERA às 8h e 0,3mL de ISO às 18h durante oito dias seguidos.

No dia anterior ao término do estudo, foram realizadas medidas da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC) em 10 animais de cada grupo, com polígrafo *Gould Recorder 2200S* de dois canais. Após 24h, os animais foram anestesiados com éter etílico, submetidos à toracotomia com retirada dos corações ainda com contrações. Imediatamente, foram separados os átrios e o

ventrículo direito, mantendo-se o septo interventricular como parte do VE de cada rato. Os VE foram lavados em água destilada, envolvidos em papel de filtro e depois colocados em frascos de vidro para verificação dos pesos úmidos em balança analítica *Mettler AE 50*. A seguir, foram colocados em estufa Fanem a 100°C por 24h e, posteriormente, submetidos a nova pesagem para verificação dos pesos secos na mesma balança.

Em oito animais de cada grupo, 24h após o término do estudo, procedeu-se o sacrifício por degola em guilhotina, retirando-se o VE como descrito acima. Com fragmentos do VE, realizaram-se secções de 7 μ que foram coradas com hematoxilina-eosina, para análise morfológica e histométrica dos cardiomiócitos, e com picro-sírius para estudo de fibras colágenas.

A análise morfométrica dos músculos cardíacos (VE) nos grupos corados pela HE foi realizada apenas em cortes transversais. Para contagem de células, utilizou-se uma lente integradora Kpl-10 X (Zeiss), contendo retículo com 25 pontos distribuídos geometricamente, acoplada a uma objetiva de 100 X (com aumento final de 1000 diâmetros). Em cada lâmina foram contados em 10 campos microscópicos, o número de células (núcleos e citoplasmas) coincidentes com os pontos de cruzamento do reticulado. A contagem do número de fibras colágenas em lâminas representativas de animais de cada grupo estudado, coradas pelo picro-sírius foi realizada da mesma maneira descrita acima.

Quanto à análise estatística dos resultados foram utilizados testes paramétricos e testes não paramétricos, levando-se em consideração a natureza das variáveis estudadas, aplicando os testes: 1) análise de variância para um critério com a finalidade de comparar os grupos estudados em relação aos valores do peso dos ratos, a PA, FC, peso úmido e seco do VE. Quando mostrou diferença significativa, esta análise foi completada pelo teste de contraste de Tukey; 2) análise de variância por pontos de Kruskal-Wallis para comparar os grupos, quanto à relação peso seco do VE/peso do rato; proporção de fibras musculares e percentagem cardíacas de fibras colágenas. Quando mostrou diferença significativa, esta análise foi completada pelo teste de comparação múltiplas. Em todos os testes fixou-se em 0,05 ou 5% (alfa <0,05) o nível para rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com um asterisco os valores significantes.

Resultados

Os valores médios e desvios padrões dos pesos (g) dos animais, da FC e das medidas da PAM no final do experimento, nos quatro grupos estudados, estão apresentados na tabela I, bem como os valores do PSVE e da relação VE/P. Também relatamos a proporção de fibras musculares cardíacas nos quatro grupos estudados, destacando a importante hipertrofia no grupo do ISO e o poderoso efeito inibidor do VERA no grupo ISO+VERA. A observação das lâminas com coloração específica para fibras colágenas

Tabela I - Relação das variáveis estudadas nos 4 grupos com resultados expressos em média e desvio padrão								
	CONTROLE		VERA		ISO		ISO+VERA	
Peso final (g)	278	(11,6)	284,5	(16,3)	289,3	(8,7)	277,7	(13,5)
PAM (mmHg)	113	(5,9)	115,5	(7,2)	113	(5,9)	115,5	(7,9)
FCM (bpm)	329,5	(9,1)	323	(12,9)	340	(7,1)*	338,7	(13)*
PSVE	0,145	(0,01)	0,144	(0,01)	0,201	(0,01)*	0,148	(0,02)
VE/P (g)	0,521		0,485		0,686*		0,531	
Prop Fib Mioc	85,6		86,2		97,5*		87,6	
Prop Fib Col	36,7		36,9		48,5*		37,1	

PAM- pressão arterial média; FCM- frequência cardíaca média; PSVE- peso do ventrículo esquerdo; VE/P- relação do PSVE pelo peso do rato; Prop Fib Mioc- proporção de fibras musculares cardíacas (citoplasma e núcleo); Prop Fib Col- proporção de fibras colágenas no miocárdio; *=p<0,01.

(picro-sírius) revelou um aumento exuberante da presença de fibras colágenas tipo I no grupo ISO em relação aos demais grupos. As figuras 1, 2, 3 e 4 evidenciam a presença de fibras colágenas no miocárdio de ratos dos grupos CON, VERA, ISO e ISO+VERA, respectivamente.

Discussão

Estudamos a hipertrofia miocárdica em coração de rato provocada pelo ISO. Este modelo experimental de hipertrofia ventricular, estudado e validado por vários autores, apresenta como característica fundamental a não ele-

vação da PA^{10-15,17,18}, o que nos permite estudar a influência do VERA, droga antagonista dos canais lento do Ca, na hipertrofia miocárdica provocada pelo ISO, na ausência de HA. Subjacente está a idéia de que a hipertrofia miocárdica não é uma manifestação univariada da elevação da PA. Mas, como defendem vários autores, um fenômeno de base, fundamentalmente bioquímica e molecular, com uma importante interface mecânica^{19,20}.

A variação percentual dos pesos nos quatros grupos estudados, desde o início até o final do experimento, não apresentou diferença estatística significativa, demonstrando que a dose de ISO, utilizada neste estudo, não alterou o

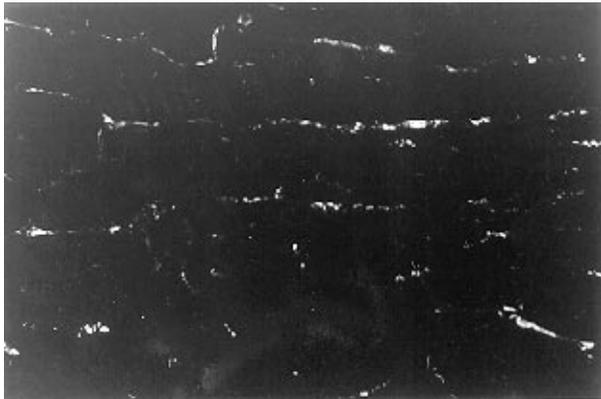


Fig. 1 - Fotomicrografia mostrando porção do coração de rato do grupo controle, evidenciando a presença de fibras colágenas. Picro-sírius + polarização - 200 x.



Fig. 2 - Fotomicrografia mostrando porção do coração de rato do grupo verapamil, evidenciando a presença de fibras colágenas. Picro-sírius + polarização - 200 x.

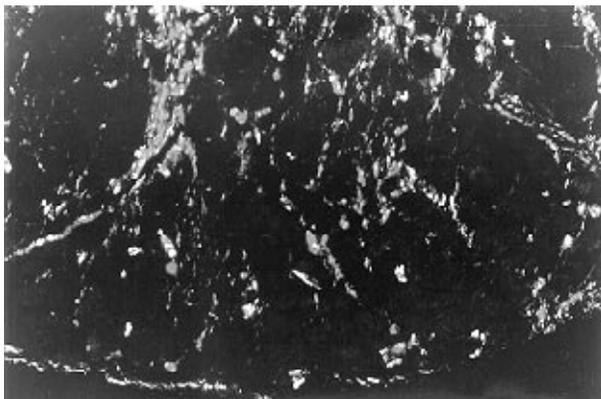


Fig. 3 - Fotomicrografia mostrando porção do coração de rato do grupo tratado com isoproterenol, evidenciando a presença de fibras colágenas. Picro-sírius + polarização - 200 x.



Fig. 4 - Fotomicrografia mostrando porção do coração de rato do grupo tratado com isoproterenol e verapamil, evidenciando a presença de fibras colágenas. Picro-sírius + polarização - 200 x.

crescimento corporal normal nos animais.

O comportamento da PA nos animais dos quatro grupos não se alterou. Particularmente não houve aumento no grupo ISO e ISO+VERA. A FC foi maior nos grupos que utilizou ISO (grupo ISO e grupo ISO+VERA), porém o aumento foi discreto, quando comparado com trabalhos que utilizaram doses maiores da droga²¹.

Há várias evidências de que a estimulação adrenérgica possa produzir hipertrofia ventricular²². Alguns autores encontraram correlação entre o nível plasmático elevado de noradrenalina e a massa ventricular esquerda em portadores de doença hipertensiva²³. Também existem estudos com o ISO em que os resultados foram menos conclusivos em relação à participação do sistema adrenérgico no crescimento da massa cardíaca¹⁴. Stanton e col alegam que a ocorrência de necrose miocárdica concomitante sugere a hipótese de que a hipertrofia possa ser secundária à necrose celular e não ao estímulo adrenérgico. Entretanto, também tem sido demonstrado, em células miocárdicas isoladas, que o ISO aumenta a síntese protéica, embora em nível menor do que o provocado pela noradrenalina²⁴.

É aceito que existe uma mediação pelos receptores adrenérgicos α_1 na produção da hipertrofia, com uma contribuição menor dos receptores α_2 , β_1 e β_2 . Assim, o estímulo adrenérgico, com participação dos receptores α_1 no processo de hipertrofia, pode incentivar o crescimento da célula miocárdica, independentemente de sua ação hemodinâmica.

Em relação ao estudo do peso do VE dos animais, observou-se que o peso seco e a relação do peso seco com o peso do animal (tab. I) apresentam aumentos importantes no grupo ISO em relação ao CON, demonstrando a ação do ISO na indução da hipertrofia. No grupo em que se utilizou VERA+ISO, observaram-se valores próximos aos do grupo CON, sugerindo que essa associação impediu o crescimento da massa muscular do VE nesse grupo de animais.

Taylor e Tang¹⁰, utilizando a mesma dose nossa (0,3mg/kg/dia) em ratos, observaram aumento da massa ventricular 44% acima do controle após oito dias de tratamento. Nossos dados mostraram aumento da massa ventricular com ISO, quando comparados com o grupo CON, evidenciando aumento de 37% e 40%, respectivamente, para os pesos úmidos e secos.

De acordo com Xenophontos e col²⁵, o aumento do cronotropismo e do inotropismo cardíaco pela utilização do ISO, podem ter agido como estímulo para hipertrofia cardíaca, através do estiramento da fibra, por conseqüente ativação da adenil ciclase e proteína quinase dependente do AMP cíclico. As proteínas quinases A e C cálcio dependente são estimuladores de protooncogenes²⁶ que, por sua vez, estão envolvidos nos mecanismos de regulação da síntese do DNA e da transcrição do RNA^{27,28}.

O ISO também estimula a produção de renina e angiotensina II²⁹. Esta através de seus receptores e modulada pela proteína G estimula a fosfolipase C que, por sua vez, produz a clivagem do fosfatidil inositol bifosfato em

diacilglicerol (DG) e em inositol trifosfato (IP3). O DG aumenta a atividade da proteína quinase C, cujo efeito contribui também para o crescimento dos cardiomiócitos²⁸. O IP3 libera cálcio dos estoques no retículo sarcoplasmático e, em conjunto com proteína G, atua na abertura dos canais iônicos de cálcio e este, via calmodulina, somando ao cálcio intracelular liberado pelo retículo sarcoplasmático por ação do IP3, ativa quinase C^{28,30}.

O aumento do influxo de cálcio para o interior da célula cardíaca produzido pelo ISO leva ao aumento da decomposição de ATP pela ATPase das miofibrilas dependente de cálcio, ocorrendo assim um aumento do desenvolvimento da tensão sistólica e um consumo alto de fosfatos ricos em energia. Por outro lado, as mitocôndrias absorvem íons cálcio do citosol com dispêndio de energia, o que resulta no desacoplamento da fosforilação oxidativa e em lesão estrutural (cristólise, vacuolização e calcificação)^{17,19,31}.

No nosso estudo, quando se associou VERA+ISO, houve uma proteção ao desenvolvimento da hipertrofia, ocorrida provavelmente devido a um bloqueio do influxo transmembrânico de íons de cálcio, através dos canais iônicos lentos para o citosol das células musculares cardíacas²⁰. Os bloqueadores dos canais de Ca são drogas vasodilatadoras que têm se mostrado capazes de reduzir a massacardíaca³². Além de diminuir o influxo de Ca no músculo liso arteriolar e no miocárdio, os bloqueadores dos canais de Ca têm a propriedade de diminuir a atividade adrenérgica e do sistema renina-angiotensina-aldosterona³³. A redução da atividade adrenérgica ocorre por bloqueio pós ganglionar da liberação de bloqueio dos receptores beta adrenérgicos^{32,33}.

O VERA é capaz de bloquear o sistema renina-angiotensina-aldosterona em vários níveis. Além de atuar sobre o tônus simpático, eles diminuem a disponibilidade do cálcio no túbulo contornado distal, o que reduz a secreção de renina no nível da mácula densa³⁴.

Estas características farmacológicas dos bloqueadores dos canais do Ca permitem compreender por que podem impedir a instalação da hipertrofia miocárdica.

Outro fator importante da influência dos bloqueadores dos canais de Ca no miocárdio hipertrofiado é a participação do Ca na síntese protéica. A redução de sua disponibilidade no interior do miócito contribui para reduzir o crescimento miocárdio³².

O estudo morfométrico do VE dos corações dos animais estudados demonstrou que o grupo ISO apresentou valores percentuais significativamente maiores (tab. I). O valor percentual das fibras colágenas no grupo ISO também foi significativamente maior. Vários estudos também encontraram uma maior quantidade de fibras colágenas nas hipertrofias ventriculares provocada pelo ISO, relatando um crescimento desproporcional entre os cardiomiócitos e o estroma³⁵⁻³⁸.

Com o uso do corante específico para colágeno e com o auxílio de luz polarizada, pode-se observar acentuada birrefringência, com coloração diferente, entre as fibras

colágenas espessas e delgadas³⁹. Notou-se nítido predomínio do colágeno do tipo I no miocárdio do grupo ISO. Nos grupos CON e VERA observou-se miocárdio com estrutura normal⁴⁰, e no grupo VERA+ISO menor formação de colágeno do tipo I. Observações que sugerem que houve interrupção do processo de formação de colágeno pelos fibroblastos. É provável que esta ação decorra da interferência do VERA na ação da angiotensina, via diminuição da disponibilidade intracelular de Ca, provocando uma

inativação parcial dos fibroblastos. Dada a grande importância do cálcio como sinal intracelular mediador da síntese de proteína, os nossos achados histológicos mostraram que o VERA possui relevante ação cardioprotetora, pois impediu as manifestações da ação do ISO sobre o miocárdio de ratos. Esperamos que esses achados experimentais abram perspectivas para pesquisas posteriores que possam trazer benefícios à terapêutica clínica.

Referências

1. Kannel WB, Gordon TO - Left ventricular hypertrophy by ECG prevalence, incidence and mortality in the framingham study. *Ann Intern Med* 1969; 71: 89-105.
2. Kannel WB, Levy D, Cupples LA - Left ventricular hypertrophy and risk of cardiac failure: insights from the Framingham study. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 10: S135-S40.
3. Messerli FH, Ventura HO - Cardiovascular pathophysiology of essential hypertension: a clue to therapy. *Drugs* 1985; 30(suppl I): 25-34.
4. Mclenachan JM, Henderson E, Morris KL, Dergie HJ - Ventricular arrhythmias in hypertensive left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1987; 317: 787-92.
5. Zak R - Cell proliferation during cardiac growth. *Am J Cardiol* 1973; 31: 211-19.
6. Morgan HE, Gordon E, Kira Y - Biochemical mechanisms of cardiac hypertrophy. *Ann Rev Physiol* 1987; 49: 533-43.
7. Norman TD - The pathogenesis of cardiac hypertrophy. *Progress. Cardiovasc Dis* 1962; 4: 439-61.
8. Badder HS - The stimulus to hypertrophy of the myocardium. *Circulation* 1964; 30: 128.
9. Corbett CE - Farmacodinâmica. 5ª ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1977; 68-9.
10. Taylor PB, Tang Q - Development of isoproterenol induced cardiac hypertrophy. *Can J Physiol Pharmacol* 1984; 62: 384-9.
11. Rona G, Chappel CI, Balazs T, Gaudry R - An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat. *Arch Path* 1959; 67: 447-55.
12. Zbinden G, Bagdon RE - Isoproterenol-induced heart necrosis, and experimental model for the study of angina pectoris and myocardial infarct. *Rev Can Biol* 1963; 22: 257-63.
13. Ferrans VJ, Hibbs RG, Black WC, Weibaecher DG - Isoproterenol-induced myocardial necrosis. A histochemical and electron microscopy study. *Am Heart J* 1964; 68: 71-90.
14. Stanton HC, Brenner G, Mayfield ED - Studies on isoproterenol - induced cardiomegaly in rats. *Am Heart J* 1969; 77: 72-80.
15. Alderman EL, Harrison DC - Myocardial hypertrophy resulting from low dosage isoproterenol administration in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136: 268-70.
16. Wexler BC - Prolonged protective effects following propranolol withdrawal against isoproterenol - induced myocardial infarction in normotensive and hipertensive rats. *Br J Exp Path* 1985; 66: 143-54.
17. Bloom S, Cancilla PA - Myocytolysis and mitochondrial calcification in the rat myocardium after low doses of isoproterenol. *Am J Pathol* 1969; 54: 373-91.
18. Jeppsson AB, Waldeck B, Widmark E - Further studies on the cardiomegaly induced by beta-adrenoceptor agonists. *Acta Pharmacol Toxicol* 1986; 58: 121-5.
19. Milei J, Vazquez A, Bolomo N - Effects of a Ca-antagonist (prenylamine) on isoproterenol-induced myocardial lesions in the monkey (*Cebus Paraguayenses*). Electrocardiographic and anatomo-pathological findings. *Acta Cardiol* 1979; 34: 417-29.
20. Fleckenstein A - Prevention by calcium antagonists of deleterious calcium overload - A new principle of cardioprotection in calcium antagonism in heart and smooth muscle. *John Wiley & Sons* 1983; 109-39.
21. Kuribayashi T, Furikawa K, Katsume H, Izichi H, Ibata Y - Regional differences of myocyte hypertrophy and three-dimensional deformation of the heart. *Am J Physiol* 1986; 250: 378-88.
22. Simpson PC, Mcgrath A, Savion S - Myocyte hypertension in neonatal rat heart cultures and its regulation serum and by catecholamines. *Circ Res* 1982; 51: 787-801.
23. Corea L, Bentivoglio M, Verdecchia P - Plasma norepinephrine and left ventricular hypertrophy in systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1984; 53: 1299-1303.
24. Kallfelt BH, Hjalmarson AC, Isaksson OG - In vitro effects of catecholamines on protein synthesis in perfused rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1976; 8: 787-802.
25. Xenophontos XP, Watson PA, Chua BHL, Haneda T, Morgan HE - Increase cAMP content accelerated protein synthesis in rat heart. *Circ Res* 1989; 65: 647-56.
26. Komuro I, Kaida T, Shibasaki Y et al - Stretching cardiac myocytes stimulates protooncogene expression. *J Biol Chem* 1990; 265: 3595-8.
27. Sympton PC - Molecular mechanisms in myocardial hypertrophy. *Heart Failure* 1989; 5: 113-29.
28. Morgan HE, Baker KM - Cardiac hypertrophy: mechanical, neural and endocrine dependence. *Circulation* 1991; 83: 13-25.
29. Goodman & Gilman - *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8ª ed. Pergamon Press, 1990; 201-2.
30. Abdel-Latif AA - Calcium mobilizing receptors, polyphosphoinositides, and the generation of second messengers. *Pharmacol Rev* 1986; 38: 227-72.
31. Bloom S, Davis DL - Calcium as mediator of isoproterenol-induced myocardial necrosis. *Am J Pathol* 1972; 69: 459-70.
32. Frishmann WH, Skolnick AE, Stron JA - Effects of calcium and entry blockade on hypertension - induced left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1989; 80: IV 151-61.
33. Dunstan HP - Calcium channel blockers: potential medical benefits and side effects. *Hypertension* 1989; 13: II37-II40.
34. Muller-Surr R, Gutsche HV, Schurek HJ - Acute and reversible inhibition of tubuloglomerular feedback mediated afferent vasoconstrictor by calcium antagonist verapamil. *Curr Prob Clin Biochem* 1976; 6: 291-8.
35. Tarazi RC, Sen S, Saragoça M, Khairallah P - The multifactorial role of catecholamines in hypertensive cardiac hypertrophy. *Eur Heart J* 1982; 3(suppl A): 103-10.
36. Weber KT, Janick JS, Shroff SG, Pick R, Chen RM, Bashey RI - Collagen remodeling of the pressure - overloaded, hypertrophied nonhuman primate myocardium. *Circ Res* 1988; 62: 757-65.
37. Weber KT, Pick R, Calil JE - Patterns of myocardial fibrosis. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21: 121-31.
38. Weber KT, Brilla CG - Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. *Circulation* 1991; 83: 1849-65.
39. Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR - Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue. *Histochem J* 1979; 11: 447-55.
40. Junqueira LC, Carneiro J - *Sistema Circulatório*. In: *Histologia Básica*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985; 189-201.