

# Inibidores da enzima de conversão da angiotensina e infarto agudo do miocárdio. Estudo experimental em ratos\*

## Angiotensin converting enzyme inhibitors and acute myocardial infarction. Experimental study in rats

Eros Antonio Almeida<sup>1</sup>, Michiko Regina Ozaki<sup>2</sup>, Milton Lopes de Souza<sup>3</sup>

\*Recebido do Laboratório de Estudos em Endotélio, Lípidos e Aterosclerose - Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (FCM-UNICAMP), Campinas, SP

### RESUMO

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** O uso dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina por períodos prolongados de utilização, tem demonstrado sua eficiência em reduzir a mortalidade em portadores de ICC após infarto agudo do miocárdio. Há controvérsias em relação a quando iniciar o tratamento destes fármacos na fase peri-infarto do miocárdio, ou seja, antes ou precocemente após o infarto. O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de três inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA) em reduzir a mortalidade e a extensão do infarto agudo experimental em ratos, em dois esquemas posológicos diferentes.

**MÉTODO:** Ratos Wistar, machos, foram infartados por ligadura da artéria coronária descendente anterior e distribuído em três grupos: 1, 2 e 3 e três subgrupos: A, B, C : 1A e 2A - captopril (40 e 12,5 mg/kg); 1B e 2B - cilazapril (8 e 2 mg/kg); 1C e 2C - enalapril (16 e 5 mg/kg). O grupo 3 constituiu o grupo controle. Os fármacos foram administrados 48h antes e 48h após o infarto. A coloração pelo

cloreto de trifetil tetrazólio (TTC) e o exame histológico foram utilizados para verificação da extensão do infarto. Observou-se a mortalidade após a instalação do infarto. Utilizou-se o teste Qui-quadrado para avaliação estatística, sendo considerado significativo o valor de  $p < 0,05$ .

**RESULTADOS:** No subgrupo 1A a mortalidade foi menor que nos subgrupos 1B e 1C, mas não foi significativa em relação ao grupo D. A mortalidade no subgrupo 1C foi maior que no grupo D. Não houve diferença significativa entre a mortalidade nos subgrupos 2A, 2B e 2C. Em relação à extensão do infarto não houve diferença significativa entre os quatro grupos.

**CONCLUSÃO:** Os IECA estudados não reduziram a mortalidade e a extensão do infarto agudo experimental do miocárdio em ratos nas doses e períodos em que estas foram avaliadas.

**Descritores:** angiotensina, infarto agudo do miocárdio, inibidores da enzima de conversão, angiotensina, rato.

### SUMMARY

**BACKGROUND AND OBJECTIVES:** The use of angiotensin converting enzyme inhibitors for prolonged periods of use have demonstrated its effectiveness in reducing mortality in patients with CHF after acute myocardial infarction. There is controversy about when to start treatment of these drugs during perioperative myocardial infarction, before or early after infarction. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of angiotensin converting enzyme inhibitors in diminishing the death rate and the extension of experimental acute infarct in rats through two different posological schemes.

**METHOD:** Male Wistar rats were infarcted by the tie of the anterior descending coronary artery and arranged in three groups: 1, 2 and 3, and three subgroups: A, B and C: 1A and 2A – captopril (40 and 12.5 mg/kg); 1B and 2B – cilazapril (8 and 2 mg/kg); 1C and 2C – enalapril (16 and 5 mg/kg). The group 3 was a control group. Drugs were given 48 hours before and 48 hours after infarct. Staining by tryphenil tetrazolium chloride (TTC) and histological

1. Professor Livre Docente do Departamento de Clínica Médica da FCM/UNICAMP, Coordenador do Laboratório de Estudos em Endotélio, Lípidos e Aterosclerose - Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (FCM-UNICAMP)

2. Bióloga do Laboratório de Estudos em Endotélio, Lípidos e Aterosclerose - Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (FCM-UNICAMP)

3. Professor Doutor do Departamento de Clínica Médica da FCM-UNICAMP

Apresentado em 02 de outubro de 2009

Aceito para publicação em 18 de novembro de 2009

Endereço para correspondência:

Dr. Eros Antonio Almeida

Departamento de Clínica Médica/FCM/UNICAMP

Rua Alexander Fleming, nº 40 – Cidade Universitária “Zeferino Vaz”

Distrito de Barão Geraldo

13083-970 Campinas, SP

E-mail: eros@fcm.unicamp.br

analysis were used to verify the extension of the infarct. The death rate was verified after induced infarct procedure. We used the Chi-square test for statistical evaluation, considering significant  $p$  value  $< 0.05$ .

**RESULTS:** Mortality was lower in subgroups 1A than in 1B and 1C but it was not significant regarding group D. Death rate was higher in subgroup 1C than in D. There was no significant difference of death rate among subgroups 2A, 2B and 2C. As for the extension of the infarct, there was no significant difference among the four groups.

**CONCLUSION:** The doses of ACEI angiotensin converting enzyme inhibitor used in this period did not reduce the death rate or the extension of experimental acute myocardium infarct in rats.

**Keywords:** acute myocardial infarct, angiotensin converting enzyme inhibitors, rats.

## INTRODUÇÃO

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é a complicação mais temida das doenças cardiovasculares uma vez que apresenta alta morbidade e mortalidade. Precocemente podem ocorrer arritmias graves e insuficiência cardíaca aguda em alta porcentagem dos casos, mormente aqueles que acometem a parede anterior do ventrículo esquerdo e atingem grandes dimensões<sup>1</sup>.

Para a manutenção dos parâmetros hemodinâmicos prejudicados pelo déficit funcional sistólico, nos casos de IAM de maior extensão, mecanismos de compensação mediados pelo sistema neuro-hormonal são ativados<sup>2</sup>. Tais mecanismos de compensação, superativados, passam a gerar alterações deletérias ao miocárdio, como a indução de fibrose e hipertrofia miocárdica, inicialmente benéficas<sup>3,4</sup>. Em longo prazo, sobrevém o quadro de insuficiência cardíaca congestiva (ICC) com graves consequências hemodinâmicas.

Um dos mecanismos para compensação do estado hemodinâmico após o IAM é aquele que envolve o sistema renina - angiotensina - aldosterona determinando vasoconstrição periférica, inativando cininas vasoativas, principalmente a bradicinina, retendo sódio e volume, além de outras funções<sup>5</sup>. O bloqueio dos mecanismos compensatórios, principalmente o do sistema renina-angiotensina (SRA) tem sido um grande avanço no tratamento da ICC secundária a qualquer etiologia, mas principalmente àquela pós-IAM. Isto se tornou possível após a descoberta dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina I em angiotensina II (IECA), liberados para uso clínico na década de 1980<sup>6</sup>. Atualmente, o uso dos IECA encontra-se difundido em clínica médica e estudos de acompanhamento em longo prazo têm demonstrado sua eficiência em reduzir a mortalidade em portadores de ICC após infarto agudo do miocárdio<sup>7-9</sup>. Há controvérsias da repercussão clínica do uso destes fármacos na fase peri-infarto do miocárdio, ou seja, antes ou

precocemente após o evento, quando se deve iniciar o tratamento com os IECA e para que tipo de paciente, nestas ocasiões<sup>10-12</sup>.

Diante do exposto, os objetivos do presente estudo foram observar a influência que os IECA teriam na mortalidade e extensão do infarto agudo do miocárdio, quando usados por ocasião do evento circulatório em dois esquemas posológicos, utilizando o rato como modelo para o infarto experimental do miocárdio.

## MÉTODO

Foram usados ratos wistar, machos, com quatro meses de idade, pesando  $357,14 \pm 32$  g, procedentes do biotério da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), sendo observadas as orientações do *US National Institutes of Health* para cuidados e uso de animais de laboratório (NIH publication N 85-23 revisão). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas para cinco deles, com disponibilidade de água a vontade, em biotério com ciclos de luz/escuro de 12 horas.

O infarto do miocárdio foi realizado com os animais anestesiados com éter, após confinamento em cuba de vidro contendo chumaço de algodão embebido no anestésico. Após a anestesia por máscara, de acordo com a necessidade, procurando-se manter o animal o menor tempo possível anestesiado, realizou-se toracotomia por incisão longitudinal para esternal esquerda. Por pequena abertura do 4º espaço intercostal obtinha-se acesso ao coração, exposto por pressão na lateral direita do tórax. Usando-se fio de nylon 4-0 ocluía-se totalmente a coronária esquerda entre o cone da artéria pulmonar e o apêndice atrial esquerdo, segundo técnica descrita por Johns e Olson<sup>13</sup>. Imediatamente após, o tórax era fechado, reanimando-se os animais com oxigênio.

Utilizaram-se três diferentes apresentações de IECA conhecidos no mercado, sendo um deles portador de ligação sulfidril à enzima (cilazapril) e dois com radical carboxila para este fim (captopril e enalapril) em dois esquemas posológicos. Para a escolha das menores doses dos IECA usou-se como critério a menor dose de apresentação dos três diferentes fármacos fornecidos pelos fabricantes, preconizadas para utilização nas 24h, capazes de determinar modificações hemodinâmicas. Tal critério deu equivalência de ação entre os três utilizados. Como critério para doses maiores dos IECA usou-se como padrão a dose de 40 mg/kg de captopril. Procedeu-se assim, pois este IECA é aquele sobre o qual se encontra estudos na literatura enfocando eficácia de variadas dosagens do fármaco sobre o bloqueio do sistema renina angiotensina<sup>14</sup>. A partir deste padrão obteve-se a equivalência para os outros dois fármacos utilizados. Deste modo as doses dos diferentes IECA foram as seguintes: captopril (40 mg/kg e 12,5 mg/kg), duas vezes ao

dia; cilazapril (8 mg/kg e 2 mg/kg) e enalapril (16 mg/kg e 5mg/kg), uma vez ao dia. Os fármacos foram administrados via gavagem gástrica, após leve anestesia com éter, por 48h antes e 48h após o infarto, sendo que o grupo controle recebeu apenas solução fisiológica. A mortalidade foi registrada imediatamente à indução do infarto e no período de 48h que precedia o sacrifício dos animais.

Os animais foram distribuídos em três grupos e três subgrupos: Grupo 1 (1A, captopril, n = 29; 1B, cilazapril, n = 32; 1C, enalapril, n = 28), constituído por ratos infartados, tratados com doses mais altas de cada fármaco. Grupo 2 (2A, captopril, n = 13; 2B, cilazapril, n = 14; 2C, enalapril, n = 13) com animais recebendo doses menores dos fármacos e grupo 3 os animais controles (n = 30), consistindo de ratos infartados que receberam apenas solução fisiológica.

Após o sacrifício dos animais com éter, depois de 48h do infarto, o coração era excisado do tórax, lavado em solução fisiológica e cortado em quatro fragmentos transversalmente ao septo interventricular, de aproximadamente 2 mm de espessura, para verificação da extensão do IAM. Para este fim os fragmentos eram corados com o cloreto de trifetil tetrazólio (TTC) que cora o miocárdio normal em vermelho vivo e não cora as regiões infartadas, as quais ficam esbranquiçadas. Após, fixaram-se os fragmentos em formol para estudo histológico o qual foi feito com a coloração por hematoxilina-eosina. A extensão do IAM foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula matemática para cálculo do segmento de um círculo:  $S = (l-h) \cdot r/2$ , onde S = área do círculo, l = tangente, h = altura, r = raio. Considerou-se a porcentagem da área infartada em relação aquela do ventrículo esquerdo para designar a sua extensão. Infartos grandes foram aqueles que ocuparam área do ventrículo esquerdo maior que 50%, médio quando a área envolvia entre

25% e 50% e pequeno quando a área era menor que 25%. Utilizou-se para comparação entre os grupos o teste estatístico não paramétrico (Qui-quadrado) em vista dos resultados serem apresentados como frequências e não terem uma distribuição em curva normal, considerando-se  $p < 0,05$  para significância.

## RESULTADOS

As tabelas 1 e 2 apresentam os resultados observados quanto à mortalidade e extensão do infarto nos grupos. No subgrupo 1A houve menor mortalidade do que nos subgrupos 1B e 1C, mas não foi significativamente diferente dos animais controles (grupo 3). O número de mortes no subgrupo 1C foi significativamente maior do que nos animais controles. Não houve diferença significativa na mortalidade entre os subgrupos 2A, 2B e 2C.

Em relação à extensão do infarto os resultados estão apresentados nas tabelas 1 e 2 não demonstrando diferenças significantes entre os subgrupos.

## DISCUSSÃO

Os resultados apresentados demonstraram que a terapêutica com os inibidores da enzima de conversão da angiotensina, utilizados na fase recente do infarto experimental, não foram eficazes em reduzir a mortalidade dos animais. Pelo contrário, observando-se a tabela 1 nota-se que houve mortalidade superior no subgrupo 1C em relação ao grupo controle, o que demonstraria que o bloqueio do SRA, nesta fase da doença cardíaca não seria benéfico. Uma interpretação razoável para o fato, é de que no momento da obstrução vascular e isquemia súbita, o coração necessita

Tabela 1 - Frequência da mortalidade e extensão do infarto experimental do miocárdio em ratos usando IECA nos grupos e subgrupos 1A, 1B, 1C e 3.

Grupos/Subgrupos	Mortalidade	Extensão			Total
		P	M	G	
1A	8 (27,58%) *	-	-	21 (100%)	29
1B	14 (43,75%)	-	-	15 (100%)	29
1C	14 (50,00%)	-	-	14 (100%)	28
3	10 (33,33%)	-	-	20 (100%)	30

\*p < 0,05 em relação a 1B e 1C. P = pequena; M = média; G = grande.

Tabela 2 - Frequência da mortalidade e extensão do infarto experimental do miocárdio em ratos usando IECA nos grupos e subgrupos 2A, 2B, 2C e 3.

Grupos/Subgrupos	Mortalidade	Extensão			Total
		P	M	G	
2A	4 (30,76%)	1 (11%)	-	8 (88%)	13
2B	5 (35,76%)	-	-	9 (100%)	14
2C	4 (35,76%)	-	-	9 (100%)	13
3	10 (33,33%)	-	-	9 (100%)	30

p < 0,05 em relação a D. P = pequena; M = média; G = grande.

de mecanismos compensatórios para manutenção do seu metabolismo e dos parâmetros hemodinâmicos. Embora se saiba que o sistema nervoso autônomo e o peptídeo atrial natriurético são mecanismos hiperativados precocemente em situações onde a disfunção ventricular ocorre<sup>2,5</sup>, o SRA com suas múltiplas ações, representa fator importante na manutenção da hemodinâmica cardiovascular. Atribui-se que a capacidade vasoconstritora da angiotensina II seja, também, responsável pelo controle da resistência periférica, apresentando papel relevante na manutenção adequada do fluxo sanguíneo ao organismo, naquelas situações onde ocorra déficit de contratilidade miocárdica. A perda deste mecanismo regulador mediado pelo SRA contribuiria para a pior resposta dos animais infartados em uso dos IECA em relação aos controles. Isto se daria em consequência da hipotensão ocorrida pela redução da vasoconstrição periférica e liberação dos mecanismos vasodilatadores, principalmente mediada pela bradicinina, o que na disfunção cardíaca aguda seria prejudicial à manutenção do débito cardíaco. Todavia, ao se observar a tabela 2, nota-se que o subgrupo 2C não mais apresentou diferença com o grupo controle, nem com os demais subgrupos. A análise, então, deve ser feita em relação às doses dos fármacos utilizados. A dose usada nos animais do subgrupo 2C foram inferiores àquelas utilizadas no subgrupo 1C. É provável, pois, que as doses maiores nos primeiros subgrupos tenham provocadas modificações hemodinâmicas mais graves, principalmente em relação às quedas tensionais, permitindo que os animais sofressem o estresse isquêmico em condições desfavoráveis de adaptação circulatória. Estudos realizados com o propósito de averiguar modificações hemodinâmicas dos IECA demonstraram, indubitavelmente, reduções nos níveis da pressão arterial<sup>15-17</sup>, quando utilizados em doses semelhantes ao do presente estudo. Por isso, deve-se admitir que os resultados obtidos sejam imputados a tais modificações. Este fato representa um alerta para que se devam levar em conta os efeitos deletérios de tais fármacos no infarto recente do miocárdio, devendo-se aguardar a estabilização dos parâmetros hemodinâmicos para sua utilização. Atenção deve ser tomada, também, nos pacientes já em uso de IECA que sofrem IAM e que, talvez, venham a se beneficiar com a suspensão destes.

Por outro lado, a mortalidade precoce no IAM está relacionada ao aparecimento de arritmias complexas, mais do que à insuficiência cardíaca<sup>1,18</sup>. O SRA influencia mais as modificações estruturais do miocárdio após o infarto em sua fase tardia<sup>19-22</sup>, sendo que autores holandeses observaram que os IECA não são capazes de influenciar significativamente mudanças estruturais da cavidade ventricular esquerda na fase recente do infarto do miocárdio em ratos<sup>23</sup>. Estudos ainda necessitam serem realizados para demonstrar eficácia ou não dos IECA nos distúrbios do ritmo cardíaco, porém, não parece que tais fármacos tenham propriedades farmacológicas antiarrítmicas e, por estes motivos, também, elas

não melhorem a sobrevida na fase recente do infarto experimental do miocárdio.

Em doses menores, os resultados da tabela 2 demonstraram que as diferenças observadas na tabela 1, deixaram de existir. Parece, então, que a diferença encontrada esteja relacionada à dose empregada.

O tipo de ligação dos IECA à enzima de conversão, sulfidrila ou carboxila, não deve individualizar tais fármacos em relação à sua influência sobre a mortalidade pós-IAM. Portanto, os diferentes tipos de IECA utilizados no presente estudo apresentaram ações semelhantes em relação à mortalidade na fase recente do infarto experimental do miocárdio em ratos. Então, os IECA utilizados devem ser entendidos como tendo função classe específica em relação à sua eficácia, quando usadas no tratamento do IAM e, não como fármacos individualizados. As diferenças, portanto, se limitam apenas ao seu metabolismo, uma vez que algumas têm tempo de ação mais prolongado que outras e, assim, maior praticidade de uso. Outras, maior potência em bloquear o SRA, possibilitando redução nas doses utilizadas.

Em relação à extensão do infarto os resultados expressos na tabela 1 e 2 demonstraram que os IECA foram incapazes de induzirem redução. Estudos anteriores neste modelo, todavia, expressam resultados opostos<sup>15,16</sup>. Os métodos utilizados para verificação da extensão do infarto nos estudos onde se constatou redução desta nos animais que receberam os IECA foram a coloração pelo TTC e cálculo matemático da área infartada. Tal metodologia foi a mesma utilizada no presente estudo, portanto não se pode explicar esta controvérsia com base apenas na verificação do tamanho do infarto. Pode ser que os resultados sejam conflitantes, porque os estudos que demonstram a capacidade dos IECA, principalmente captopril, em reduzir a extensão do infarto experimental do miocárdio avaliaram tal resultado na fase tardia deste e, por esta ocasião, não se discute que tais fármacos sejam úteis<sup>21</sup>. Todavia, já se demonstrou que o uso de IECA a partir do primeiro dia do infarto experimental do miocárdio foi capaz de reduzir a produção de colágeno em áreas que não a do infarto<sup>19</sup>. Isto foi acompanhado por diminuição, também, da síntese de DNA, demonstrando a não replicação celular, no caso, atribuída aos fibroblastos, uma vez que o miocardiócito não se hiperplasia após o nascimento. Os parâmetros hemodinâmicos observados concomitantemente demonstraram disfunção miocárdica e, portanto, parece que a interferência com a produção precoce de fibrose nas áreas não infartadas é prejudicial ao coração na fase recente do infarto do miocárdio. Estas observações da literatura podem justificar os achados do presente estudo. Observações antigas e recentes, no entanto, têm demonstrado que o rato não é considerado o melhor modelo, quando se querem verificar variações na dimensão do infarto do miocárdio<sup>13,24</sup>. Isto se deve às grandes variações naturais da extensão do infarto ocorridas neste modelo experimental.

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir, portanto, que os IECA não reduziram a mortalidade do infarto experimental do miocárdio em ratos, quando usados na fase recente do evento, assim como não reduziram a extensão deste. Também, que não houve diferenças entre os tipos de IECA utilizados, neste sentido.

## REFERÊNCIAS

1. Kurokawa J, Abriel H. Neurohormonal regulation of cardiac ion channels in chronic heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2009;54:98-105.
2. Packer M. Pathophysiology of chronic heart failure. *Lancet*, 1992;340:88-92.
3. Weir MR. Providing end-organ protection with renin-angiotensin system inhibition: the evidence so far. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2006;8:99-107.
4. Almeida EA. Bases anatomopatológicas da insuficiência cardíaca. *Rev Soc Cardiol, Estado de São Paulo*, 1993;5:7-13.
5. Greenwald L, Becker RC. Expanding the paradigm of the rennin-angiotensin system and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am Heart J*, 1994;128:997-1009.
6. Ferrario CM. Role of angiotensin II in cardiovascular disease: therapeutic implications of more than a century of research. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2006;7:3-14.
7. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med*, 1991;325:293-302.
8. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med*, 1992;327:669-677.
9. Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. *Lancet*, 1992;342:821-828.
10. Pfeffer MA. ACE inhibition in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 1995;12:118-120.
11. Alhaddad IA, Sahgal P, Mir R, et al. Early angiotensin converting enzyme inhibitor therapy enhances the benefits of late coronary artery reperfusion on infarct expansion. *Coron Artery Dis*, 2000;11:183-189.
12. Hansen ML, Gislason GH, Kober L, et al. Different angiotensin-converting enzyme inhibitors have similar clinical efficacy after myocardial infarction. *Br J Clin Pharmacol*, 2007;65:217-223.
13. Johns TN, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg*, 1954;140:675-682.
14. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, et al. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J*, 1981;101:593-600.
15. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res*, 1985;57:84-95.
16. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, et al. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation*, 1985;72:406-412.
17. Demers C, Mody A, Teo KK, et al. ACE inhibitors in heart failure: what more do we need to know? *Am J Cardiovasc Drugs*, 2005;5:351-359.
18. Prisant LM, Thomas KL, Lewis EF, et al. Racial analysis of patients with myocardial infarction complicated by heart failure and/or left ventricular dysfunction treated with valsartan, captopril or both. *J Am Coll Cardiol*, 2008;51:1865-1871.
19. van Krimpen C, Schoemaker RG, Cleutjens JP, et al. Angiotensin I converting enzyme inhibitors and cardiac remodeling. *Basic Res Cardiol*, 1991;86:(Suppl1):149-155.
20. Pinto YM, van Wijngaarden J, van Gilst WH, et al. The effects of short- and long-term treatment with ACE-inhibitors in rats with myocardial infarction. *Basic Res Cardiol*, 1991;86:(Suppl1):165-172.
21. Sweet CS, Ludden CT, Stabilito II, et al. Beneficial effects of milrinone and enalapril on long-term survival of rats with healed myocardial infarction. *Eur J Pharmacol*, 1988;147:29-37.
22. Pfeffer JM. Progressive ventricular dilation in experimental myocardial infarction and its attenuation by angiotensin-converting enzyme inhibition. *Am J Cardiol*, 1991;68:17D-25D.
23. Richer C, Mulder P, Fornes P, et al. Long-term treatment with trandolapril opposes cardiac remodeling and prolongs survival after myocardial infarction in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992;20:147-156.
24. Normann SJ, Priest RE, Benditt EP. Electrocardiogram in the normal rat and its alteration with experimental coronary occlusion. *Circ Res*, 1961;9:282-287.