

# Ativação da Enzima Conversora de Angiotensina no Coração após Infarto do Miocárdio e suas Repercussões no Remodelamento Ventricular

José Geraldo Mill, Maria da Conceição Milanez, Vera Cristina W. Busatto, Andréa Cruz de Moraes, Maria da Glória S. Gomes

Vitória, ES

**Objetivo** - Determinar as alterações de atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) no coração com infarto do miocárdio (IM) e comparar os efeitos do captopril e losartan em parâmetros morfológicos e funcionais de ratos com IM.

**Métodos** - O IM foi produzido em ratos Wistar por ligadura de ramos da artéria coronária esquerda. Os controles (Con) foram submetidos a uma cirurgia fictícia. Animais com IM e Con foram tratados com captopril (30mg/kg/dia) ou losartan (15mg/kg/dia) e estudados 30 dias após, determinando-se a atividade da ECA nos ventrículos direito (VD) e esquerdo (VE), as alterações hemodinâmicas e as concentrações de hidroxiprolina (OH-Pro) e proteína total no VD e VE.

**Resultados** - A atividade da ECA aumentou no VD (+25%) e VE (+70%) após IM. A maior atividade foi observada na cicatriz fibrótica, onde atingiu cerca de 4,5 vezes a do músculo do VE que sobreviveu ao IM ( $420 \pm 68$  vs  $94 \pm 8$  nmoles/g/min;  $P < 0,01$ ). O IM determinou aumento da pressão diastólica final e hipertrofia do VD e VE. Captopril e losartan foram igualmente eficazes em atenuar a hipertrofia e o aumento da pré-carga. O captopril também atenuou o aumento de OH-Pro no VD e VE após IM. O IM reduziu a concentração de proteína principalmente no músculo de VE, efeito esse acentuado pelo captopril.

**Conclusão** - A grande atividade da ECA na cicatriz deve produzir altas concentrações de angiotensina II (AII) no sangue que drena da cicatriz. Os efeitos dos inibidores da ECA seriam decorrentes, principalmente, da redução de geração local de AII, e não de aumento de cininas, uma vez que captopril e losartan exerceram efeitos similares no remodelamento pós-infarto.

**Palavras-chave:** infarto do miocárdio, remodelamento ventricular, inibidores da enzima conversora de angiotensina, angiotensina II

## Activation of the Cardiac Angiotensin-Converting Enzyme after Infarction in Rats and its Role in Ventricular Remodeling

**Purpose** - To determine angiotensin converting enzyme (ACE) activity in the heart of infarcted rats and to investigate the effects of captopril and losartan on the post-infarction remodeling process.

**Methods** - Myocardial infarction (MI) was produced in Wistar rats by ligation of the left coronary artery. Control rats (Con) underwent a sham surgery. MI and Con rats remained untreated or were treated with captopril (30mg/kg/day) or losartan (15mg/kg/day) for 30 days. ACE activity was determined in right (RV) and left ventricular (LV) muscles and in the scar tissue. The effects of captopril therapy was also investigated in the hydroxiprolin (OH-Pro) and protein in RV and LV.

**Results** - ACE activity increased 25% in the RV and 70% in the remaining LV muscle. The highest ACE activity was found in the scar tissue, where it was 4.5 times the value of the LV muscle ( $420 \pm 68$  vs  $94 \pm 8$  nmoles/g/min;  $P < 0.01$ ). An increase of the end-diastolic pressure and of the muscle mass was found in the RV and LV of MI rats. Captopril and losartan treatments were equally efficient to attenuate these parameters in both ventricles. Captopril also reduced the total OH-Pro content in the RV and LV muscles. The Prot concentration was significantly reduced in the myocardium of MI rats, an effect enhanced by captopril therapy.

**Conclusion** - The AII concentration in the blood draining from the scar to the surrounding muscle is probably high. It is likely that this elevated local generation of AII contributes to hypertrophy and to collagen deposition. The effects of ACE inhibitors on remodeling are likely to depend on the reduction of the locally generated AII.

**Key-words:** myocardial infarction, ventricular remodeling, angiotensin converting enzyme inhibitors, angiotensin II

Arq Bras Cardiol, volume 69 (nº 2), 101-110, 1997

Depto de Ciências Fisiológicas do Centro Biomédico da UFES - Vitória  
Correspondência: José Geraldo Mill - Depto de Ciências Fisiológicas - Centro Biomédico da UFES - Av. Marechal Campos, 1468 - 29040-090 - Vitória, ES  
Recebido para publicação em 17/4/97  
Aceito em 11/6/97

A importância do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) na regulação a longo prazo do volume extracelular, do balanço dos íons Na e K da pressão arterial (PA) tem sido reconhecida há muito tempo. O grau de ativação da alça endócrina desse sistema reside principalmente no

nível de produção de renina pelos rins e pela produção de angiotensinogênio pelo fígado<sup>1</sup>. Em condições fisiológicas, a produção de renina pelo aparelho justaglomerular aumenta em resposta à contração do volume extracelular, redução do sódio plasmático, elevação de potássio, ou ainda, secundariamente à queda da PA<sup>2</sup>. A descarga simpática direcionada para os rins, atuando através de receptores beta, também ativa a produção e liberação de renina<sup>2</sup>. A regulação fisiológica da produção de angiotensinogênio é menos conhecida, sabendo-se apenas que seus níveis aumentam durante a gravidez ou em resposta ao uso dos anticoncepcionais orais, ou ainda durante a administração de doses elevadas de corticosteróides<sup>3</sup>.

Ao lado do SRAA endócrino, foi descrita mais recentemente uma série de sistemas renina-angiotensina (SRA) de localização tecidual, como no cérebro, coração, adrenais e vasos sanguíneos<sup>4-6</sup>. A importância desses SRA locais seria decorrente de todos os componentes da cascata serem produzidos num mesmo órgão. Logo, os efetores finais do sistema, notadamente a angiotensina II (AII) e a bradicina, exerceriam efeitos parácrinos nesses órgãos. Assim, por exemplo, os efeitos da AII no coração seriam decorrentes não só do peptídeo produzido sistemicamente, mas também através da AII produzida localmente no coração. Dada a presença desses SRA locais, a concentração de AII na intimidade do tecido cardíaco poderia ser, na verdade, muito maior do que aquela detectada no plasma<sup>7</sup>. O mesmo princípio seria aplicado aos demais locais onde existe um SRA parácrino. Evidências recentes demonstram que todos os componentes do SRA existem no coração, provavelmente a partir de sua síntese local, incluindo a renina e o angiotensinogênio<sup>6,8,9</sup>. Dessa forma, os efeitos da AII no coração seriam decorrentes não só do grau de ativação do SRA endócrino, mas também desse sistema localizado no próprio coração. O papel fisiológico do SRA local no funcionamento cardíaco não foi ainda precisamente estabelecido. Sabe-se que a AII possui efeito inotrópico positivo por aumento do influxo de cálcio durante a excitação cardíaca, atuando diretamente em receptores AT<sub>1</sub> dos cardiomiócitos<sup>10</sup>. A AII também facilita a transmissão adrenérgica ligando-se a receptores pré-juncionais<sup>11</sup>. Entretanto, não se determinou ainda com precisão em que extensão tais efeitos, principalmente evidenciáveis em preparações *in vitro*, seriam importantes para o funcionamento cardíaco em situações fisiológicas. Dados indiretos, entretanto, sugerem fortemente a importância do SRA cardíaco em situações fisiológicas especiais ou em situações fisiopatológicas, pois é alta a densidade de receptores da AII do tipo AT<sub>2</sub> no coração na fase final do desenvolvimento embrionário, havendo uma mudança gradual para receptores AT<sub>1</sub> após o nascimento<sup>12</sup>. Além disso, o uso dos bloqueadores da enzima conversora de angiotensina (ECA), tanto na hipertensão arterial como na insuficiência cardíaca (IC), produz efeitos marcantes na arquitetura e funcionamento do coração<sup>6,13-15</sup>. Mais recentemente, o desenvolvimento de bloqueadores dos receptores da AII também demonstra a importância desse peptídeo no coração, principalmente em estados patológicos<sup>12,15</sup>.

Os bloqueadores da ECA têm encontrado uma importante aplicação clínica no controle do remodelamento ventricular e prevenção da IC após infarto do miocárdio (IM)<sup>6,13,15</sup>. Ocorre ativação do SRAA endócrino após infarto. Essa ativação, entretanto, é apenas transitória, coincidindo com a fase aguda do IM. No homem, os níveis circulantes de AII voltam aos níveis normais cerca de uma semana após o episódio isquêmico<sup>16</sup>. Uma reativação do SRAA só é observada novamente em fases mais tardias do IM, quando os pacientes começam a desenvolver IC<sup>17</sup>. Esses dados sinalizam que os inibidores da ECA devem interferir no remodelamento ventricular por inibirem também a produção local de AII no coração.

Considerando que a ECA ocupa uma posição chave no SRA e no sistema de caliceínas-cininas, pois é ao mesmo tempo responsável pela transformação de AI em AII e pela inativação da bradicina e da substância P<sup>18</sup>, desenvolvemos um estudo quantificando a atividade da ECA em diferentes regiões do coração com IM já cicatrizado também investigamos o efeito do uso crônico de um inibidor da ECA (captopril) e de um inibidor dos receptores AT<sub>1</sub> da AII (losartan) em parâmetros morfológicos e funcionais do coração de ratos submetidos a ligadura da artéria coronária descendente anterior (DA) esquerda para produção de IM.

## Métodos

Os diversos protocolos experimentais descritos nesse trabalho foram realizados em ratos albinos machos, com três meses de idade no início dos experimentos.

A produção do IM foi feita sob anestesia com éter ou halotano, sendo os animais submetidos a uma toracotomia na altura do 4º espaço intercostal esquerdo para evisceração do coração e implantação de uma sutura com fio mononylon 6-0 em torno dos ramos descendentes anteriores da artéria coronária esquerda<sup>19</sup>. O tórax era imediatamente fechado com sutura previamente preparada, ocorrendo, na maioria dos casos, imediata recuperação dos movimentos respiratórios. O índice de mortalidade, situado em torno de 20%, ocorreu na maioria dos casos na 1ª hora após a ligadura coronária. Os ratos controles eram submetidos a uma cirurgia fictícia em que todos os passos cirúrgicos eram feitos, exceto que a sutura em torno dos vasos coronários não era apertada.

Após recuperação da anestesia, os animais eram mantidos em biotério com ração e água fornecidas *ad libitum*. Os tratamentos com captopril (*Sigma Chemical Co*, USA) ou losartan (*Merk Sharp Dohme* - USA) eram feitos mediante injeção diária, intraperitoneal, nas doses de 30mg/kg ou 15mg/kg, respectivamente. Os animais sem tratamento recebiam injeção diária do veículo (NaCl 0,9%). A administração de captopril ou losartan era iniciada no dia da cirurgia e mantida por 30 dias, sendo interrompida no dia anterior ao uso dos animais em um dos protocolos experimentais.

A maioria dos animais submetidos à ligadura coronária desenvolveu um amplo IM da parede ântero-lateral do VE. A consolidação da cicatriz no rato ocorre no período de

três semanas<sup>20</sup>. Após realização de um dos diversos protocolos experimentais descritos, os animais eram sacrificados, o coração retirado e perfundido com solução fisiológica para lavagem do sangue das cavidades cardíacas e vasos. Os ventrículos eram separados, retirado o excesso de líquido com papel de filtro, e pesados. O VE era aberto e a cicatriz fibrosa dissecada contra iluminação. Dada a transparência da cicatriz, é possível uma boa separação da área com IM transmural do músculo remanescente do VE<sup>21</sup>. Os contornos da cicatriz fibrosa e do músculo remanescente do VE eram desenhados em papel milimetrado para determinação de suas áreas. Os resultados foram construídos com base em ratos com infartos cobrindo de 20 a 40% da superfície endocárdica do VE. Os animais que foram submetidos à ligadura coronária e que, ao serem sacrificados, não apresentavam cicatriz fibrosa eram incluídos no grupo controle.

Os grupos de animais com ou sem IM foram sacrificados 30 dias após a cirurgia. No protocolo de determinação da atividade da ECA, o coração era retirado, as câmaras cardíacas separadas, pesadas e homogeneizadas mecanicamente em presença de solução tamponada de borato de sódio 0,05M (pH=7,4) em 0,32M de sacarose. Em seguida, o homogenato era centrifugado (1000g, 5min) e o ensaio para determinação da atividade da ECA foi realizado no sobrenadante através de técnicas descritas<sup>22,23</sup>. Em resumo, 100µL do sobrenadante eram incubados em presença 500µL de solução tamponada contendo o substrato sintético para a ECA hipuril-histidil-leucina (Hip-His-Leu, Sigma). A atividade da ECA foi determinada através da velocidade de geração do dipeptídeo His-Leu, cuja concentração foi medida em fluorímetro (Hitachi Fluorimeter, F-2000). Concentrações padrão de His-Leu (Sigma) foram usadas na calibração. A atividade da ECA é expressa em nmoles de His-Leu gerados por minuto de reação, por grama de tecido.

O colágeno é uma proteína com alta concentração de resíduos do aminoácido hidroxiprolina (OH-Pro). Assim, a concentração de OH-Pro reflete a quantidade de colágeno total no miocárdio. As dosagens de colágeno e proteína foram feitas usando-se todo o VD e VE. Nos corações com IM, usou-se apenas o músculo remanescente do VE. Os fragmentos eram pesados, picados em pequenos pedaços e diluídos em água destilada (1:5, g/mL) e homogeneizados mecanicamente (Potter 1500rpm). A concentração de OH-Pro nos homogenatos foi feita de acordo com o método de Begman e Loxley<sup>24</sup>. Os homogenatos eram hidrolizados em HCl 8N a 115°C por 12-16h com posterior neutralização com NaOH 6N. Após centrifugação (2.000g, 5min) a OH-Pro era quantificada no sobrenadante em presença de cloramina T, isopropanol e do reagente de Erlich. As leituras de cor eram feitas em espectrofotômetro (562nm) e comparadas contra uma curva padrão de OH-Pro (0,5 a 4µg/mL). A concentração total de proteína em cada homogenato foi determinada pelo método de Lowry<sup>25</sup>.

Para obtenção dos registros hemodinâmicos, os animais eram anestesiados com uretana (1g/kg) para implantação de cânulas de polietileno (PE 50), preenchidas com solução salina heparinizada (50U/mL), na veia jugular e na artéria

carótida direitas. As cânulas eram conectadas a um transdutor de pressão (Statham PXL23AA), e os sinais de pressão eram processados em amplificador digital (Funbec MP100) e registrados em polígrafo com inscrição térmica (Funbec RG300). A PA era medida com a cânula arterial na aorta e as pressões intraventriculares obtidas avançando-se as cânulas arterial e venosa em direção às cavidades ventriculares direita e esquerda, respectivamente. Os sinais eram registrados na velocidade de 100mm/s e a pressão diastólica ventricular era medida com sensibilidade de 2mmHg/mm e os valores obtidos para cada animal calculados a partir de registros obtidos em oito ciclos consecutivos em ritmo cardíaco regular.

Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média (epm). A comparação de duas médias foi feita pelo teste t de Student para amostras independentes. A inferência sobre diferenças entre mais de duas médias foi feita por análise de variância em uma via (Anova), seguida de comparação intergrupos pelo teste de Tukey. O limite de significância estatística foi estabelecido para valores de P<0,05.

## Resultados

A atividade da ECA medida nas diferentes câmaras cardíacas de ratos é mostrada na figura 1. A atividade

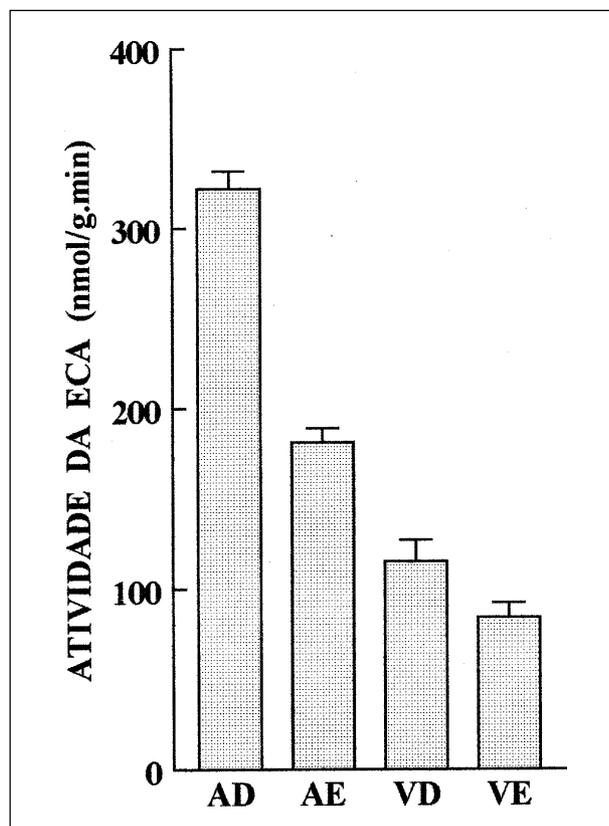


Fig. 1 - Atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) nos homogeneizados teciduais de átrio direito (AD), átrio esquerdo (AE), ventrículo direito (VD) e ventrículo esquerdo (VE) de ratos normais. A atividade da ECA é expressa em nanomoles de His-Leu gerada no meio de incubação a cada minuto. Os valores são corrigidos pela massa do tecido usada no homogeneizado. Os dados são fornecidos como média ± epm (N=8).

conversora de angiotensina é significativamente maior nos átrios em relação aos ventrículos e maior nas câmaras cardíacas direitas em relação às esquerdas. Em ratos normais, a maior atividade da ECA foi encontrada no átrio direito, onde atingiu o valor de  $322 \pm 10$  nmoles/g/min, enquanto que a menor atividade foi encontrada no músculo ventricular esquerdo, com valores da ordem de  $84 \pm 6$  nmoles/g/min. Uma inversão desse padrão foi observada nas câmaras ventriculares após infarto. A figura 2 mostra a atividade da ECA nos ventrículos de ratos com IM de 30 dias. No VD, a atividade da ECA foi cerca de 25% maior no grupo infartado em comparação com o controle ( $73 \pm 7$  e  $92 \pm 7$  nmoles/g/min, respectivamente,  $P < 0,05$ ). No VE, o aumento da atividade conversora após o IM é bem mais evidente. No músculo remanescente ao infarto, que é constituído, em grande parte, pelo septo interventricular e pela parede ínfero-posterior do VE, a atividade da ECA foi cerca de 70% maior em relação ao controle ( $56 \pm 4$  e  $94 \pm 8$  nmoles/g/min, respectivamente,  $P < 0,01$ ). A cicatriz fibrosa por sua vez apresentou uma atividade conversora de angiotensina cerca de 4,5 vezes maior do que no músculo ventricular remanescente ao infarto, atingindo valores de  $420 \pm 68$  nmol/g/min.

O IM determina hipertrofia não só do miocárdio remanescente do VE, mas também das demais câmaras cardíacas.

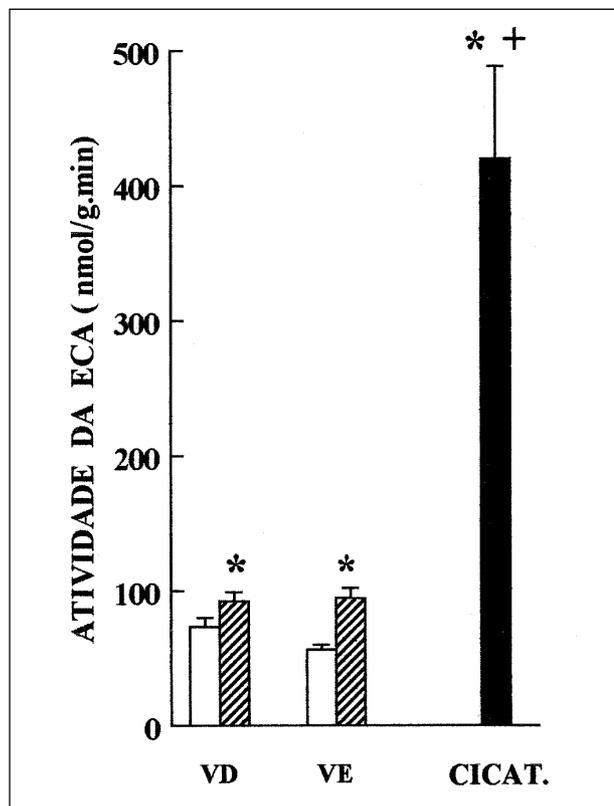


Fig. 2 - Aumento de atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) nos ventrículos direito (VD) e esquerdo (VE) de ratos um mês após a cirurgia. As barras vazias correspondem aos dados obtidos no grupo controle (N=10) e as barras hachuradas às medidas obtidas no músculo remanescente do VD e VE dos corações com infarto (N=12). A atividade da ECA na cicatriz (CICAT) está mostrada separadamente do restante do VE. Os dados são apresentados como média  $\pm$  epm. \* $P < 0,05$  vs controle; + $P < 0,01$  vs músculo remanescente do VE.

Essa hipertrofia apresenta curso temporal de desenvolvimento bastante rápido e, no rato, já se encontra estabilizada um mês após a ligadura coronária<sup>26</sup>. Contribuem para o aumento de peso da câmara cardíaca não só o aumento do volume dos miócitos, mas também o acúmulo de matriz extracelular.

A figura 3 mostra os efeitos do tratamento com captopril em parâmetros morfológicos do VD. O IM determinou aumento significativo do peso úmido da parede livre do VD (controle =  $194 \pm 9$  mg vs infartado =  $226 \pm 25$  mg;  $P < 0,05$ ). O tratamento com captopril reduziu tanto a massa ventricular dos animais sem infarto, como também inibiu completamente o crescimento hipertrófico no grupo de animais com infarto. Parte do aumento do peso do VD deve-se à deposição aumentada de colágeno na matriz extracelular. A quantidade de OH-Pro, por exemplo, cresceu mais de 50% ( $150 \pm 10$   $\mu$ g nos controles para  $230 \pm 20$   $\mu$ g ( $P < 0,05$ ) nos infartados). O tratamento com captopril bloqueou quase totalmente o aumento da deposição de OH-Pro no VD. A redução de colágeno foi proporcional à redução da hipertrofia, uma vez que a massa de OH-Pro, corrigida pela massa total do VD, aumentou significativamente após o IM (controle  $0,77 \pm 0,05$  mg/g vs infartado  $1,04 \pm 0,09$  mg/g;  $P < 0,05$ ), permanecendo inalterada no grupo infartado e tratado com captopril ( $1,03 \pm 0,09$  mg/g). Não ocorreu nenhuma modificação na concentração de OH-Pro no grupo não infartado e tratado com captopril (fig. 3), mostrando que o uso do inibidor da ECA tem efeito similar na redução de peso do componente miocitário e da matriz extracelular do músculo cardíaco em animais normais.

Resultados similares foram encontrados em relação ao miocárdio remanescente do VE (fig. 4). Nesse caso, o grau de hipertrofia não pode ser avaliado simplesmente pelo peso do miocárdio remanescente, uma vez que a cicatriz fibrosa, por ter menor espessura, possui peso menor em relação ao miocárdio original que sofreu processo de necrose. O peso do VE no grupo infartado e tratado com captopril foi menor do que nos animais infartados e não tratados, indicando inibição do crescimento hipertrófico no miocárdio remanescente. A concentração de OH-Pro, aumentada substancialmente após IM, não foi afetada pelo captopril. Em consequência, a redução do conteúdo de OH-Pro foi também proporcional à redução de hipertrofia, de modo similar ao que ocorreu no VD.

Observamos uma tendência de queda no conteúdo de proteínas no miocárdio ventricular esquerdo sobrevivente ao infarto. Assim, enquanto a concentração de proteínas totais no VE dos ratos controle foi de  $92 \pm 3,8$  mg/g, no miocárdio que sobrevive ao IM foi de  $85 \pm 6,8$  mg/g ( $P > 0,05$ ). O tratamento com captopril reduziu ainda mais essa concentração, que decaiu para  $73 \pm 4,0$  mg/g ( $P < 0,01$ ) no miocárdio remanescente do VE de animais infartados e tratados com captopril. No VD, as alterações da concentração de proteínas produzidas pelo IM e pelo captopril foram semelhantes ao VE, só que de menor intensidade. Desta forma, nossos resultados mostram que o captopril foi capaz de reduzir o conteúdo mas não a concentração de colágeno no mio-

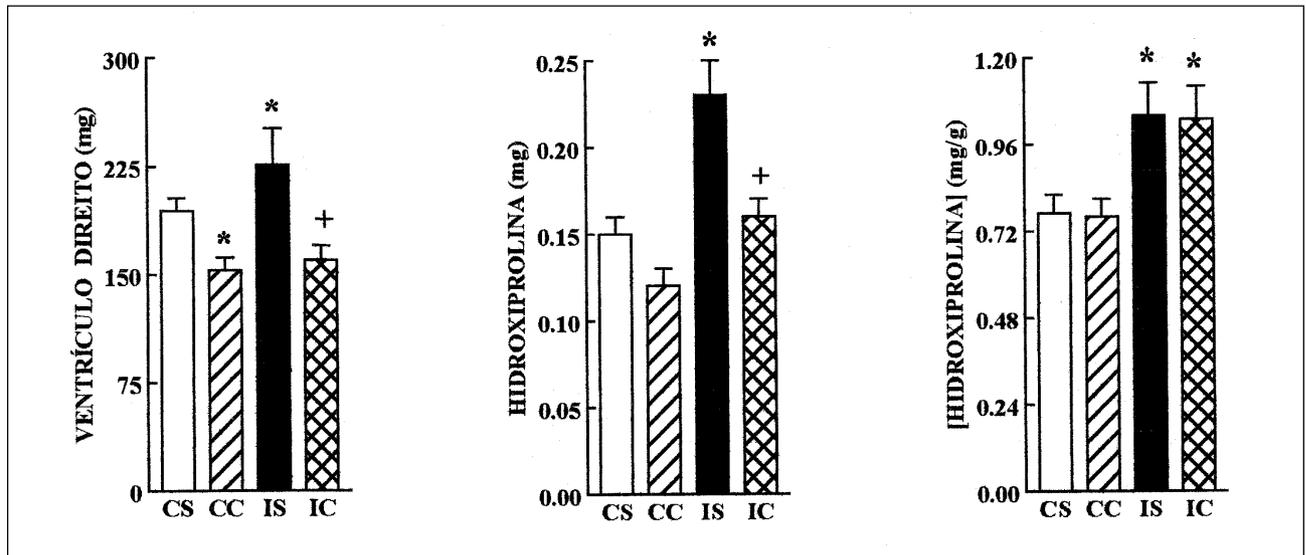


Fig. 3 - Peso úmido, conteúdo total de hidroxiprolina e concentração de hidroxiprolina no ventrículo direito (VD) de ratos controles sem tratamento (CS), controles tratados com captopril (CC), infartado sem tratamento (IS) e infartado tratado com captopril (IC). No gráfico à direita, o conteúdo de hidroxiprolina foi corrigido para o peso úmido do VD. Os dados são apresentados como médias  $\pm$  epm (N=8 a 12 ratos em cada grupo). \*P<0,05 vs CS; +P<0,05 vs IS.

cárdio sobrevivente ao infarto. Com relação às proteínas totais, entretanto, o captopril reduziu tanto o conteúdo como a concentração protéica nesse mesmo tecido. Em consequência, observou-se aumento da proporção de colágeno em relação às demais proteínas no miocárdio sobrevivente ao infarto, efeito esse que foi intensificado pelo uso de captopril (fig. 5). Esse achado foi mais acentuado no miocárdio remanescente do VE do que na parede livre do VD.

As alterações dos parâmetros hemodinâmicos produzidos pelo tratamento crônico com captopril ou losartan em ratos com IM são apresentados nas figuras 6 e 7. No VD

não observamos alterações significativas da pressão sistólica nos animais infartados, mas observamos uma elevação significativa da pressão diastólica, parcialmente reduzida pelo tratamento com captopril ou losartan (fig. 6).

Como esperado, observou-se queda significativa da PAS e PAD nos animais com IM (controles  $107 \pm 3,9$  e  $90 \pm 4,2$  mmHg vs infartados  $91 \pm 5,0$  e  $76 \pm 5,7$  mmHg, respectivamente). Tanto o captopril como o losartan determinaram redução adicional nesses valores de pressão, sendo que o efeito hipotensor do losartan foi ligeiramente superior ao observado com o captopril. Assim, nos animais infartados e

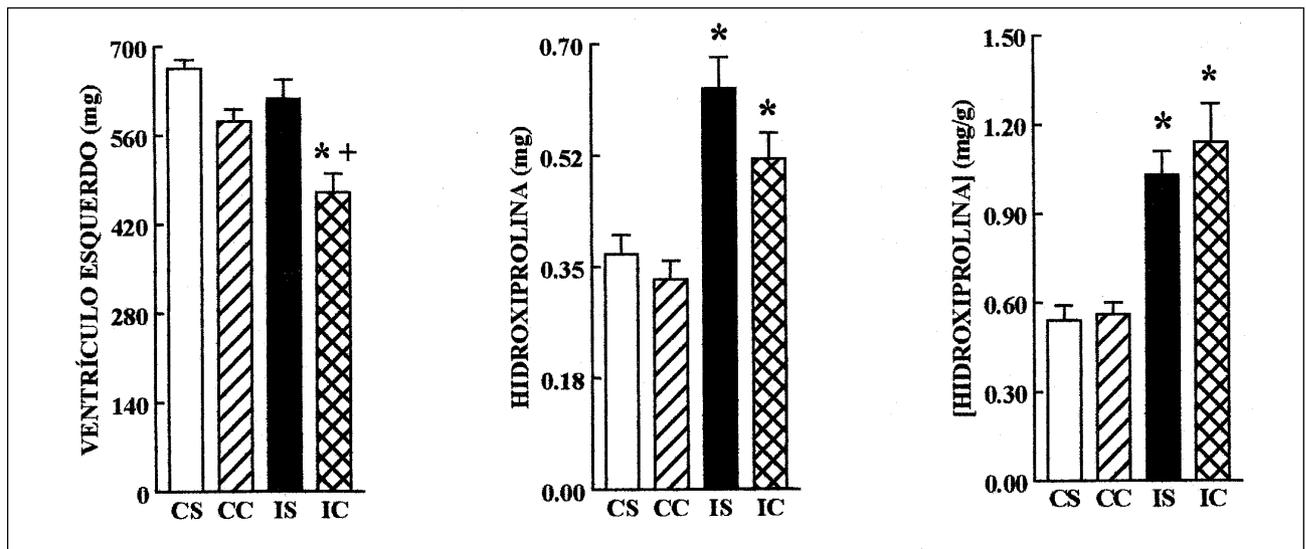


Fig. 4 - Peso úmido, conteúdo total de hidroxiprolina e concentração de hidroxiprolina no ventrículo esquerdo. Os grupos são os mesmos da figura 3. Nos corações infartados, os dados de peso e de hidroxiprolina correspondem apenas ao músculo remanescente ao infarto, isto é, excluindo-se a cicatriz fibrosa. No gráfico à direita o conteúdo de hidroxiprolina foi corrigido para o peso úmido do músculo remanescente. Os dados são apresentados como médias  $\pm$  epm (N=8 a 12 ratos em cada grupo). \*P<0,05 vs CS; +P<0,05 vs IS.

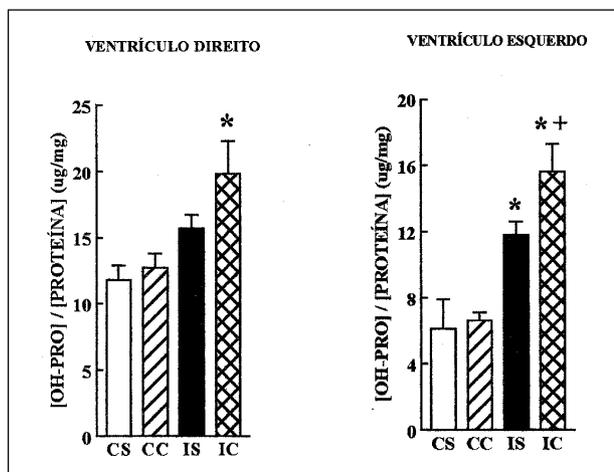


Fig. 5 - Relação entre a concentração de colágeno, avaliado pelo conteúdo de hidroxiprolina, e a concentração total de proteína no miocárdio dos ventrículos direito (VD) e esquerdo (VE) de ratos controles e infartados, tratados ou não com captopril. Os grupos são os mesmos das figuras 3 e 4. Observar que no infarto há aumento da proporção de colágeno em relação às demais proteínas em ambos os ventrículos, principalmente no miocárdio remanescente do VE. O aumento dessa relação após o infarto foi intensificado pelo tratamento com captopril. Os dados são apresentados como média  $\pm$  epm (N=8 a 12 ratos em cada grupo). \*P<0,05 vs CS; +P<0,05 vs IC.

tratados com captopril as PAS e PAD atingiram valores de  $86 \pm 2,8$  e  $70 \pm 3,7$  mmHg, respectivamente, enquanto que nos tratados com losartan essas pressões foram de  $78 \pm 3,8$  e  $58 \pm 4,3$  mmHg.

A figura 7 apresenta os valores das pressões sistólica e diastólica medidos na cavidade ventricular esquerda. A exemplo do que foi observado no VD, nota-se grande elevação da pressão diastólica inicial e final determinada pelo infarto, reduzidas de modo parcial e similar pelos tratamentos com captopril e losartan.

O captopril determinou redução do crescimento hipertrófico após o infarto, principalmente no VD. Esse achado voltou a se repetir no último protocolo experimental realizado para comparar os efeitos do captopril com os do losartan (fig. 8). Observa-se, entretanto, que o efeito anti-hipertrofico do losartan foi um pouco mais intenso que o do captopril, principalmente ao nível do VE, onde o peso do músculo remanescente ao IM foi de  $529 \pm 33$  mg no grupo infartado e não tratado, de  $521 \pm 20$  mg no infartado e tratado com captopril, e de apenas  $452 \pm 13$  mg (P<0,05) no grupo infartado e tratado com losartan.

Outro achado interessante é que tanto o captopril como o losartan reduziram o peso da cicatriz fibrótica, onde, novamente, o efeito do losartan foi ligeiramente maior que o do captopril (IM sem tratamento =  $110 \pm 11,8$  mg; IM +captopril =  $79 \pm 7,5$  mg e IM+losartan =  $73 \pm 5,6$  mg; P<0,01). Considerando que a área da cicatriz nesses três grupos foi similar (IM não tratado =  $67 \pm 8$  mm<sup>2</sup>, IM-captopril =  $57 \pm 5$  mm<sup>2</sup> e IM-losartan =  $60 \pm 6$  mm<sup>2</sup>; P>0,05), pode-se estimar que a espessura da cicatriz foi entre 12 a 15% menor nos grupos tratados com captopril ou losartan em comparação ao grupo infartado e não tratado.

## Discussão

A importância do SRAA para a homeostase da PA tem sido reconhecida há muito tempo, efeito esse exercido, em grande parte, pelos dois efetores finais desse sistema, a AII e a aldosterona<sup>1,4</sup>. A descrição mais recente da existência de vários sistemas renina-angiotensina parácrinos trouxe nova dimensão para o entendimento das ações fisiológicas da AII e de outros peptídeos relacionados ao sistema, como a bradicinina e A1-7. Nos sistemas parácrinos, a ECA possui posição chave, já que é responsável final pela geração da AII, bem como pela inativação da bradicinina e da subs-

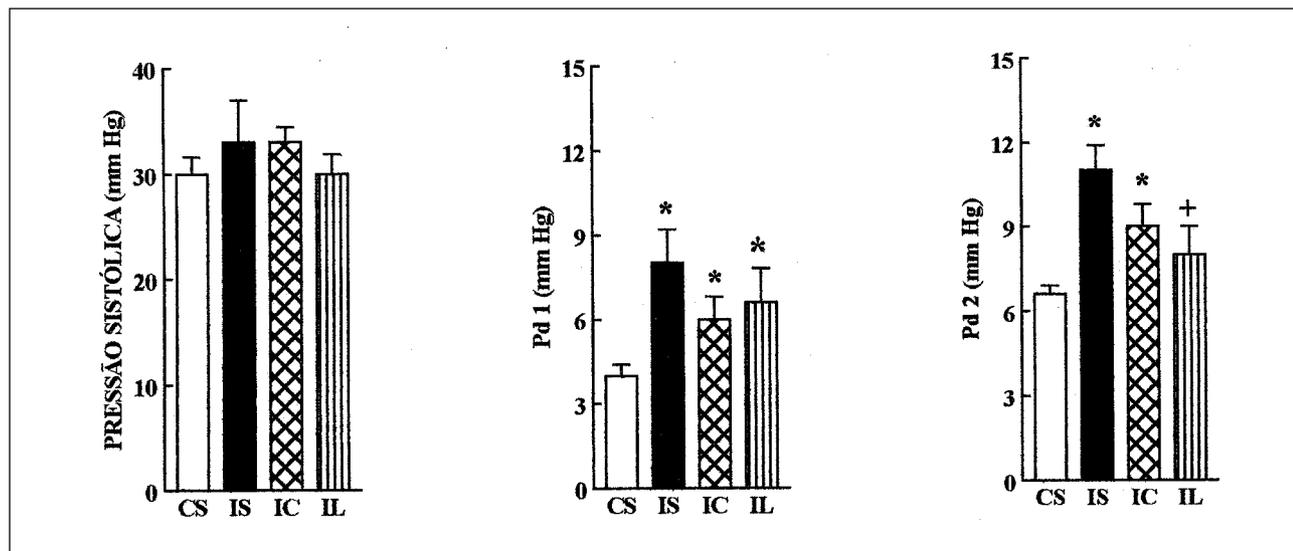


Fig. 6 - Comparação dos efeitos do captopril e losartan em parâmetros hemodinâmicos de ratos com infarto do miocárdio. Os registros da pressão sistólica (PS), pressão diastólica inicial (Pd1) e pressão diastólica final (Pd2) foram obtidos no ventrículo direito de ratos controles (CS) e infartados sem tratamento (IS) ou tratados com captopril (IC) ou losartan (IL). Os dados são apresentados como média  $\pm$  epm (N=8 a 11 ratos em cada grupo). \*P<0,05 vs CS; +P<0,05 vs IS.

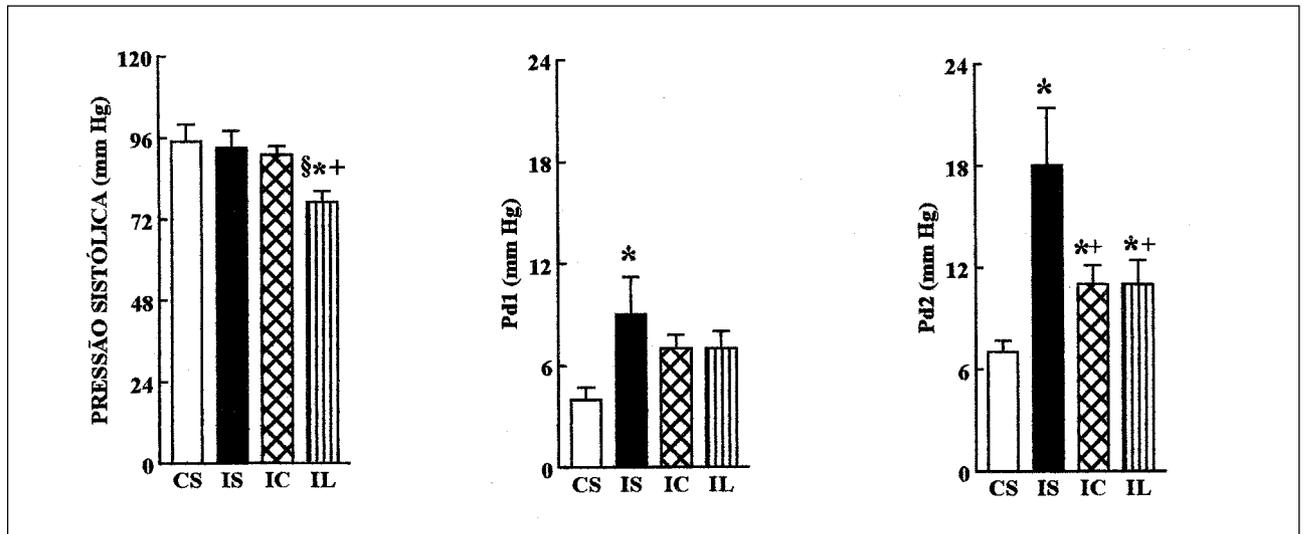


Fig. 7 - Comparação dos efeitos do captopril e losartan em parâmetros hemodinâmicos de ratos com infarto do miocárdio. Os registros de pressão sistólica e pressões diastólicas inicial (Pd<sub>1</sub>) e final (Pd<sub>2</sub>) foram obtidos na cavidade ventricular esquerda de ratos controles (CS) ou infartados sem tratamento (IS) ou tratados com captopril (IC) ou losartan (IL). Observar o grande aumento da Pd<sub>1</sub> nos animais infartados e não tratados. Tanto o captopril, como o losartan reduziram de modo similar a Pd<sub>1</sub> após o infarto, apesar de que esses valores ainda mantinham-se significativamente elevados em relação aos ratos não infartados. Os dados são apresentados como média ± epm (N=8 a 11 ratos em cada grupo). \*P<0,05 vs CS; +P<0,05 vs IS; §P<0,05 vs IC.

tância P<sup>18</sup>. Logo, a atividade da ECA em determinado tecido, que é basicamente influenciada pelo ritmo de produção do RNA mensageiro da enzima, terá um papel fundamental no ritmo de produção local de AII e, conseqüentemente, na concentração e nos efeitos desse peptídeo a nível local<sup>7</sup>.

Vários trabalhos demonstraram que todos os componentes do SRA, isto é, a renina, angiotensinogênio, além da ECA, são encontrados no coração<sup>6,8,17</sup>. Os componentes desse sistema não estão homogeneamente distribuídos nesse órgão. A concentração da ECA, por exemplo, é maior nos átrios do que nos ventrículos, e maior nas câmaras cardíacas direitas do que nas esquerdas<sup>27</sup>. Essa padrão, já detectado no coração do homem<sup>28</sup>, também foi observado em nosso estudo no coração do rato normal e altera-se radicalmente no coração infartado, uma vez que a cicatriz passa a ser a região do coração com maior poder gerador de AII<sup>17</sup>. Os achados experimentais em coração de rato parecem também ocorrer no coração humano, uma vez que Hokimoto e col<sup>28</sup> verificaram haver um aumento importante de atividade da ECA no tecido aneurismático de corações explantados com IM cicatrizado<sup>28</sup>.

Até o presente, ainda não se sabe qual a razão para esse enorme aumento de atividade da ECA no coração infartado. Entretanto, estudos em diversos modelos experimentais e situações fisiopatológicas indicam que a AII e, possivelmente, a bradicinina, seriam peptídeos envolvidos nos processos de geração de tecido cicatricial<sup>29</sup>. Quatro tipos diferentes de células são capazes de expressar a ECA: células endoteliais, macrófagos, miofibroblastos e células epiteliais<sup>29</sup>. Há concordância na literatura de que o endotélio vascular seja o principal responsável pela atividade da ECA no coração normal<sup>29,30</sup>. Entretanto, experimentos de radiomunoensaio demonstram também uma forte marcação

da enzima em tecidos fibrosos, como os folhetos valvares e o pericárdio, indicando que o tecido fibroso cardíaco, mesmo no coração normal, seria fonte importante de geração de AII<sup>31</sup>. No caso do infarto, o quadro parece mais complexo. Observamos aumento significativo, mas modesto, da atividade da ECA no VD e, um pouco mais importante, no miocárdio ventricular esquerdo sobrevivente ao infarto. O que chama mais atenção, entretanto, é o enorme aumento de atividade da ECA na cicatriz. Esse aumento, observado inicialmente por técnicas de imuno-histoquímica<sup>31</sup>, é tempo-dependente, com o máximo de atividade sendo observado duas semanas após a ligadura coronária, isto é, numa cicatriz jovem em vias de consolidação<sup>32</sup>. O pequeno au-

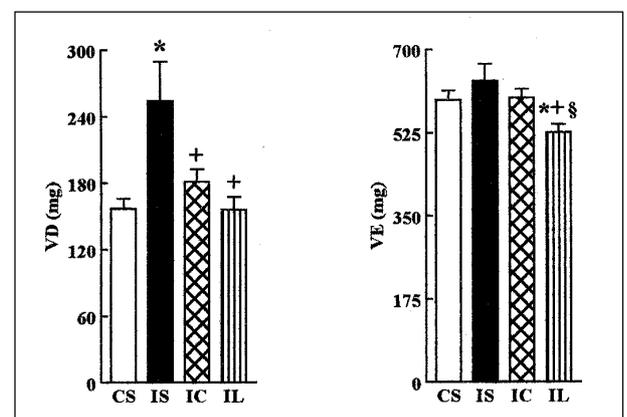


Fig. 8 - Redução da hipertrofia do ventrículo direito (VD) e do esquerdo (VE) em ratos controles (CS) e infartados sem tratamento (IS) e tratados com captopril (IC) ou losartan (IL). Os dados de VE nos animais infartados correspondem apenas ao miocárdio remanescente ao infarto, excluindo-se a área da cicatriz fibrosa. Os dados são apresentados como médias ± epm (N=8 a 11 ratos em cada grupo). \*P<0,05 vs CS; +P<0,05 vs IS; §P<0,05 vs IC.

mento da ECA em fases mais precoces de evolução do IM deve decorrer do aumento local de macrófagos, que participam da reabsorção do tecido necrosado, já que essa célula expressa a ECA<sup>29</sup>. Ao final do período de reabsorção, aumenta a presença local de miofibroblastos, que também expressam a ECA em grande quantidade<sup>33-35</sup>, concomitantemente a uma intensa proliferação vascular. Pode-se concluir que o aumento de atividade conversora de angiotensina na região da cicatriz seria decorrente da própria dinâmica da neoformação de tecido cicatricial. A marcação da ECA com anticorpos monoclonais tem também mostrado que a distribuição dessa enzima na cicatriz também não é uniforme, havendo concentração maior da enzima na região de transição do IM<sup>34</sup>. Nessa região, a densidade de miofibroblastos é alta e a neoformação vascular intensa<sup>31</sup>. Assim, a região de transição do IM seria uma região rica em AII e pobre em bradicinina. O aumento de atividade da ECA na cicatriz parece ser consistente ao longo do tempo porque, mesmo após total consolidação da cicatriz, como mostram resultados obtidos em nosso laboratório, em ratos com IM de 4 meses de evolução<sup>35</sup>, confirmando dados obtidos no coração humano<sup>28</sup>, a atividade conversora ainda mantém-se cerca de quatro vezes maior na cicatriz em relação ao miocárdio remanescente do VE. Nesse miocárdio, há uma elevação bem menos acentuada da atividade da ECA. A razão para essa elevação, e quais as possíveis vantagens ou desvantagens para o desempenho do coração infartado, ainda são fatos que aguardam melhor esclarecimento.

As repercussões da elevação da atividade da ECA no coração, particularmente na cicatriz, para o remodelamento ventricular pós-IM ainda são pouco conhecidas. Usados a longo prazo, tanto em animais de experimentação, como em pacientes infartados, os bloqueadores da ECA reduzem as arritmias, previnem o desenvolvimento de IC e diminuem a incidência de reinfarto<sup>13,14,16</sup>. Não se sabe com certeza, até esse momento, em quanto tais efeitos seriam decorrentes da inibição do SRA circulante e quanto da inibição localizada da ECA no coração<sup>7</sup>. Entretanto, uma série de dados indiretos sugere que o SRA cardíaco teria participação na remodelação pós-IM e que, portanto, sua inibição poderia contribuir para preservar a função cardíaca após cicatrização do IM.

A AII se liga aos miócitos através dos receptores AT<sub>1</sub>, inibidos pelo losartan<sup>12</sup>. Tais receptores, quando estimulados, ativam a fosfolipase C resultando na produção de diacilglicerol e IP<sub>3</sub> (trifosfato de inositol). O 1º fator estimularia o crescimento celular, via ativação da fosfoquinase C, enquanto o 2º aumentaria os níveis de Ca livre no citosol<sup>36</sup>, o que também parece contribuir para o desenvolvimento de hipertrofia. Dessa forma, a AII teria uma ação hipertrofica direta no coração, independente de alterações hemodinâmicas. Esta afirmativa é reforçada pelo achado de que o efeito hipertrofico desse peptídeo ocorre também em miócitos em cultura<sup>36,37</sup>, razão pela qual a AII tem sido vista, cada vez mais, como um fator de crescimento para o coração e músculo liso vascular<sup>6</sup>. Entretanto, a hipertrofia pós-IM é, seguramente, multifatorial. Para ela contribuem tanto fato-

res físicos, como o aumento da pressão diastólica intraventricular e o maior estiramento imposto ao miocárdio remanescente pela cicatriz (que é mais rígida que o músculo), e fatores químicos, como o aumento local de catecolaminas e, certamente, AII. Esse último fator, entretanto, deve ter uma participação quantitativa muito importante, uma vez que tanto a inibição da ECA, como o bloqueio dos receptores AT<sub>1</sub>, como demonstrado em nosso estudo, reduzem a hipertrofia de modo similar, mesmo sem que se consiga uma normalização das variáveis hemodinâmicas<sup>13,14,16</sup>.

A remodelação ventricular cursa com importantes alterações da matriz extracelular cardíaca, sobressaindo-se o aumento de colágeno. Em nosso trabalho, o colágeno foi avaliado a partir da dosagem química da OH-Pro nos homogenatos dos ventrículos, refletindo assim mudanças no colágeno total. Não avaliamos nem os diferentes tipos de colágeno e nem a localização, o que só poderia ser feito com estudos de microscopia. A quantidade de colágeno depositada na matriz em determinado momento é produto do balanço entre a síntese e a degradação dessa proteína. Não há dados indicando se a hidrólise de colágeno está alterada após IM. A síntese, entretanto, está aumentada na região da cicatriz, como resultado da liberação de fatores químicos locais. Os estímulos que promovem aumento de colágeno em regiões distantes da cicatriz, como no VD, ainda não são bem conhecidos. Cleutjens e col<sup>34</sup> defendem a hipótese de que na região vizinha à cicatriz, o estímulo para a proliferação de colágeno dependeria, principalmente, de agentes químicos locais, mais especificamente da produção de AII<sup>34</sup>. Os achados de aumento de atividade da ECA, principalmente nos limites da cicatriz para o miocárdio transicional, corroboram essa hipótese. Propõem ainda esses autores que nas regiões remotas à cicatriz, o aumento do colágeno seria mais decorrente de fatores mecânicos<sup>34</sup>. Nossos achados, aparentemente, não confirmam essa hipótese, uma vez que o VD é submetido a um estresse mecânico menor do que o VE no IM. Não obstante, a elevação percentual do colágeno foi similar. O uso de captopril, como de losartan, reduziu a pré e pós-carga nos animais infartados, é muito difícil separar, neste modelo experimental, a participação relativa da normalização dos fatores hemodinâmicos ou o controle da ação local de AII na remodelação pós-IM.

Dado interessante e com pouca atenção dada, refere-se à variação de proteínas no coração infartado. Confirmando dados anteriores de nosso laboratório<sup>38</sup>, a concentração protéica total diminui no coração infartado. Como as proteínas contráteis representam cerca de 80% do conteúdo protéico do miocárdio, pode-se especular que há comprometimento das proteínas contráteis no coração remodelado após o IM, o que poderia explicar o menor desempenho mecânico observado no coração infartado, mesmo se corrigindo os valores de força ou de pressão desenvolvida para a massa de tecido muscular sobrevivente ao infarto<sup>14,19,21</sup>. O uso de captopril acentuou a queda protéica, fato este que poderia ser decorrente da redução da produção local de AII. Assim, a redução da deposição de colágeno no interstício miocárdico de ratos infartados e tratados com captopril po-

deria representar apenas uma das facetas de um fenômeno mais geral, ou seja, uma depressão generalizada da síntese protéica no coração. As repercussões deste fato para o desempenho mecânico do coração aguardam esclarecimento. Estudos anteriores, entretanto, não demonstram comprometimento adicional da bomba cardíaca, além daquele já decorrente do IM, em ratos tratados com captopril por um mês<sup>14</sup>. Entretanto, o uso precoce de altas doses de captopril em ratos infartados aumentou a mortalidade<sup>39</sup>. Esse achado, interpretado inicialmente como secundário a uma deficiência na formação da cicatriz (predispondo a aneurismas), também poderia depender de queda da contratilidade.

A hipótese de que os inibidores da ECA reduziram a deposição de colágeno através de um efeito geral na síntese protéica no coração, também é reforçada por outro achado deste estudo. Observa-se que no grupo infartado e tratado com captopril ocorreu redução do conteúdo colágeno no VD e VE. Entretanto, a concentração do colágeno, corrigida pela massa miocárdica ou pela proteína total, não sofreu alteração significativa. Parece, portanto, que a redução do colágeno no miocárdio remanescente, ocorre em paralelo à inibição do crescimento hipertrófico do ventrículo, o qual é altamente dependente do estímulo à síntese protéica. A AII atuando em cultura de fibroblastos estimula, além da proliferação celular, a incorporação de aminoácidos, a síntese de colágeno e a síntese protéica total<sup>40</sup>. Estes achados diferem, pelo menos em parte, dos descritos por outros autores que, em geral, quantificaram o colágeno através de métodos morfométricos<sup>41-43</sup>. Nesse caso, tem-se descrito que a fração volumétrica ocupada pelo colágeno no miocárdio remanescente do VE é significativamente reduzida pelo uso de inibidores da ECA, sugerindo que tais drogas seriam mais efetivas na depressão de síntese de colágeno em relação aos outros constituintes protéicos do tecido, o que, entretanto, não condiz com os resultados que obtivemos em nossos

estudos. As discrepâncias podem se dever, ainda que em parte, pelas diferenças de metodologias empregadas na quantificação de colágeno ou a diferentes tempos de uso dos inibidores da ECA após o IM. Não está claro ainda na literatura se há ou não uma mudança na cinética de degradação e re-síntese de moléculas de colágeno no coração após o IM e quais os possíveis efeitos do bloqueadores da enzima de conversão neste processo.

Tendo em vista que os efeitos hemodinâmicos produzidos pelo captopril ou losartan em ratos infartados foram muito semelhantes, bem como a redução de hipertrofia, nossos resultados sugerem que a inibição da produção de AII, mais do que o aumento da vida média da bradicinina, seria o fator mais importante para os efeitos benéficos dos inibidores da ECA no remodelamento pós-IM. Mais recentemente, entretanto, o uso de icatibante (HOE-140), um inibidor de receptores de bradicinina, também foi capaz de deprimir a fibrose reacional pós-infarto em ratos<sup>44</sup>. Portanto, alguns dos efeitos observados no remodelamento ventricular com o uso de inibidores da ECA podem ser secundários a um aumento da concentração local de bradicinina, através do estímulo à liberação de NO ou de prostaciclina. Independente da natureza do mediador final dos efeitos benéficos dos inibidores da ECA, pode-se concluir que a inibição do sistema renina-angiotensina cardíaco após o IM é capaz de reduzir a hipertrofia, a dilatação ventricular e a fibrose reacional. Essas alterações estruturais são acompanhadas de redução da pré-carga. Do ponto de vista mecânico, a função ventricular tende a melhorar nessas condições, isto é, o mesmo trabalho externo pode ser realizado submetendo-se as fibras musculares a menor grau de estiramento, onde o gasto energético é menor. A longo prazo, isso contribuiria para preservar a função ventricular, suprindo, ainda que em parte, a perda do componente miocitário após a agressão isquêmica ao coração.

## Referências

1. Laragh JH, Stoerk HC - A study of the mechanism of secretion of the sodium-retaining hormone aldosterone. *J Clin Invest* 1957; 36: 383-92.
2. Leaton TK, Campbell WB - The pharmacologic alteration of renin release. *Pharmacol Res* 1980; 32: 81-227.
3. Lindpaintner K, Jin K, Niedermeyer N, Wilhelm MJ, Ganten D - Cardiac angiotensinogen and its local activation in the isolated perfused beating heart. *Circ Res* 1990; 67: 564-73.
4. Peach MJ - Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. *Physiol Rev* 1977; 57: 313-70.
5. Unger T, Badoer E, Ganten D, Lang R, Retting R - Brain angiotensin: pathways and pharmacology. *Circulation* 1988; 77(supl 1): 140-54.
6. Lindpaintner K, Ganten D - The cardiac renin-angiotensin system. An appraisal of present experimental and clinical evidence. *Circ Res* 1991; 68: 905-21.
7. Dzau VJ - Circulating versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation* 1988; 77(supl 1): I-4-I-13.
8. Dostal DE, Rothblum KA, Chernin ML, Cooper GR, Baker KM - Intracardiac detection of angiotensinogen and renin: a localized renin-angiotensin system in neonatal rat heart. *Am J Physiol* 1992; 263: C838-C50.
9. Boer PH, Ruzicka M, Lear W, Harmsen E, Rosenthal J, Leenen HH - Stretch-mediated activation of cardiac renin gene. *Am J Physiol* 1994; 267: H1630-H6.
10. Freer R, Pappano A, Peaxh M, Bing K, McLean M, Vogel S - Mechanisms for the positive inotropic effect of angiotensin II on isolated cardiac muscle. *Circ Res* 1976; 39: 178-83.
11. Malik KU, Nasjletti A - Facilitation of adrenergic transmission by local generated angiotensin II in rat mesenteric arteries. *Circ Res* 1976; 38: 26-30.
12. Timmermans PBMWM, Wong PC, Chiu AT - Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 205-51.
13. Pfeffer MA, Braunwald E - Ventricular enlargement following infarction is a modifiable process. *Am J Cardiol* 1991; 68: 127D-31D.
14. Mill JG, Gomes APV, Carrara AB, Gomes MGS, Vassallo DV - Influence of chronic captopril therapy on the mechanical performance of the infarcted rat heart. *Pharmacol Res* 1994; 29: 77-88.
15. Pfeffer MA, Braunwald E, Moyé A et al - (SAVE Investigators) - Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. *N Engl J Med* 1992; 327: 669-77.
16. Schieffer B, Wirger A, Meybrunn M et al - Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type I receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat. *Circulation* 1994; 89: 2273-82.

17. Hirsch AT, Dzau VJ - Tissue renin-angiotensin systems in the pathophysiology of heart failure. In: Brachman J, Dietz R, Kubler W. eds - Heart Failure and Arrhythmias. Heidelberg: Springer-Verlag, 1990: 33-42.
18. Skidgel RA, Engelbrecht S, Johnson AR, Erdos EG - Hydrolysis of substance P and neurotensin by converting enzyme and neutral endopeptidase. *Peptides* 1984; 5: 769-76.
19. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC et al - Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979; 44: 503-12.
20. Fishbein MC, MacLean D, Maroko PR - Experimental myocardial infarction in the rat. *Am J Pathol* 1978; 90: 57-70.
21. Mill JG, Stefanoni I, Leite CM, Vassallo DV - Changes in performance of the surviving myocardium after ventricular infarction in rats. *Cardiovasc Res* 1990; 24: 748-53.
22. Friedland J, Silverstein E - Sensitive fluorimetric assay for serum angiotensin converting enzyme with the natural substrate angiotensin. *Am J Clin Pathol* 1977; 58: 225-8.
23. Santos RAS, Brum JM, Broninham KB, Ferrario CM - The renin-angiotensin system during acute myocardial ischemia in dogs. *Hypertension* 1990; 15(suppl I): I-121-I-7.
24. Bergman I, Loxley R - The determination of hydroxyproline in urine hydrolysates. *Clin Chim Acta* 1970; 27: 347-9.
25. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ - Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
26. Mill JG, Leite CM, Vassallo DV - Efeitos do bloqueio simpático na hipertrofia cardíaca após infarto do miocárdio e suas repercussões na contratilidade miocárdica. *Arq Bras Cardiol* 1991; 57: 435-43.
27. Yamada H, Fabris B, Allen AM, Jackson N, Johnston CI, Mendelson FAO - Localization of angiotensin converting enzyme in rat heart. *Circ Res* 1991; 68: 141-9.
28. Hokimoto S, Yasue H, Fujimoto K, Sakata R, Miyamoto E - Increased angiotensin converting enzyme activity in left ventricular aneurysm of patients after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1995; 29: 664-9.
29. Sun Y, Weber KT - Angiotensin converting enzyme and myofibroblasts during tissue repair in the rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 851-8.
30. Hunt RA, Ciuffo GM, Saavedra JM, Tucker DC - Quantification and localization of angiotensin II receptors and converting enzyme in the developing rat heart. *Cardiovasc Res* 1995; 834-40.
31. Sun Y, Cleutjens JPM, Diaz-Arias AA, Weber KT - Cardiac angiotensin converting enzyme and myocardial fibrosis in the rat. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1423-8.
32. Busatto VCW, Cicilini MA, Mill JG - Increased angiotensin-converting enzyme activity in the left ventricle after infarction. *Brazilian J Med Biol Res* 1997; 30: 679-87.
33. Weinstock JV, Boros DL, Gee JB - Enhanced granuloma angiotensin I converting enzyme activity associated with modulation in murine schistosomiasis. *Gastroenterology* 1981; 81: 48-53.
34. Cleutjens JPM, Verluyten MJA, Smits JFM, Daemen MJAP - Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat. *Am J Pathol* 1995; 147: 325-38.
35. Mill JG, Busatto VCW, Cicilini MA - Time-dependent activation of the angiotensin converting enzyme in the heart after myocardial infarction. *J Heart Failure* 1996; 3: 55.
36. Griedling KK, Murphy TJ, Alexander RW - Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation* 1992; 87: 1816-28.
37. Griedling KK, Rittenhouse SE, Brock TA, Ekstein LS, Gimbrone MA, Alexander RW - Sustained diacylglycerol formation from inositol phospholipids in angiotensin II-stimulated vascular muscle cells. *J Biol Chem* 1986; 261: 5901-6.
38. Leite CM, Gomes MGS, Vassallo DV, Mill JG - Changes in collagen content in the residual myocardium surviving after infarction in rats. Influence of propranolol and hydralazine therapy. *Arch Med Res* 1995; 26: 79-84.
39. Gay G - Early and late effects of captopril treatment after large myocardial infarction in rats. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 967-77.
40. Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT - Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 809-20.
41. Michel JB, Lattion AL, Salzman JL et al - Hormonal and cardiac effects of converting enzyme inhibition in rat myocardial infarction. *Circ Res* 1988; 62: 641-50.
42. van Krimpen C, Schoemaker RJ, Cleutjens JPM et al - Angiotensin I converting enzyme inhibitors and cardiac remodeling. *Basic Res Cardiol* 1991; 86(suppl I): 149-55.
43. Taylor K, Patten R, Smith JJ et al - Divergent effects of angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin receptor antagonist on cell proliferation, collagen deposition and ventricular remodeling following myocardial infarction in rats. *Circulation* 1995; I-25.
44. Linz W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Scholkens BA - Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacol Rev* 1995; 47: 25-49.