

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**FRANCISCO CESAR PABIS**

**AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA EVOLUTIVA DO INFARTO DO MIOCÁRDIO  
EM RATOS JOVENS E ADULTOS**

**CURITIBA**

**2006**

**FRANCISCO CESAR PABIS**

**AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA EVOLUTIVA DO INFARTO DO MIOCÁRDIO  
EM RATOS JOVENS E ADULTOS**

**Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná para obtenção do grau de Mestre.**

**Orientador: Prof. Dr. Luiz César Guarita Souza  
Co-orientador: Prof. Dr. Nelson Itiro Miyague**

**CURITIBA**

**2006**

Dados da Catalogação na Publicação  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR  
Biblioteca Central

Pabis, Francisco Cesar  
P112a Avaliação ecocardiográfica evolutiva do infarto do  
2006 miocárdio em ratos jovens e adultos / Francisco Cesar Pabis ; orientador,  
Luiz César Guarita Souza, co-orientador, Nelson Itiro Miyague. -- 2006.  
86 f. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,  
Curitiba, 2006  
Bibliografia: f. 69-76

1. Doppler, Ecocardiografia. 2. Infarto de miocárdio. 3. Rato como animal  
de laboratório. I. Souza, Luiz César Guarita. II. Miyague, Nelson Itiro.  
III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-  
Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 20. ed. – 616.1237

## Termo de aprovação



Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

### ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

Aos dezoito dias do mês de dezembro de 2006, realizou-se a sessão pública de defesa de dissertação "AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA EVOLUTIVA DO INFARTO DO MIOCÁRDIO EM RATOS JOVENS E ADULTOS" apresentada por FRANCISCO CESAR PABIS para obtenção do título de mestre; Área de Concentração: Medicina e áreas afins.

A Banca Examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dr. Luiz César Guarita Souza PUCPR – Presidente	
Prof. Dr. Emilton Lima Júnior PUCPR	
Prof. Dr. Valdir Ambrósio Moisés UNIFESP	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dr. Luiz César Guarita Souza      Conceito: Aprovado  
Prof. Dr. Emilton Lima Júnior            Conceito: Aprovado  
Prof. Dr. Valdir Ambrósio Moisés        Conceito: Aprovado  
Conceito Final: Aprovado

Observações da Banca Examinadora:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luiz César Guarita Souza  
Presidente da Banca Examinadora

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Roberto Flavio Pecoits Filho  
Diretor do PPGCS PUCPR

Aos **meus pais** (Francisco *in memorium* e Bronislava), por estimularem “o estudar”, pois acreditavam ser a única maneira de evoluir.

À minha esposa, por dar continuidade e suporte a esta atitude.

Por tudo,

Obrigado.

## AGRADECIMENTOS

Ao **Professor Doutor Luiz César Guarita Souza**, meu orientador, pelo grande e firme apoio nesta caminhada com acolhimento de nosso projeto.

Ao **Professor Doutor Nelson Itiro Miyague**, o maior responsável por eu estar neste caminho, pelas magníficas horas que convivemos na realização dos experimentos e na elaboração desta dissertação. Muito obrigado por tudo.

À **Doutora Mona Adalgisa Simões** (esposa), a protagonista dos atos iniciais para a realização deste empreendimento.

Ao **Julio César Francisco**, por sua colaboração técnica, presteza e desprendimento, que foram imprescindíveis na realização deste projeto.

Ao meu tio, **Pe. Francisco Soczek**, que foi o primeiro a estimular seus sobrinhos a realizarem um curso superior.

Aos meus filhos, **Francisco e Julia**, por suportarem o estresse e a ausência do pai, além de colaborarem em questões de informática.

À minha irmã, **Nelsi A. Pabis**, por estimular esta jornada.

À **Sr<sup>a</sup>. Ismênia Aparecida Simões**, minha sogra, pelo apoio incondicional.

Agradeço a todos que, de alguma maneira, mesmo que anônima, colaboraram ou facilitaram o meu caminho.

À **Professora Márcia Olandoski**, pelo seu auxílio e afável acolhimento.

Ao **Dr. Vinícius Voitowicz**, cirurgião cardíaco, pela colaboração no experimento.

À **Professora Doutora Lucia de Noronha**, pela gentil colaboração.

À equipe do **Laboratório de Cirurgia Experimental**, pelo apoio.

À **Rossana Simeoni Baggio**, pela colaboração dispensada e pelo apoio.

À equipe do **Biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná**, pelos cuidados dispensados aos animais em experimentação.

À equipe do **Laboratório de Patologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná**, pela colaboração na realização deste projeto.

Aos **Funcionários e Diretores** da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, por sua colaboração.

Aos **Professores das Disciplinas**, pelo empenho e pela dedicação.

Obrigado.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	- grupo de ratos adultos
A1	- grupo adulto de ratos infartados
A2	- grupo adulto de ratos controles
AE	- átrio esquerdo
Ao	- aorta
bpm	- batimentos por minuto
b-FGF	- basic fibroblast growth factor. Fator básico de crescimento de fibroblasto
BrdUrd	- 5-bromo-2'-deoxyuridine. Bromodeoxyuridina
CDKs	- cyclin dependent kinase. Ciclinas dependentes das kinases
CEPA	- Comissão de Ética em Pesquisa com Animais
D1/CDK4	- cyclin D1 and its partner, cyclin-dependent kinase 4. Complexo ciclina tipo D1 e ciclina dependente da kinase 4
DL50	- dose letal
DNA	- desoxyribonucleic acid. Ácido desoxirribonucléico
FC	- frequência cardíaca
FE	- fração de ejeção
g	-grama (peso)
H <sup>3</sup> Thimidina	- marcador de proliferação celular
Inmetro	- Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IPM	- índice de performance miocárdica
J	- grupo de ratos jovens
J1	- grupo de ratos jovens infartados
J2	- grupo de ratos jovens controles
Ki-67	- Ki-67 é abreviatura de um antígeno marcado de atividade celular
LCACE	- Ligadura cirúrgica da artéria coronária esquerda
m/s	- medida de velocidade em metros por segundo
MHz	- mega-Hertz
mg/Kg	- miligrama por quilograma de peso
ml	- mililitro

mmHg	- milímetros de mercúrio
MRL	- espécie de ratos
n	- número de amostras analisadas
p	- nível de significância estatística
PDGF	- <i>platelet-derived growth factor</i> . Fator de crescimento derivado das plaquetas
p <sup>ink4a</sup>	- marcador de marcador de célula adulta
PO	- pós-operatório
PUCPR	- Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Tecpar	- Instituto de Tecnologia do Paraná
TGF- [B] <sub>1</sub>	- <i>transforming growth factor -[beta]<sub>1</sub></i> . Fator de transformação do crescimento beta 1
Vdf	- volume diastólico final
Vsf	- volume sistólico final

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Intubação orotraqueal .....	33
Figura 2: Respirador de volume utilizado .....	34
Figura 3: Freqüência cardíaca durante as fases do estudo .....	50
Figura 4: Evolução do volume diastólico final nas fases estudadas.....	51
Figura 5: Evolução do volume sistólico final durante o estudo.....	52
Figura 6: Evolução da fração de ejeção durante o estudo .....	53
Figura 7: Evolução da onda E nas fases do estudo .....	54
Figura 8: Evolução da onda A nas fases do estudo .....	54
Figura 9: Comparação da relação E/A entre os grupos jovem e adulto .....	55
Figura 10: Evolução do índice de performance miocárdica.....	56
Quadro 1: Distribuição das variáveis ecocardiográficas nos grupos de ratos jovens	40
Quadro 2: Distribuição das variáveis Doppler-cardiográficas nos grupos de ratos jovens .....	41
Quadro 3: Valores ecocardiográficos comparativos entre os dias 7 e 30 após o infarto em ratos jovens .....	42
Quadro 4: Valores Doppler-cardiográficos comparativos entre os dias 7 e 30 nos ratos jovens .....	44
Quadro 5: Valores das variáveis ecocardiográficas no grupo de ratos adultos.....	46
Quadro 6: Valores das variáveis Doppler-cardiográficas nos grupos de ratos adultos.....	47
Quadro 7: Valores ecocardiográficos comparando os grupos de ratos adultos entre 7 e 30 dias após o infarto .....	48
Quadro 8: Valores Doppler-cardiográficos comparativos entre os dias 7 e 30 após o infarto em ratos adultos.....	49

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Nos corações de mamíferos ocorre multiplicação celular com maior intensidade em jovens do que em adultos. Desta forma, a recuperação espontânea dos cardiomiócitos após o infarto do miocárdio (IM) é mais evidente em animais jovens; entretanto, não se sabe se esta recuperação é acompanhada de melhora funcional. **OBJETIVOS:** Análise funcional por meio de ecocardiografia com Doppler de ratos jovens e adultos submetidos ao infarto do miocárdio, nos seguintes parâmetros: volumes diastólico e sistólico finais do ventrículo esquerdo, funções diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo e índice de performance miocárdica (IPM) do ventrículo esquerdo. **MATERIAL E MÉTODOS:** Trinta e cinco ratos jovens com idade de 28 dias e 37 ratos adultos com 153 dias, machos da linhagem Wistar, foram submetidos ao infarto do miocárdio. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram examinados por meio de ecocardiograma com Doppler pulsado no 7<sup>o</sup> e 30<sup>o</sup> dia de pós-operatório (PO), para análise dos volumes diastólico final (Vdf) e sistólico final (Vsf) do ventrículo esquerdo, da função sistólica do ventrículo esquerdo pelo método de Simpson, da função diastólica pela análise do fluxo mitral (onda E, onda A, relação E/A) e da função ventricular esquerda global pelo IPM. Foram incluídos nos grupos infartados, somente ratos com fração de ejeção (FE) menor que 40% após ecocardiograma do sétimo dia de pós-operatório. **RESULTADOS:** A mortalidade global após o procedimento cirúrgico foi de 34,5%. No grupo jovem foram excluídos 18 (33,9%) e no grupo adulto 8 (17,3%), com fração de ejeção maior que 40%. No grupo jovem os volumes diastólicos apresentaram-se semelhantes entre infartados e controles ( $p=0,441$ ) e o volume sistólico aumentado significativamente nos infartados somente com 7 dias ( $p=0,004$ ). A fração de ejeção foi menor no grupo jovem infartado, significativo com 7 dias ( $p<0,001$ ), porém demonstrou melhora significativa na evolução de 7 para 30 dias ( $28,1\pm 8,8\%$  para  $40,6 \pm 13,2\%$ ,  $p=0,001$ ). O fluxo mitral não mostrou alteração significativa e o IPM, mostrou alterado com 7 dias,  $p=0,034$ . Os ratos adultos demonstraram volumes cardíacos consistentemente maiores nos ratos infartados, e a FE foi estatisticamente menor, e não sofreu melhora na análise evolutiva. O IPM apresentou-se alterado somente com 7 dias. A fração de ejeção dos ratos jovens, apesar de abaixo da normalidade, apresentou melhora quando comparado com os ratos adultos. **CONCLUSÕES:** Houve melhora da fração de ejeção dos ratos jovens infartados em relação ao grupo controle e em relação aos ratos adultos infartados. Houve remodelamento ventricular dos animais do grupo infartado em relação aos animais adultos do grupo controle. Os ratos adultos infartados demonstraram função diastólica restritiva diferente dos jovens.

**Palavras-chave:** Infarto do miocárdio. Rato. Ecocardiografia. Doppler. Fração de ejeção.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** In the heart of mammals, cellular multiplication occurs more intensely in young individuals than in adult ones. Therefore, spontaneous recovery of cardiomyocytes after a myocardial infarction is more evident in young animals; however, whether such recovery is followed by functional improvement or not is something yet unknown. **OBJECTIVE:** Functional analysis through echocardiography with Doppler of young and adult rats that underwent myocardial infarction according to the following parameters: final diastolic and systolic volumes of the left ventricle, diastolic and systolic functions of the left ventricle and myocardial performance index of the left ventricle. **MATERIAL AND METHODS:** Thirty-five young rats (28 days old) and 37 adult rats (153 days old), all males of Wistar lineage, underwent myocardial infarction. After the surgical procedure, the animals were examined through echocardiography with pulsed Doppler on the 7<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> postoperative day for analysis of the following: final diastolic volume and final systolic volume of the left ventricle, systolic function of the left ventricle through Simpson's method, diastolic function through mitral flow analysis (wave E, wave A, relation E/A) and left global ventricular function through myocardial performance index. Only rats with ejection fraction lower than 40% after echocardiography on the seventh postoperative day were included in the group of animals that underwent infarction. **RESULTS:** Global mortality after surgical procedure was 34.5%. In the young group 18 animals (33.9%) were excluded, and in the adult group 8 animals (17.3%) with ejection fraction above 40% were excluded. In the young group, the diastolic volume appeared similar between the animals undergoing infarction and the control ones ( $p=0.441$ ), and the systolic volume increased significantly among the ones undergoing infarction within only seven days ( $p=0.004$ ). Ejection fraction was lower in the young group of animals undergoing infarction within 7 days ( $p<0,001$ ), but it showed a significant improvement in the evolution period from 7 to 30 days ( $28.1\pm 8.8\%$  to  $40.6 \pm 13.2\%$ ,  $p=0.001$ ). Mitral flow did not point to any significant alteration and myocardial performance index appeared altered within 7 days ( $p=0.034$ ). The adult rats undergoing infarction had cardiac volumes consistently higher; ejection fraction was statically lower and did not have improvement in the evolution analysis. myocardial performance index PI appeared altered within seven days. Ejection fraction in young rats, though below normality, showed improvement when compared to that in adult rats. **CONCLUSIONS:** There was an improvement in the ejection fraction of young rats infarcted in relation to that in the control group and comparing of adult ones. There was ventricular remodeling of the animals in the infarction group when compared to the animals in the control group. The adult rats infarcted had demonstration restrictive diastolic function, opposite of young infarcted ones.

**Key-words:** Myocardial infarction. Rat. Echocardiography. Doppler. Ejection fraction.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
3.1 O CORAÇÃO DO RATO .....	16
3.2 BINUCLEAÇÃO DOS CARDIOMIÓCITO.....	17
3.3 INFARTO DO MIOCÁRDIO.....	18
3.4 COLÁGENO NO INFARTO DO MIOCÁRDIO .....	23
3.5 PROLIFERAÇÃO DE CARDIOMIÓCITO .....	24
3.6 ECOCARDIOGRAFIA .....	27
<b>3.6.1 O método para diagnóstico</b> .....	<b>27</b>
<b>3.6.2 Dimensões das cavidades</b> .....	<b>27</b>
<b>3.6.3 Função ventricular sistólica</b> .....	<b>28</b>
<b>3.6.4 Função ventricular diastólica</b> .....	<b>28</b>
<b>3.6.5 Índice de performance miocárdica</b> .....	<b>29</b>
3.7 HIPÓTESE .....	30
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	31
4.2 AMOSTRA.....	31
4.3 CUIDADOS GERAIS COM OS ANIMAIS.....	32
<b>4.3.1 Condições do biotério</b> .....	<b>32</b>
<b>4.3.2 Anestesia</b> .....	<b>32</b>
<b>4.3.3 Ventilação mecânica</b> .....	<b>33</b>
4.4 PROCEDIMENTO DO INFARTO DO MIOCÁRDIO .....	34
4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....	34
4.6 ANÁLISE ECOCARDIOGRÁFICA.....	35
4.7 EUTANÁSIA .....	36
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	36
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
5.1 ANÁLISE DOS GRUPOS.....	38
5.2 ANÁLISE NO GRUPO DE RATOS JOVENS: INFARTADO VERSUS CONTROLE .....	39

<b>5.2.1</b>	<b>Freqüência cardíaca.....</b>	<b>39</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Análise ecocardiográfica no grupo jovem .....</b>	<b>39</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Análise doppler-cardiográfica no grupo jovem .....</b>	<b>40</b>
<b>5.2.4</b>	<b>Análise ecocardiográfica evolutiva no grupo jovem.....</b>	<b>41</b>
<b>5.2.5</b>	<b>Análise Doppler-cardiográfica evolutiva em ratos jovens.....</b>	<b>43</b>
<b>5.3</b>	<b>ANÁLISE DO GRUPO DE RATOS ADULTOS: INFARTADOS VERSUS CONTROLES .....</b>	<b>44</b>
<b>5.3.1</b>	<b>Freqüência cardíaca.....</b>	<b>44</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Análise ecocardiográfica do grupo adulto.....</b>	<b>45</b>
<b>5.3.3</b>	<b>Análise Doppler-cardiográfica do grupo adulto .....</b>	<b>46</b>
<b>5.3.4</b>	<b>Análise ecocardiográfica evolutiva no grupo adulto .....</b>	<b>47</b>
<b>5.3.5</b>	<b>Análise Doppler-cardiográfica evolutiva no grupo adulto.....</b>	<b>48</b>
<b>5.4</b>	<b>COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS JOVEM E ADULTO INFARTADOS.....</b>	<b>50</b>
<b>5.4.1</b>	<b>Análise da freqüência cardíaca.....</b>	<b>50</b>
<b>5.4.2</b>	<b>Análise das variáveis ecocardiográficas.....</b>	<b>50</b>
<b>5.4.3</b>	<b>Análise das variáveis Doppler-cardiográficas .....</b>	<b>53</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>6.1</b>	<b>ASPECTOS GERAIS .....</b>	<b>57</b>
<b>6.2</b>	<b>FREQÜÊNCIA CARDÍACA .....</b>	<b>60</b>
<b>6.3</b>	<b>ANÁLISE FUNCIONAL.....</b>	<b>61</b>
<b>6.3.1</b>	<b>Ecocardiograma .....</b>	<b>61</b>
<b>6.3.2</b>	<b>Doppler-cardiograma .....</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>
	<b>APÊNDICE A - MOMENTO DE AVALIAÇÃO: 7 DIAS .....</b>	<b>77</b>
	<b>APÊNDICE B - MOMENTO DE AVALIAÇÃO: 30 DIAS .....</b>	<b>79</b>
	<b>APÊNDICE C - MOMENTOS COMPARATIVOS: 7 DIAS X 30 DIAS .....</b>	<b>81</b>
	<b>APÊNDICE D - MOMENTOS COMPARADOS: 7 E 30 DIAS.....</b>	<b>83</b>
	<b>APÊNDICE E - PESOS DOS RATOS E DOS CORAÇÕES COM 7 DIAS PÓS- OPERATÓRIO .....</b>	<b>84</b>
	<b>APÊNDICE F - PESOS DOS RATOS E DOS CORAÇÕES COM 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO .....</b>	<b>85</b>
	<b>ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS.....</b>	<b>86</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O infarto do miocárdio é um problema importante de saúde pública, com altos índices de morbimortalidade e relevância tanto do ponto de vista clínico como epidemiológico.<sup>(1)</sup>

Dados do *International Cardiovascular Disease Statistics* sugerem que as doenças cardiovasculares em países em desenvolvimento ocorrem em indivíduos com idade mais precoce que nos países desenvolvidos.<sup>(2)</sup>

Segundo o DATASUS, no Brasil, as doenças cardiovasculares representam a primeira causa de mortalidade, sendo responsáveis por 32% dos óbitos e o terceiro motivo para internação hospitalar, correspondendo a 10,38% no ano de 2002. No ano de 2001, foram registrados 79.375 casos de doença isquêmica do coração, alcançando taxa média de mortalidade nas unidades da Federação de 46,04/100.000 habitantes.<sup>(3)</sup>

Importante a ressaltar que o infarto do miocárdio apresenta alto índice de morbidade entre as doenças cardiovasculares. Conforme citado por Tarnavski et al., o risco estimado de desenvolvimento de doença arterial coronariana é de 49% em homens e de 32% em mulheres após os 40 anos.<sup>(4)</sup>

Em países desenvolvidos, 40% a 75% das vítimas de ataque cardíaco morrem antes de chegarem ao hospital. Nos Estados Unidos, as doenças cardíacas representam isoladamente a causa mais comum de morte, ocorrendo aproximadamente 600.000 óbitos a cada ano, e é mais freqüente entre os homens. As estatísticas sugerem que 8% da população norte-americana (estimativa de 20 milhões de pessoas) apresentam alguma forma de doença cardíaca. Dos pacientes que sobrevivem ao infarto do miocárdio, 30 a 40% evoluem para insuficiência cardíaca congestiva, população esta calculada em torno de 5 milhões de pessoas, sendo que a sobrevivência, estimada em torno de cinco anos após o diagnóstico, é de 50%.<sup>(2),(4),(5)</sup>

O infarto do miocárdio é desencadeado quando o suprimento sanguíneo ao miocárdio é interrompido. A artéria coronária que é obstruída determinará primariamente o território infartado e a magnitude da perda de cardiomiócitos. Na oclusão da artéria coronária esquerda, a área infartada pode alcançar mais de 40%

da massa ventricular esquerda. O processo de necrose dirige-se da região endocárdica para a epicárdica nos infartos transmurais. <sup>(6)</sup>

No período de quatro a seis horas o processo de necrose em humanos já está completo. Grandes esforços são dispensados para que a vítima de infarto do miocárdio receba tratamento adequado rapidamente. Quarenta a 60% dos óbitos ocorrem nas primeiras horas desde o início dos sintomas e, aproximadamente, 80% em 24 horas. O tempo decorrido para o restabelecimento da irrigação sangüínea é o fator fundamental para benefícios do tratamento. Os melhores resultados na recuperação da função ventricular são obtidos quando a recanalização coronariana é conseguida até 12 horas após o início da dor. <sup>(7)</sup>

Várias linhas de pesquisa estão sendo realizadas com o objetivo de obter-se a regeneração das células cardíacas. Dentre elas, a terapia gênica e a terapia celular têm sido mais estudadas, e com resultados animadores. Entretanto, há ainda, muitos problemas a serem esclarecidos. <sup>(8)</sup>

Kajstura et al. relatam que a proliferação de novos cardiomiócitos em mamíferos pode ser um adicional e importante componente na homeostase cardíaca. Em modelos de miocardiopatia dilatada aguda, a progressão de insuficiência cardíaca moderada para severa foi caracterizada pela replicação de cardiomiócitos, assim como a proliferação de cardiomiócitos foi proposta para caracterizar a fase de transição de hipertrofia fisiológica compensada para disfunção cardíaca e descompensada. <sup>(9)</sup>

Em outro estudo, Anversa et al. produziram infarto do miocárdio em ratos Wistar com idade de 80 dias, considerados adultos jovens, e realizaram estudo anátomo-patológico 40 dias após o infarto. Observaram que somente por hipertrofia o coração seria incapaz de retornar à função adequada. Sugeriram que o coração submetido a grande estresse pode desencadear regeneração celular como mecanismo de compensação. <sup>(6)</sup>

Wexler, BC, sugere que a evolução do infarto do miocárdio é diferente em ratos adultos jovens e adultos. Nos ratos adultos jovens foi observado maior infiltrado inflamatório e nos ratos mais velhos o edema persiste por mais tempo com acúmulo de substância como mucopolissacarídeos. <sup>(10)</sup>

Em modelos experimentais de infarto do miocárdio à anatomia patológica foi sugerido que os ratos jovens apresentaram maior capacidade de replicação das células cardíacas em relação aos adultos <sup>(11), (12)</sup>, entretanto, a análise funcional

comparativa do coração infartado de ratos jovens e adultos ainda não está bem estabelecida. Diante disso, temos como hipótese que os ratos jovens apresentam melhor recuperação da função cardíaca e menor remodelamento ventricular quando comparados com ratos adultos.

## **2 OBJETIVOS**

Realizar análise funcional evolutiva pela ecocardiografia com Doppler do coração de ratos jovens e adultos submetidos ao infarto do miocárdio.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 O CORAÇÃO DO RATO

O coração do rato apresenta desenvolvimento fetal rápido, com início das contrações efetivas aproximadamente na metade do período gestacional (10 dias). Durante a gestação, o coração cresce por hiperplasia das suas células, aumentando a massa cardíaca. Bishop, SP demonstrou que corações de fetos expostos à sobrecarga de volume apresentaram aumento do número de células ao nascimento.<sup>(12)</sup>

A proliferação de células cardíacas, estudadas com a marcação de núcleos com 5-bromo-2' deoxyuridine (bromodeoxiuridina) por Anversa, P e Kajstura, J, mostrou que 17% das células cardíacas do rato no final da gestação, 13% no primeiro dia de vida e 0,2% no adulto incorporam este marcador. Isso demonstra que o maior aumento de células ocorre no período fetal e no início da vida.<sup>(13)</sup> Foi calculado o número de cardiomiócitos em diferentes idades. O coração de rato ao nascimento possui  $13,3 \times 10^6$  células musculares, com cinco dias  $19,2 \times 10^6$ , com 11 dias  $22,3 \times 10^6$  e na idade adulta  $28,9 \times 10^6$ .<sup>(14)</sup>

A mudança da forma de crescimento hiperplásico para hipertrófico é acompanhada por mudança da anatomia, fisiologia e bioquímica do coração. A pressão nas cavidades ventriculares dos ratos varia de 14 a 25mmHg ao nascimento, e em algumas semanas alcança 120mmHg no ventrículo esquerdo. Esta sobrecarga hemodinâmica abrupta imposta ao ventrículo esquerdo está relacionada à eliminação da placenta e ao aumento da resistência vascular periférica. Isto determina que o aumento da massa do ventrículo esquerdo seja maior e mais rápido do que o da massa do ventrículo direito. Após esse período de adaptação, o crescimento de ambos os ventrículos se faz de maneira semelhante.<sup>(12), (15)</sup>

O coração do rato apresenta três fases de crescimento no período pós-natal. Nos primeiros quatro dias de vida, o coração cresce mais rápido que o corpo, e posteriormente o corpo cresce mais. No período entre 1<sup>o</sup> e 11<sup>o</sup> dia após o nascimento, há grande aumento de miofibrilas, mitocôndrias e sistema retículo

endoplasmático com perda da matriz citoplasmática. Nesse mesmo período, foi detectado aumento de 100% de miócitos no ventrículo esquerdo e menor aumento no ventrículo direito. Este aumento é mais pronunciado nos cinco primeiros dias. Os miócitos aumentaram em secção transversa, dobraram em comprimento e apresentaram aumento de volume celular por núcleo de 60 a 70% entre 1 e 5 dias e de 6 a 9% entre 5 e 11 dias. Foi observado aumento de 6,2 vezes no peso e apenas 2,7 vezes na espessura da parede. <sup>(15)</sup>

A fase de transição é caracterizada pelo crescimento por hipertrofia e hiperplasia e acontece entre 6 e 14 dias de vida. Cessada a hiperplasia, as células musculares mudam da orientação longitudinal para transversal, sendo que o tamanho máximo do cardiomiócito é alcançado com a maturidade do animal. <sup>(13), (15)</sup>

Após a fase de transição, o crescimento se faz primordialmente por hipertrofia. Virtualmente a divisão celular cessa nesta fase. <sup>(15)</sup>

O adequado desenvolvimento do músculo cardíaco depende de um bom aporte circulatório. No rato jovem foi observado aumento de 400% na média do número de capilares transmural entre 1<sup>o</sup> e 11<sup>o</sup> dia de vida no ventrículo esquerdo, e aumento de 60% no ventrículo direito. O crescimento de capilares nesta fase do desenvolvimento foi maior que a formação de novos cardiomiócitos. Portanto, Olivetti, G e Anversa, P especularam que a maior proporção de capilares no miocárdio de ratos jovens estaria relacionada à maior resistência à hipóxia em relação aos ratos adultos. <sup>(16)</sup>.

### 3.2 BINUCLEAÇÃO DOS CARDIOMIÓCITO

Os cardiomiócitos no coração do rato representam apenas 15% das células cardíacas. Anversa, P e Kajstura, J demonstraram que os cardiomiócitos são predominantemente binucleados, em contraste com as células não musculares que são principalmente mononucleadas. Nos quatro primeiros dias de vida, a binucleação é pequena, aumentando gradativamente até estar quase completa em torno de 14 dias de vida. <sup>(13)</sup>

As hipóteses formuladas em alguns estudos para a binucleação dos cardiomiócitos foram: 1) fusão de células mononucleares; 2) divisão nuclear

amitótica e 3) divisão nuclear mitótica sem divisão celular, havendo indícios de que a última binucleação não seja seguida de divisão celular. A primeira hipótese é a menos provável. <sup>(12), (15), (17)</sup>

Anversa et al. observaram que ocorreu aumento de cardiomiócitos binucleados nos ratos. Sugeriram que 3% dos cardiomiócitos são binucleados no primeiro dia de vida passando a aproximadamente 50% com 11 dias. O aumento da binucleação no ventrículo esquerdo foi de 34,5 vezes e no ventrículo direito de 22,6 vezes, entre o 1<sup>o</sup> e o 11<sup>o</sup> dia pós-natal. Em outro estudo, Wulfshon et al., com utilização de Bromodeoxiuridina, estimaram que a binucleação passa de 31% no 6<sup>o</sup> dia de vida para 92% no 11<sup>o</sup> dia, comparável com outros autores que mostraram 80% a 90% de cardiomiócitos binucleados entre 12 a 15 dias de vida e 90 a 92% com 21 dias de vida, que é a binucleação do rato adulto. Com a binucleação, inicia-se o crescimento por hipertrofia, podendo ser considerada marcador desta fase do crescimento. <sup>(15), (17)</sup>

### 3.3 INFARTO DO MIOCÁRDIO

A obstrução da artéria coronária causa interrupção do fluxo sangüíneo levando à isquemia miocárdica e, principalmente, à perda de elementos contráteis. O tamanho da área afetada pode variar. <sup>(6)</sup>

Sutton et al. observaram na região infartada a migração de células imediatamente após a injúria. Em camundongos, o infarto do miocárdio desencadeou processo inflamatório com maior migração de neutrófilos entre o 2<sup>o</sup> e o 4<sup>o</sup> dia após o infarto, de macrófagos no 4<sup>o</sup> dia, de linfócitos entre o 7<sup>o</sup> e o 14<sup>o</sup> dia e de fibroblastos entre o 21<sup>o</sup> e o 28<sup>o</sup> dia. <sup>(18)</sup>

Nos dois primeiros dias após o infarto, não foi detectada ruptura dos cardiomiócitos, que foi observada no terceiro dia associada à degeneração das células, segundo Weismann et al. O processo de degeneração e inflamação foi mais intenso nas borda do infarto com progressão para o centro. <sup>(19)</sup>

Na área infartada, nas primeiras horas, há migração de células inflamatórias e tardiamente a proliferação de fibroblastos com depósito de colágeno, que substitui o

tecido necrótico, formando a fibrose. Sutton, MG e Sharp, N, em estudo de anatomia patológica em ratos, observaram perda do tecido de sustentação com necrose das miofibrilas e desintegração do colágeno interfibrilar; conseqüentemente, há afinamento da parede cardíaca, e o ventrículo esquerdo assume a forma esférica. No rato, o processo de cicatrização acontece em torno de 21 dias, diferente do que ocorre com os humanos, cuja cicatrização pode dar-se de 2 a 3 meses. <sup>(18),(20), (21), (22)</sup>

Após o infarto do miocárdio, inicia-se uma série de eventos que são agrupados e conhecidos como remodelamento ventricular, que é definido como a mudança do formato natural do coração, tanto na área afetada pela injúria como na área preservada, causando alterações estruturais e funcionais. Esse processo é dinâmico e tempo dependente, sendo patológico em conseqüência do infarto do miocárdio, ou fisiológico durante o crescimento e desenvolvimento normal da criança. <sup>(6), (18, 21, 23), (24)</sup>

Em resposta ao infarto do miocárdio, ocorre uma seqüência de eventos que levam a mudanças na estrutura, na composição e na função cardíaca. Essas mudanças alteram a originalidade do coração na área infartada e nas áreas preservadas. Na área infartada há aumento do diâmetro transversal de toda cavidade. Esse processo de dilatação ventricular, quando desproporcional nas primeiras 24 horas, é descrito como expansão do infarto. No estudo de Weisman et al., foi identificado que a maior curvatura do raio da dilatação ventricular ocorreu no centro da zona infartada. <sup>(19)</sup>

A necrose aguda dos miócitos não seria uma explicação para o adelgaçamento imediato da parede ventricular. A expansão inicia-se antes da reabsorção do tecido necrótico. Evidências sugerem que os elementos intersticiais possuem pouca influência na diminuição da espessura da parede, porque os miócitos representam o maior volume da parede ventricular. O estiramento individual dos miócitos pode explicar a dilatação da cavidade ventricular, uma vez que no estudo de Weisman et al. foi observado adelgaçamento na região infartada e também nas áreas não-infartadas. <sup>(19)</sup>

Na evolução do remodelamento, ocorrem sinalização hormonal, processo inflamatório, modificação da matriz extracelular e processo adaptativo dos cardiomiócitos remanescentes. Em torno de 72 horas após o infarto, o coração está em remodelação, tendo ocorrido dilatação ventricular com alteração da sua forma e desencadeamento de hipertrofia das áreas não-infartadas. Esse período é definido

como fase precoce. Nos ratos, a hipertrofia ocorre em grau importante nos três primeiros dias após o infarto e em humanos acontece entre 7 a 10. <sup>(18, 25, 26)</sup>

A fase tardia do remodelamento ventricular envolve a hipertrofia de cardiomiócitos para diminuir o estresse da parede e prevenir maior deformação. O aumento de volume dos miócitos pode chegar a 70% no diâmetro transversal sem aumento no comprimento. Em outros estudos, porém, foi observado aumento do comprimento do miócito, bem como do comprimento da fibra quando comparado com outras dimensões. <sup>(15, 21, 27)</sup>

No remodelamento ventricular, Weisman et al. observaram que a superfície endocárdica do ventrículo esquerdo infartado sofre suavização do seu relevo devido à modificação no plano de orientação dos feixes musculares. Na superfície epicárdica, esta mudança é menos pronunciada. <sup>(19)</sup>

No infarto do miocárdio também há fatores hemodinâmicos, neuro-hormonais e genéticos influenciando na compensação da perda de massa ventricular. A sobrecarga hemodinâmica da cavidade ventricular seria o estímulo para a célula entrar no ciclo celular e(ou) o desencadeamento da hipertrofia nas áreas não-infartadas, dependendo da fase de desenvolvimento em que se encontra o coração. Somente em infartos transmuralis, com perda de mais de 40% da massa ventricular esquerda, as alterações são proeminentes. Em infartos pequenos, comprometendo menos de 20% da massa do ventrículo esquerdo, as conseqüências podem ser mínimas pelo desencadeamento de mecanismos de compensação. Na adaptação bem resolvida, há diminuição do estresse da parede e o débito cardíaco retorna ao normal. <sup>(26, 28, 29)</sup>

Raya et al. observaram que os mecanismos de compensação em função da sobrecarga hemodinâmica aguda, como a quantidade e a extensão da hipertrofia miocárdica, são diminuídos em ratos idosos; porém, na sobrecarga crônica, a hipertrofia reativa tem sido preservada. <sup>(30)</sup>

Em estudo de morfometria em ratos para contagem dos cardiomiócitos, Weisman et al. sugeriram que o remodelamento ventricular estaria em função principalmente da modificação dos cardiomiócitos e da adição de novos cardiomiócitos em série. A diminuição da espessura da parede ventricular estaria paralelamente relacionada à diminuição do número de células observadas com a expansão do infarto. No estudo de Anand et al., foi sugerido que, no processo de

remodelamento do ventrículo esquerdo, ocorreu aumento dos cardiomiócitos no ventrículo direito. <sup>(19),(27)</sup>

No experimento de Yang et al., houve significativo aumento do tamanho dos miócitos no coração de ratos infartados quando observados à microscopia. A área de secção transversa dos miócitos aumentou rapidamente na primeira semana e progressivamente nas quatro semanas seguintes. No período de quatro a seis semanas manteve-se estável. Esses autores especularam que o crescimento dos miócitos provavelmente ocorre por alongamento. <sup>(31)</sup>

Azhar et al. avaliaram os efeitos do infarto do miocárdio seguido de reperfusão em ratos adultos jovens e adultos velhos. Os animais foram submetidos à obstrução coronária por 45 minutos, e o período de reperfusão variou de zero minuto até 24 horas, e em seguida foram submetidos à eutanásia. A extensão da necrose nas bandas de contração foi máxima após 45 minutos de isquemia seguida de 4 a 24 horas de reperfusão. Os autores argumentaram que os animais mais velhos têm reduzida capacidade oxidativa mitocondrial e maior fragilidade da membrana celular. Acreditam, também, que pode ocorrer injúria no período de re-perfusão por sobrecarga de cálcio resultando na hipercontração das miofibrilas. <sup>(32)</sup>

Há suposição de que a recuperação do coração por regeneração miocárdica está em nível oposto de intensidade à reposição por fibrose. Foi observada pouca fibrose em embriões, nos quais o processo proliferativo é dominante. <sup>(33)</sup>

O estudo realizado por Yuasa et al., com ratos Wistar adultos, procurou demonstrar a existência de proliferação de cardiomiócitos após o infarto do miocárdio. Os autores observaram que, quando o coração é submetido à sobrecarga aguda de trabalho, ele reage com hipertrofia mais do que com regeneração. Por mecanismos não bem identificados, os cardiomiócitos na zona próxima ao infarto apresentam divisão celular e também de núcleos, conforme a expressão do Ki-67. Na zona próxima à isquemia, o pico de mitoses e de divisões do núcleo foi no terceiro dia. As mitoses persistiram até o sétimo dia e a divisão nuclear até o quinto dia. A divisão nuclear foi incomum na zona não-infartada. <sup>(34)</sup>

Quando ocorre infarto do miocárdio com perda de aproximadamente 50% da massa contrátil, observa-se expansão de 83% do miocárdio não-infartado. Para restaurar o padrão contrátil do coração, seria necessário aumento de 104% da média do volume dos miócitos por núcleo. <sup>(16)</sup>

Na zona adjacente à área infartada, ocorre o deslizamento dos cardiomiócitos para a zona de necrose, sendo que nos ratos MRL foi observado o aspecto de dedos onde os cardiomiócitos invadiram a região infartada. Também foram observadas nesta zona células atrofiadas e hipertróficas.<sup>(22), (29), (28)</sup>

Litwin et al., em estudo experimental, identificaram depressão contrátil em regiões distantes do infarto, que poderia contribuir para disfunção global <sup>(29)</sup>.

No coração infartado, ocorre dilatação significativa da sua cavidade ventricular, especialmente com infarto transmural, com aumento do estresse da parede. Por mecanismos adaptativos de hipertrofia da parede não-infartada, em corações com menos de 20% de infarto do ventrículo esquerdo, o estresse na parede ventricular retorna aos parâmetros basais. <sup>(6),(29)</sup>

Foi observado que, mesmo com a perda da massa muscular na área de infarto, o coração manteve o peso e a mesma relação peso coração/peso corporal, provavelmente por hipertrofia das áreas remanescentes e pelo aumento da fibrose. Outros autores, no entanto, observaram aumento de peso do ventrículo esquerdo e peso total do coração, e que essas alterações progrediram até seis meses do estudo. <sup>(25), (29), (30), (35)</sup>

Epifanio et al. sugeriram que, mesmo o ventrículo direito não estando infartado, a hipertrofia deste ventrículo poderia ser atribuída a fatores neuro-humorais sistêmicos e locais e ao desenvolvimento de hipertensão arterial pulmonar conseqüente à congestão venosa pulmonar retrógrada pela insuficiência do ventrículo esquerdo. Nesta hipótese, segundo Anversa et al., o ventrículo direito aumentaria a massa com objetivo de melhorar o enchimento do ventrículo esquerdo. <sup>(21), (25)</sup>

O peso do coração de adultos humanos pode aumentar até três vezes por hipertrofia excêntrica, caracterizada por aumento do número de cardiomiócitos que pode variar de 20% a mais de 100%. <sup>(21)</sup>

A reinervação da área infartada ocorre duas semanas após, com origem nas áreas adjacentes ao infarto. As fibras pós-ganglionares possuem estoque de catecolaminas em seus grânulos e estão entrelaçadas por fibras colágenas. Esta disposição parece contribuir com a contração, mas pode ser foco de arritmia. <sup>(36),(37)</sup>

O coração tem sua contratilidade deprimida por causa da hipertrofia, do aumento da rigidez e do aumento do colágeno, porém o miócito isolado mostra contratilidade normal. <sup>(27)</sup>

Estudando animais adultos jovens, Gould et al. observaram que os animais com idade de dois meses apresentaram maior área de infarto após ligadura cirúrgica da artéria coronária esquerda, em comparação aos animais adultos com idade entre 10 e 12 meses. Entretanto, na evolução, os animais jovens apresentaram menor taxa de insuficiência cardíaca e menor mortalidade. No estudo realizado por Wexler, BC., foi induzido infarto por infusão de isoproterenol em ratos jovens com 90 dias e em ratos adultos com 15 meses. A área de infarto nos dois grupos foi semelhante, porém, na anatomia patológica, os autores encontraram nos ratos jovens maior e mais persistente infiltrado miocárdico de células leucocitárias. Os adultos exibiam persistente edema e infiltrado grumoso.<sup>(10),(38)</sup>

### 3.4 COLÁGENO NO INFARTO DO MIOCÁRDIO

No coração normal 95% do colágeno total são dos tipos I e III, que se localizam nos espaços entre as miofibrilas formando tecido de sustentação. O colágeno tipo III representa aproximadamente 85% e o tipo I, 11%.<sup>(22)</sup>

O colágeno depositado pelos fibroblastos no processo de remodelamento é responsável pela rigidez do coração. Segundo Sutton et al., esse colágeno é destinado a dar estabilidade mecânica para evitar a ruptura da área infartada. Nesse mesmo período, a ativação de enzimas como a matriz metaloproteinase degradam o colágeno original na região infartada.<sup>(18),(35),(37)</sup>

O colágeno depositado é física e estruturalmente diferente do colágeno encontrado nos corações normais. O alinhamento das fibras colágenas segue o padrão predominante das fibras miocárdicas normais. No infarto transmural, foi observado que as fibras de colágeno se dispõem em três camadas distintas, uma circunferencial localizada no meio do miocárdio e duas oblíquas localizadas nas porções subepicárdica e subendocárdica.<sup>(18)</sup>

Segundo Whittaker, P., na área infartada, o tecido necrosado será substituído rapidamente por colágeno nas primeiras semanas. O depósito de colágeno aumenta gradualmente, atingindo o máximo em quatro semanas. Inicialmente será depositado colágeno tipo III que apresenta menor resistência à deformação que o tipo I, mas é mais duro. Com o passar do tempo, diminui colágeno tipo III e há aumento do tipo I.

O acúmulo de colágeno não é uniforme, sendo maior nas áreas adjacentes ao infarto, no ventrículo contra-lateral e no miocárdio não-infartado. <sup>(5),(18),(35, 37, 39),(40)</sup>

No estudo de Leferovich et al., com ratos das espécies B6 e MRL, observou-se que os animais MRL apresentaram importante diminuição do colágeno com 60 dias de evolução após injúria com criocautério, diferente dos animais B6. Nos animais da espécie MRL, na primeira semana, foram observados cardiomiócitos na lesão, enquanto nos B6, fibroblastos. O estudo de Jugdutt et al. demonstrou na área infartada aumento de até 12 vezes na quantidade de colágeno e na zona não-infartada, aproximadamente duas a três vezes. <sup>(28),(39)</sup>

O tecido cicatricial é considerado tecido vivo, pois apresenta dinâmica constante. Foi reconhecido que o tecido conectivo continua a acumular-se durante anos após o infarto. Somente tecido com avançada fibrose é considerado sem vida. <sup>(36),(33)</sup>

O tecido cicatricial apresenta miofibroblastos que possuem expressão para  $\alpha$ -actina e, portanto, apresentam propriedade contrátil. Neste tecido cicatricial foi observada neovascularização responsável pela nutrição, com capacidade de modificação do tônus de acordo com o estímulo recebido. Os macrófagos produzem citocinas – fator de transformação de crescimento B<sub>1</sub> (TGF-B<sub>1</sub>), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e fator básico de crescimento de fibroblasto (b-FGF), entre outros — que estimulam a neovascularização e a proliferação de fibroblastos. <sup>(28),(39),(37)</sup>

### 3.5 PROLIFERAÇÃO DE CARDIOMIÓCITO

Supõe-se que o coração de mamíferos seja constantemente renovado. A demonstração de 11 núcleos exibindo mitose por milhão de células, ou 59.000 núcleos no ventrículo esquerdo do coração em insuficiência cardíaca, indica que a identificação da mitose é difícil. De acordo com este cálculo, 10% de novos miócitos seriam gerados no período de um ano, tendo sido observado que o número de cardiomiócitos permanece constante em mulheres entre 20 e 95 anos de idade. Nos homens, haveria perda de 45 milhões de miócitos por ano no ventrículo esquerdo e 19 milhões no ventrículo direito. <sup>(13),(21, 41)</sup>

Anversa et al. sugerem que os cardiomiócitos adultos não estão totalmente diferenciados, podendo regenerar-se. Baixos níveis de multiplicação celular são observados na zona perinecrótica, sendo raras as mitoses. Estima-se que apenas 0,5% dos cardiomiócitos possam entrar em mitose, sendo o índice de 4% de proliferação celular quando avaliado pelo Ki-67. <sup>(13),(28)</sup>

Vliegen et al. observaram nos ratos Wistar com corações normais que o aumento por hipertrofia foi significativamente maior nos corações submetidos a sobrecarga de pressão, semelhante ao observado em humanos. <sup>(42)</sup>

Na miocardiopatia hipertrófica ocorre aumento do número de células, pela expressão genética de fatores precoces de crescimento. A análise da porção septal do trato de saída de pacientes com estenose aórtica severa revela altos níveis de proliferação de miócitos, fazendo-se supor que o coração possui células primitivas residentes, capazes de gerar todas as linhagens celulares da estrutura cardíaca. <sup>(40, 43)</sup>

Em modelos de miocardiopatia dilatada, verificou-se que a transição de insuficiência cardíaca moderada para severa foi caracterizada por aumento da replicação de cardiomiócitos. A síntese de DNA e a divisão mitótica dos cardiomiócitos também são aparentes em ratos com infarto e função cardíaca descompensada. <sup>(9, 13, 44)</sup>

Leferovich et al. realizaram lesão isquêmica extensa com criocautério no ventrículo direito de camundongos das espécies MRL e C57BL/6 (B6) e observaram que as dimensões do ventrículo direito retornaram ao normal três meses após a isquemia. Nos animais da espécie MRL foi observada maior re-vascularização, o que levou os pesquisadores a especularem a melhor recuperação desses ratos. A isquemia estimularia a formação de novos vasos ou reabrindo canais existentes, melhorando o suprimento sangüíneo. Nos animais MRL, com 60 dias após a injúria, houve recuperação quase completa da integridade miocárdica. Os animais B6 apresentaram índice mitótico de 1-3%, enquanto os MRL apresentaram 10-20%. <sup>(28)</sup>

O tamanho dos cardiomiócitos está inversamente relacionado à sua capacidade de replicação. Os cardiomiócitos adultos que apresentam grande hipertrofia têm expressão para p16<sup>ink4a</sup>, um marcador de cardiomiócitos adultos. Células com volume maior que 35.000 micras cúbicas não reentram no ciclo celular, pois o aumento apenas se dá por hipertrofia. <sup>(45)</sup>

Faltam conhecimentos que possam explicar os mecanismos da proliferação celular. Podem existir mecanismos naturais impedindo a regeneração miocárdica por inibição de uma das fases do ciclo celular. Foi demonstrado por Tamamori-Adachi et. al. que a entrada do complexo ciclina D1/CDK4 (complexo ciclina D1/ ciclina dependente da kinase 4) no núcleo induz o cardiomiócitos adultos ao ciclo celular, conforme demonstrado pela expressão do antígeno nuclear Ki-67 e bromodeoxiuridina. Pode ser um bom desafio o pensamento de que os cardiomiócitos mantêm a capacidade de mitose e que apenas estão inibidos por ciclinas e kinases (CDKs). <sup>(13),(28),(46)</sup>

Evidências sugerem que os cardiomiócitos são substituídos lentamente durante toda a vida, em taxas menores que as perdas por morte ou apoptose, o que favorece a deposição de tecido fibrótico, com conseqüente diminuição da contratilidade. <sup>(13, 30)</sup>

Atualmente encontram-se disponíveis algumas modalidades terapêuticas aos pacientes vítimas de infarto do miocárdio. A terapia celular ao coração infartado para regeneração miocárdica tem se destacado por apresentar resultados promissores. As linhagens celulares mais utilizadas são as células da medula óssea, mioblastos, cardiomiócito fetal e células cardíacas adultas. Estas células têm revelado capacidade de multiplicação em culturas isoladas e em co-culturas, e quando injetadas em coração infartado propiciam melhora do desempenho cardíaco. <sup>(22, 47, 48)</sup>

Até recentemente aceitava-se que o crescimento do coração se fazia por hiperplasia apenas na fase fetal. Sabe-se, atualmente, que a hiperplasia ocorre durante algum período após o nascimento. Em algum ponto da vida a hiperplasia cessa. <sup>(14, 16)</sup>

Os cardiomiócitos imaturos mantêm a capacidade de replicação. De acordo com a literatura pesquisada, em ratos ocorrem mitoses até com três semanas de idade. Em humanos supõe-se que a replicação de cardiomiócitos cesse no primeiro de ano de vida. <sup>(21, 47, 49, 50)</sup>

## 3.6 ECOCARDIOGRAFIA

### 3.6.1 O método para diagnóstico

Dentre os métodos de avaliação do coração, a ecocardiografia tem-se mostrado eficiente para detectar o infarto e para avaliar a sua evolução. É um método não-invasivo e de fácil realização. <sup>(1, 38, 51, 52)</sup>

Vários estudos têm validado a ecocardiografia como método de estudo do remodelamento ventricular em ratos submetidos a infarto. A ecocardiografia transtorácica foi superior à ecocardiografia transesofágica e à ecocardiografia intraventricular nesses animais. <sup>(1),(29, 38, 53, 54)</sup>

A área infartada é identificada à ecocardiografia por apresentar espessura diminuída, hipocinesia, movimento paradoxal (movimento em sentido oposto ao que seria esperado normalmente) e ecogenicidade aumentada. O percentual da área ventricular infartada pode ser identificado pela medida da circunferência ventricular e comparado com a medida da circunferência ventricular com características de infarto. O tamanho do infarto do miocárdio em ratos é classificado em pequeno quando sua área é menor do que 20% da circunferência do ventrículo esquerdo; moderado, entre 20 e 40% e grande quando maior do que 40%. <sup>(52, 55, 56)</sup>

No estudo realizado por Moises et al. em ratos, a ecocardiografia foi sensível em detectar com segurança a ausência de área com infarto em animais submetidos à ligadura cirúrgica da artéria coronária esquerda. Este achado foi confirmado pela anatomia patológica. A lesão produzida por criocautério no ventrículo direito também foi eficientemente detectada por este método. <sup>(28, 56)</sup>

### 3.6.2 Dimensões das cavidades

As dimensões das cavidades cardíacas podem ser mensuradas pela ecocardiografia, bem como por outros parâmetros hemodinâmicos. <sup>(1),(52),(57)</sup>

Os volumes diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo apresentam aumento após o infarto do miocárdio e o remodelamento da cavidade pode ser observado pela ecocardiografia. <sup>(19, 29)</sup>

### 3.6.3. Função ventricular sistólica

A função sistólica é a capacidade de o ventrículo esquerdo realizar a contração para gerar adequado débito cardíaco. Pode ser medida pela fração de ejeção. A fração de ejeção do ventrículo esquerdo é derivada das medidas dos volumes diastólico e sistólico, que podem ser obtidos pelo método de Simpson medindo a área e transformando em volume. O método de Simpson permite que a deformação do ventrículo esquerdo de qualquer causa seja incluída na área ventricular. A área infartada com acinesia, hipocinesia ou movimento paradoxal influirá na fração de ejeção. Nos ratos infartados a diminuição da fração de ejeção varia de acordo com a dimensão da área infartada. <sup>(58, 59),(60)</sup>

O uso de medicações pode influir no desempenho cardíaco, como algumas substâncias utilizadas como anestésico nos animais de experimentação. As substâncias mais utilizadas são a tiletamina com zolazepan, pentobarbital, isoflurano, thionembital sódico e avertin e a associação de xylazina e ketamina. <sup>(61-65)</sup>

### 3.6.4 Função ventricular diastólica

O fluxo através da valva mitral é estudado por meio da Doppler-cardiografia e é composto pela onda E pela onda A. A onda E representa o enchimento ventricular rápido e a onda A, o enchimento tardio que corresponde à contração atrial. Estas ondas correspondem à capacidade de relaxamento do ventrículo esquerdo na diástole para seu adequado enchimento. <sup>(53)</sup>

A função diastólica pode ser estudada pela análise das ondas E e A do fluxo transvalvar mitral. O aumento da onda E pode estar relacionado ao maior gradiente de pressão entre o átrio esquerdo e o ventrículo esquerdo no início da diástole. A diminuição da onda A pode ser atribuída ao aumento da pressão diastólica final do

ventrículo esquerdo. Estas ondas são dependentes do enchimento do átrio esquerdo. <sup>(56), (60)</sup>

No estudo de Litwin et al., foi observado que em ratos com infarto houve aumento da onda E e diminuição da onda A, refletindo alteração no enchimento diastólico, que caracteriza o padrão ventricular restritivo. A relação E/A apresentou aumento com a piora da função cardíaca que foi acompanhado de aumento das dimensões ventriculares. A relação E/A foi significativamente maior no grupo de ratos com infarto grande <sup>(29)</sup>.

### **3.6.5 Índice de performance miocárdica**

O índice de Tei ou Índice de Performance Miocárdica surgiu como método promissor na avaliação da função ventricular, porque engloba tanto a função sistólica como a diastólica. Esse índice é definido pela soma do tempo de contração isovolumétrico com o tempo de relaxamento isovolumétrico, divididos pelo tempo de ejeção. Este método foi pouco estudado em modelos animais jovens. No estudo realizado por Salemi et al., foi demonstrado que este índice é de fácil realização em pequenos animais. Observaram que houve diferença entre animais controle e estudo após bandagem da aorta ascendente para produzir hipertrofia miocárdica. Os animais em estudo apresentaram disfunção cardíaca com aumento do índice de performance miocárdica. O índice de performance miocárdica tem relação inversa com fração de encurtamento. <sup>(55), (66), (67), (68), (69)</sup>

O grande mérito deste índice é sofrer pouca influência da frequência cardíaca e de alterações de carga hemodinâmica e não necessitar de parâmetros de normalização para idade ou peso. Pode ser calculado mesmo quando não se consegue separar as ondas E e A do traçado Doppler cardiográfico. Parece ser útil na avaliação da função do ventrículo direito, em que foi observado aumento na hipertensão pulmonar e na sobrecarga volumétrica do ventrículo direito. <sup>(55), (60), (69)</sup>

Nos animais com infarto, o índice de performance miocárdica apresentou relação com o tamanho do infarto. No estudo de Cury et al., o índice de performance miocárdica apresentou boa correlação com o tamanho do infarto. <sup>(60)</sup>

### 3.7 HIPÓTESE

Na literatura consultada, os ratos jovens que foram submetidos ao infarto do miocárdio encontravam-se com idade igual ou superior a 2 meses. No entanto, os ratos atingem a puberdade com  $50 \pm 10$  dias, então são considerados adultos. Assim sendo, a bibliografia consultada refere-se a animais adultos, apesar da denominação jovem em alguns trabalhos.<sup>(70), (71)</sup>

Por esse motivo, a literatura carece de estudos em animais jovens que forneçam análise das dimensões das câmaras cardíacas, das funções sistólica e diastólica, do índice de performance miocárdica, bem como da evolução desses parâmetros em ratos submetidos ao infarto do miocárdio.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Para a realização deste projeto de pesquisa, delineou-se um estudo experimental e aleatório com ratos jovens e ratos adultos, divididos em grupos infartados e controles.

### 4.2 AMOSTRA

Foram utilizados 168 ratos machos (*Rattus Norvegicus Albinus Rodentia Mammalia*), da linhagem Wistar, provenientes do Instituto de Tecnologia do Paraná (Tecpar).

Os animais foram divididos em dois grupos: o grupo jovem, denominado grupo J, composto por 35 animais com idade inicial de 28 dias, e o grupo adulto denominado grupo A, composto por 37 animais com idade inicial de 153 dias. Foram considerados jovens os animais com idade inferior a 60 dias, idade a partir da qual os animais podem ser considerados adultos.

Cada grupo foi subdividido em dois subgrupos: subgrupos infartados, denominados J1 para os ratos jovens e A1 para os ratos adultos. Cada subgrupo foi composto de 22 e 24 animais, respectivamente. Os subgrupos controles, denominados J2 para os ratos jovens e A2 para ratos adultos, foram compostos por 13 ratos cada. Os animais foram identificados adequadamente com um número inscrito na cauda, no dia da realização do ato cirúrgico.

Os animais dos subgrupos J1 e A1 foram submetidos à ligadura cirúrgica da artéria coronária esquerda para indução do infarto do miocárdio com idades de 28 dias e 153 dias, respectivamente. Nos subgrupos controles (subgrupos J2 e A2), os animais foram submetidos à operação simulada (*sham operation*), com abertura do tórax, do pericárdio e posterior fechamento do tórax, sem ligadura da artéria coronária.

Todos os animais receberam cuidados em concordância com os “Princípios de Cuidados com Animais de Laboratório”, formulado pela Sociedade Nacional de Pesquisa Médica e Guia de Cuidados com Animais de Laboratório, preparada pela Academia Nacional de Ciências e publicado pelo Instituto Nacional de Saúde, segundo os princípios do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1999).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (registro na CEPA/PUCPR nº 21).

### 4.3 CUIDADOS GERAIS COM OS ANIMAIS

#### 4.3.1 Condições do biotério

Os animais foram acomodados no Biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Foi fornecida água *ad libitum* e rações (Nuvilab CR-1<sup>®</sup> e Nuvital, Colombo – PR, Brasil) com acesso livre. Foram alojados em caixas com grade, no máximo com cinco animais em cada caixa, e mantidos no ciclo de 12 horas com luz e 12 horas no escuro, em sala com aquecimento. O cepilho foi trocado em dias alternados.

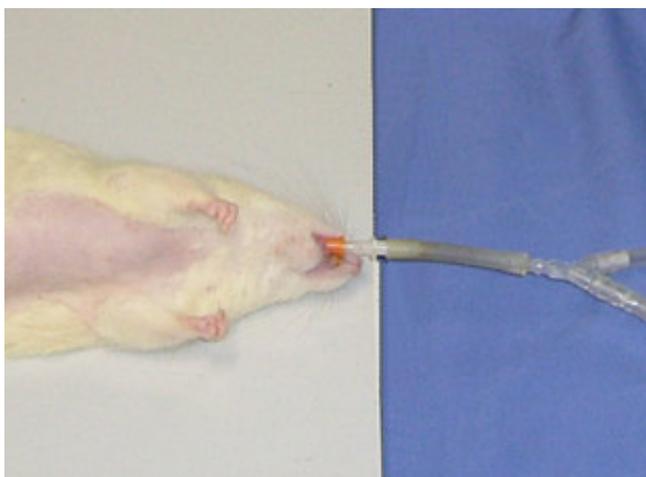
#### 4.3.2 Anestesia

Todos os animais que foram submetidos à cirurgia de ligadura da artéria coronária esquerda ou cirurgia simulada receberam anestesia geral com a administração de 50 mg/kg/peso de ketamina (Ketalar<sup>®</sup> Laboratórios Parke & Davis) e 10 mg/kg/peso xylazina (Xylazina<sup>®</sup>), aplicados por via intramuscular. Para certificação do efeito da anestesia, foi observada a ausência de reflexo neuromuscular. O mesmo procedimento foi utilizado para a realização das

ecocardiografias. Os animais receberam paracetamol diluído em água para analgesia no primeiro dia de pós-operatório.

#### 4.3.3 Ventilação mecânica

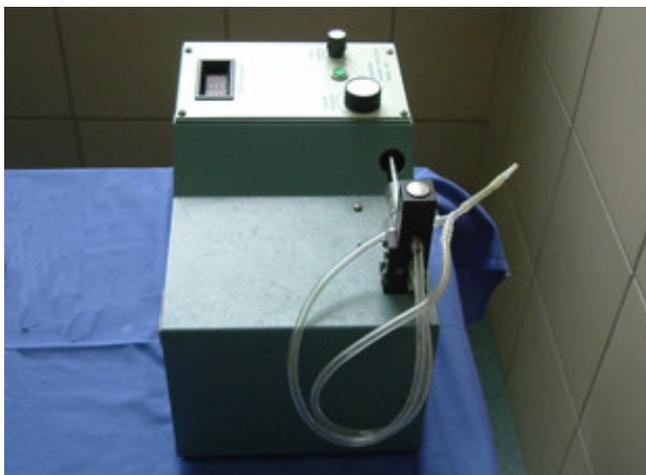
Após anestesia, o animal recebeu intubação orotraqueal (figura 1) com cateter venoso periférico número 14 e ventilação mecânica com volume de 2,5ml por insuflação, na frequência de 68 ciclos por minuto, observando-se a expansão torácica. A intubação orotraqueal e a ventilação mecânica foram realizadas somente quando o animal foi submetido a ato cirúrgico.



**Figura 1: Intubação orotraqueal**

Fonte: O autor.

Foram utilizados dois respiradores de volume (HARVARD<sup>®</sup>, Inc., respirador modelo 683, Massachusetts, USA) para animais de pequeno porte, com oxigênio a 21% (ar ambiente) (figura 2).



**Figura 2: Respirador de volume utilizado**

Fonte: O autor.

#### 4.4 PROCEDIMENTO DO INFARTO DO MIOCÁRDIO

O infarto do miocárdio foi realizado pela ligadura cirúrgica da artéria coronária esquerda. A abertura do tórax foi no quarto espaço intercostal esquerdo com exposição do coração. Em seguida foi aberto o pericárdio. Com leve pressão lateral no tórax, realizou-se a exteriorização do coração. Procedeu-se à ligadura da artéria coronária esquerda a aproximadamente dois milímetros (mm) do apêndice atrial esquerdo, com ponto único de fio monofilamentar 7.0. A eficiência do ato foi observada pela mudança da cor do coração.

As intervenções cirúrgicas foram realizadas no Laboratório de Técnica Operatória da PUCPR e foram executadas por cirurgiões cardiovasculares, auxiliados por um técnico em laboratório. Os procedimentos foram realizados em condições de assepsia e com materiais adequados para animais de pequeno porte.

#### 4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Sete dias após a realização do infarto do miocárdio ou *sham operation*, todos os animais foram submetidos ao estudo ecocardiográfico. Os ratos infartados com

fração de ejeção maior que 40% foram excluídos, assim como os animais com anomalias estruturais do coração.

Os animais que evoluíram para óbito durante o estudo também foram excluídos de todas as análises.

#### 4.6 ANÁLISE ECOCARDIOGRÁFICA

Foi utilizado ecocardiógrafo Agilent (modelo Sonos 5500; Andover, MA), equipado com transdutores de alta frequência e alta resolução (12 MHz e 15 MHz, modelo 21390<sup>A</sup>, Agilent, Palo Alto, CA). O equipamento possui capacidade de 120 (Hertz) quadros por segundo. Para obtenção do traçado Doppler, foi utilizado velocidade de 100mm/s.

O estudo ecocardiográfico foi realizado com 7 e 30 dias após o infarto do miocárdio e *sham operation*. As medidas foram realizadas durante o exame, obedecendo às recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia. As imagens foram gravadas em disco óptico e em fita VHS. Foram realizadas as medidas em três ciclos cardíacos consecutivos, pelo mesmo examinador e calculada a média para análise. <sup>(59)</sup>

Para o exame ecocardiográfico, os animais foram anestesiados e submetidos à tricotomia na região anterior do tórax. Conectaram-se eletrodos nas patas para obtenção do traçado eletrocardiográfico e, em seguida, o animal foi posicionado em leve decúbito lateral esquerdo. A temperatura ambiente foi mantida a 22<sup>o</sup>C.

Foram obtidas imagens no corte para-esternal longitudinal de onde se visibilizaram o átrio esquerdo, a valva mitral, o ventrículo esquerdo, a valva aórtica e parte da aorta ascendente. Nesta posição foi realizada a planimetria do ventrículo esquerdo pelo método de Simpson, para obtenção dos volumes diastólico e sistólico, bem como o cálculo da fração de ejeção do ventrículo esquerdo.

A velocidade do fluxo mitral e o aórtico foram mensurados. No corte apical quatro câmaras, foi obtida a velocidade do fluxo mitral para análise da onda E e da onda A para análise da função diastólica ventricular. A amostra de volume do Doppler pulsátil foi posicionada na ponta das cúspides da valva mitral, ajustando-se a posição da amostra de volume para obtenção da velocidade máxima. Para o

tempo do fluxo aórtico, a amostra de volume foi posicionada na via de saída do ventrículo esquerdo. O tempo entre o final da onda A do fluxo mitral e o início da onda E subsequente foi denominado medida “a” e o tempo de ejeção aórtico, medida “b”. Com estas medidas, foi calculado o índice de performance miocárdica (IPM).<sup>(68)</sup>

$$\text{IPM} = \frac{a - b}{b}$$

(a – b) = tempo de contração isovolumétrica + tempo de relaxamento isovolumétrico;

b - tempo de ejeção.

A medida do volume diastólico final do ventrículo esquerdo foi realizada no pico a onda “R” do eletrocardiograma, enquanto o volume sistólico final foi obtido identificando-se a menor área da câmara cardíaca.

#### 4.7 EUTANÁSIA

A eutanásia foi realizada com a aplicação de dose letal (DL50) do anestésico ketamina (148 mg/kg).<sup>(72)</sup>

Os animais foram selecionados de maneira aleatória para eutanásia após cada período de ecocardiografia.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos no estudo foram expressos por médias, medianas, valores mínimos e máximos e desvios padrões. Para a comparação de grupos independentes, foi usado o teste t de *Student* para amostras independentes, levando-se em consideração a homogeneidade das variâncias, ou o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, quando apropriado.

Nas comparações entre momentos de avaliação, foi usado o teste t de Student para amostras dependentes ou o teste de Wilcoxon, quando apropriado.

A condição de normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilks, e a condição de homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Lèvene.

O nível de significância adotado foi inferior a 0,05.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ANÁLISE DOS GRUPOS

Neste estudo foram utilizados 168 ratos, sendo 98 ratos jovens com idade de 28 dias e 70 ratos adultos com 153 dias na data do ato operatório, que consistiu de ligadura cirúrgica da artéria coronária esquerda ou cirurgia simulada (*sham operation*). A mortalidade total foi de 34,5% durante o experimento.

Nos grupos infartados, 18 (33,9%) ratos jovens e 8 (17,3%) adultos foram excluídos do estudo por apresentarem fração de ejeção maior que 40% a ecocardiografia no sétimo dia de pós-operatório. Dois ratos jovens e 10 adultos foram excluídos por dificuldade na identificação. Portanto, o número total de animais que completaram o estudo foi de 72.

No grupo jovem o peso médio dos ratos infartados com 7 dias (apêndice 5) foi de  $176,49 \pm 37,74\text{g}$  e no controle  $206,44 \pm 22,66\text{g}$ ,  $p=0,283$ , e com 30 dias (apêndice 6),  $265,34 \pm 8,72\text{g}$  e  $312,33 \pm 17,37\text{g}$ ,  $p=0,003$ .

No grupo adulto os pesos médios com 7 dias (apêndice 5) foram  $335,92 \pm 21,39\text{g}$  e  $365,99 \pm 20,71\text{g}$ , nos infartados e controles, respectivamente,  $p=0,1$ . Com 30 dias, os valores para infartados e controles foram, respectivamente,  $357,56 \pm 19,31\text{g}$  e  $381,81 \pm 23,69\text{g}$ ,  $p=0,194$  (Apêndice F).

Na análise evolutiva dos grupos, os valores das variáveis analisadas podem ser diferentes de acordo o momento avaliado, pois o número de animais da amostra variou durante o estudo porque foi realizada eutanásia em alguns animais com 7 dias e posteriormente nos restantes com 30 dias.

## 5.2 ANÁLISE NO GRUPO DE RATOS JOVENS: INFARTADO VERSUS CONTROLE

### 5.2.1 Freqüência cardíaca

A freqüência cardíaca dos ratos jovens foi de  $285,32 \pm 61,70$ bpm e de  $216,80 \pm 17,29$ bpm com 7 e 30 dias de pós-operatório, respectivamente,  $p=0,191$ . No grupo controle foi de  $255,08 \pm 69,89$ bpm e de  $192,20 \pm 36,89$ bpm com 7 e 30 dias de pós-operatório, respectivamente,  $p=0,091$  (Apêndice A, B e C).

### 5.2.2 Análise ecocardiográfica no grupo jovem

No quadro 1 e nos apêndices A e B encontram-se os valores das variáveis ecocardiográficas do grupo de ratos jovens.

Os volumes diastólicos finais foram  $0,371 \pm 0,179$ ml e  $0,404 \pm 0,060$ ml com 7 dias de pós-operatório para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,441$  e com 30 dias foram de  $0,557 \pm 0,148$ ml e  $0,626 \pm 0,146$ ml, respectivamente,  $p=0,286$ .

No volume sistólico final houve diferença estatisticamente significativa entre infartados e controles com 7 dias de pós-operatório. No grupo infartado, a média do volume sistólico final foi de  $0,270 \pm 0,143$ ml e no grupo de controle foi de  $0,169 \pm 0,041$ ml,  $p=0,004$ . Com 30 dias de pós-operatório os volumes foram similares, com  $0,347 \pm 0,160$ ml nos infartados e  $0,325 \pm 0,072$ ml para controles,  $p=0,665$ .

A fração de ejeção mostrou-se significativamente diferente com 7 dias de pós-operatório entre infartados e controles. Com 7 dias, o grupo infartado demonstrou média de  $27,9 \pm 7,6\%$  e o grupo de controles  $58,6 \pm 6,7\%$ ,  $p<0,001$ . Com 30 dias, a média dos infartados foi  $40,6 \pm 13,2\%$  e dos controles  $47,7 \pm 4,2\%$ ,  $p=0,079$ .

		n	infartados	n	controles	p
Vdf	7 dias	22	0,371 ± 0,179	13	0,404 ± 0,060	0,441
	30 dias	14	0,557 ± 0,148	9	0,626 ± 0,146	0,286
Vsf	7 dias	22	<b>0,270 ± 0,143</b>	<b>13</b>	<b>0,169 ± 0,041</b>	<b>0,004</b>
	30 dias	14	0,347 ± 0,160	9	0,325 ± 0,072	0,665
FE	7 dias	22	<b>27,9 ± 7,6</b>	<b>13</b>	<b>58,6 ± 6,7</b>	<b>&lt; 0,001</b>
	30 dias	14	40,6 ± 13,2	9	47,7 ± 4,2	0,079

**Quadro 1: Distribuição das variáveis ecocardiográficas nos grupos de ratos jovens**

Vdf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; n: número de animais estudados; p: nível de significância estatística.

### 5.2.3 Análise doppler-cardiográfica no grupo jovem

A análise das variáveis Doppler-cardiográficas está demonstrada no quadro 2 e nos apêndices A e B. Os valores da velocidade da onda E para infartados e controles com 7 dias de pós-operatório foram  $0,779 \pm 0,134\text{m/s}$  e  $0,845 \pm 0,115\text{m/s}$ , respectivamente,  $p=0,150$ . Com 30 dias de pós-operatório as velocidades foram  $0,710 \pm 0,087\text{m/s}$  e  $0,680 \pm 0,072\text{m/s}$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,405$ .

Não houve diferença com significância estatística para a onda A, que apresentou velocidades de  $0,460 \pm 0,089\text{m/s}$  e  $0,581 \pm 0,185\text{m/s}$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,144$ . Com 30 dias de pós-operatório as velocidades foram  $0,385 \pm 0,093\text{m/s}$  e  $0,350 \pm 0,048\text{m/s}$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,413$ .

A relação E/A foi  $1,62 \pm 0,41$  e  $1,44 \pm 0,34$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,482$ . Com 30 dias foi  $2,00 \pm 0,80$  e  $1,93 \pm 0,23$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,975$ . Não houve diferença com significância estatística (Quadro 2).

O índice de performance miocárdica apresentou diferença com significância estatística com 7 dias de pós-operatório, com a média para os infartados de  $0,41 \pm 0,18$  e para os controles de  $0,28 \pm 0,14$ ,  $p=0,034$ . Com 30 dias de pós-operatório, os valores do índice foram  $0,46 \pm 0,17$  e  $0,59 \pm 0,18$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,104$ .

	Dias de PO	n	infartados	n	controles	p
Onda E*	7	22	$0,779 \pm 0,134$	13	$0,845 \pm 0,115$	0,150
	30	14	$0,710 \pm 0,087$	9	$0,680 \pm 0,072$	0,405
Onda A*	7	12	$0,460 \pm 0,089$	7	$0,581 \pm 0,185$	0,144
	30	14	$0,385 \pm 0,093$	9	$0,350 \pm 0,048$	0,413
E/A	7	12	$1,62 \pm 0,41$	7	$1,44 \pm 0,34$	0,482
	30	14	$2,00 \pm 0,80$	9	$1,93 \pm 0,23$	0,975
IPM	7	22	<b><math>0,41 \pm 0,18</math></b>	13	<b><math>0,28 \pm 0,14</math></b>	<b>0,034</b>
	30	14	$0,46 \pm 0,17$	9	$0,59 \pm 0,18$	0,104

**Quadro 2: Distribuição das variáveis Doppler-cardiográficas nos grupos de ratos jovens**

Onda E: velocidade de fluxo mitral; onda A: velocidade de fluxo mitral; E/A: relação entre a onda E e a onda A; IPM: índice de performance miocárdica; PO: pós-operatório; n: número de animais da amostra; (\*) velocidades expressas em metros por segundo.

#### 5.2.4 Análise ecocardiográfica evolutiva no grupo jovem

A análise evolutiva foi realizada comparando dados do mesmo animal entre 7 e 30 dias de pós-operatório. Conforme o quadro 3 e o apêndice C, são comparadas as seguintes variáveis ecocardiográficas do ventrículo esquerdo: volume diastólico final, volume sistólico final e fração de ejeção.

Os volumes diastólico e sistólico finais aumentaram significativamente entre 7 e 30 nos grupos infartados e controles. Os volumes diastólicos foram: grupo infartado com 7 dias  $0,290 \pm 0,152\text{ml}$  e com 30 dias,  $0,557 \pm 0,148\text{ml}$ ,  $p < 0,001$ ; grupo controle com 7 dias  $0,418 \pm 0,059\text{ml}$  e com 30 dias,  $0,626 \pm 0,146\text{ml}$ ,  $p = 0,006$ . Os volumes diastólico final e sistólico final dos ratos infartados foram menores que os dos controles.

Os volumes sistólicos foram: grupo infartado com 7 dias  $0,210 \pm 0,122\text{ml}$  e com 30 dias  $0,347 \pm 0,160\text{ml}$ ,  $p < 0,001$ ; grupo controle com 7 dias  $0,169 \pm 0,048\text{ml}$  e com 30 dias  $0,325 \pm 0,071\text{ml}$ ,  $p = 0,001$ . Os volumes sistólicos de infartados e controles aumentaram significativamente de 7 para 30 dias de pós-operatório.

A fração de ejeção do grupo infartado aumentou significativamente entre 7 ( $28,1 \pm 8,8\%$ ) e 30 dias ( $40,6 \pm 13,2\%$ ),  $p = 0,001$ . No grupo controle, observou-se diminuição significativa da fração de ejeção entre 7 ( $60,3 \pm 6,7\%$ ) e 30 dias ( $47,7 \pm 4,2\%$ ),  $p = 0,001$ .

		7 dias x 30 dias			
		n	7	30	p*
Vdf	infartados	14	$0,290 \pm 0,152$	$0,557 \pm 0,148$	$<0,001$
	controles	9	$0,418 \pm 0,059$	$0,626 \pm 0,146$	0,006
Vsf	infartados	14	$0,210 \pm 0,122$	$0,347 \pm 0,160$	$<0,001$
	controles	9	$0,169 \pm 0,048$	$0,325 \pm 0,071$	0,001
FE	infartados	14	$28,1 \pm 8,8$	$40,6 \pm 13,2$	0,001
	controles	9	$60,3 \pm 6,7$	$47,7 \pm 4,2$	0,001

**Quadro 3: Valores ecocardiográficos comparativos entre os dias 7 e 30 após o infarto em ratos jovens**

Vdf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; n: número de animais da amostra; p: nível de significância estatística; (\*) teste t de Student para amostras pareadas.

### 5.2.5 Análise Doppler-cardiográfica evolutiva em ratos jovens

Os valores Doppler-cardiográficos estão distribuídos no quadro 4 e apêndice C.

Não foram observadas modificações evolutivas nas variáveis Doppler-cardiográficas no grupo infartado. Os valores da onda E foram  $0,770 \pm 0,113\text{m/s}$  e  $0,710 \pm 0,087\text{m/s}$  com 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,198$ . A onda A apresentou velocidades de  $0,476 \pm 0,086\text{m/s}$  e  $0,395 \pm 0,087\text{m/s}$  com 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,138$ . A relação E/A foi de  $1,47 \pm 0,19$  com 7 dias e  $1,87 \pm 0,43$  com 30 dias,  $p=0,075$ . O índice de performance miocárdica foi  $0,42 \pm 0,18$  com 7 dias e  $0,47 \pm 0,17$  com 30 dias,  $p=0,453$ .

No grupo controle houve modificação significativa de todas variáveis entre 7 e 30 dias (onda E com 7 dias  $0,858 \pm 0,135\text{m/s}$  e 30 dias  $0,680 \pm 0,072\text{m/s}$ ,  $p=0,008$ ; onda A com 7 dias  $0,613 \pm 0,182\text{m/s}$  e 30 dias,  $0,359 \pm 0,053\text{m/s}$ ,  $p=0,028$ ; relação E/A, 7 dias  $1,37 \pm 0,31$  e 30 dias,  $1,93 \pm 0,28$ ,  $p=0,046$ ; índice de performance miocárdica com 7 dias  $0,23 \pm 0,12$  e 30 dias  $0,59 \pm 0,18$ ,  $p<0,001$ ).

		7 dias x 30 dias			
		n	7	30	p
<b>Onda E</b>	<b>infartados</b>	14	0,770 ± 0,113	0,710 ± 0,087	0,198**
	<b>controles</b>	<b>9</b>	<b>0,858 ± 0,135</b>	<b>0,680 ± 0,072</b>	<b>0,008*</b>
<b>Onda A</b>	<b>infartados</b>	6	0,476 ± 0,086	0,395 ± 0,087	0,138*
	<b>controles</b>	<b>6</b>	<b>0,613 ± 0,182</b>	<b>0,359 ± 0,053</b>	<b>0,028**</b>
<b>Relação E/A</b>	<b>infartados</b>	6	1,47 ± 0,19	1,87 ± 0,43	0,075
	<b>controles</b>	<b>6</b>	<b>1,37 ± 0,31</b>	<b>1,93 ± 0,28</b>	<b>0,046</b>
<b>IPM</b>	<b>infartados</b>	14	0,42 ± 0,18	0,47 ± 0,17	0,453*
	<b>controles</b>	<b>9</b>	<b>0,23 ± 0,12</b>	<b>0,59 ± 0,18</b>	<b>&lt;0,001*</b>

**Quadro 4: Valores Doppler-cardiográficos comparativos entre os dias 7 e 30 nos ratos jovens**

Onda E: velocidade de fluxo mitral em metros por segundo; onda A: velocidade de fluxo mitral em metros por segundo; relação E/A: relação entre as ondas E e A; IPM: índice de performance miocárdica; (\*) Teste t de Student para amostras pareadas; n: número de animais da amostra; p: nível de significância estatística; (\*\*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon.

### 5.3 ANÁLISE DO GRUPO DE RATOS ADULTOS: INFARTADOS VERSUS CONTROLES

#### 5.3.1 Freqüência cardíaca

A freqüência cardíaca dos ratos adultos infartados foi de 206,88 ± 27,31bpm com 7 dias de pós-operatório e com 30 dias foi de 190,9 ± 19,87bpm. No grupo controle a freqüência cardíaca foi 200,73 ± 45,55bpm com 7 dias e 193,90 ± 34,35bpm com 30 dias. Não houve diferenças estatisticamente significativas nas análises realizadas (apêndices A, B e D).

### 5.3.2. Análise ecocardiográfica do grupo adulto

Os volumes diastólicos finais estão demonstrados no quadro 5 e nos apêndices A, B e D.

No grupo infartado com 7 dias de pós-operatório, o volume diastólico médio foi de  $0,802 \pm 0,112$ ml e no grupo controle foi  $0,724 \pm 0,169$ ml,  $p=0,103$ . Com 30 dias, os volumes diastólicos foram  $0,919 \pm 0,196$ ml e  $0,712 \pm 0,173$ ml para infartados e controles, respectivamente, com significância estatística,  $p=0,013$ .

O volume sistólico final apresentou diferença com significância estatística nas duas fases estudadas: 7 dias (infartado  $0,588 \pm 0,113$ ml e controle  $0,407 \pm 0,131$ ml,  $p<0,001$ ); 30 dias (infartado  $0,668 \pm 0,225$ ml e controle  $0,401 \pm 0,111$ ml,  $p=0,001$ ).

A fração de ejeção no grupo de infartados foi significativamente menor que o grupo de controles nas duas fases do estudo. Com 7 dias, os infartados apresentaram fração de ejeção  $26,9 \pm 6,6\%$  e os controles  $44,6 \pm 7,4\%$ ,  $p<0,001$ ; com 30 dias, nos infartados foi  $29,0 \pm 10,4\%$  e nos controles  $45,8 \pm 4,1\%$ ,  $p<0,001$  (quadro 5 e apêndices A, B e D).

		n	infartados	n	controles	p*
Vdf	7 dias	24	0,802 ± 0,112	13	0,724 ± 0,169	0,103
	30 dias	15	0,919 ± 0,196	10	0,712 ± 0,173	0,013
Vsf	7 dias	24	0,588 ± 0,113	13	0,407 ± 0,131	< 0,001
	30 dias	15	0,668 ± 0,225	10	0,401 ± 0,111	0,001
FE	7 dias	24	26,9 ± 6,6	13	44,6 ± 7,4	< 0,001
	30 dias	15	29,0 ± 10,4	10	45,8 ± 4,1	< 0,001

**Quadro 5: Valores das variáveis ecocardiográficas no grupo de ratos adultos**

Vdf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; n: número de ratos da amostra; p: nível de significância estatística; (\*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

### 5.3.3 Análise Doppler-cardiográfica do grupo adulto

O quadro 6 e os apêndices A, B e D demonstram as medidas Doppler-cardiográficas realizadas nos ratos adultos. As velocidades da onda E foram  $0,767 \pm 0,109\text{m/s}$  e  $0,691 \pm 0,112\text{m/s}$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,053$ . Com 30 dias de pós-operatório as velocidades foram  $0,700 \pm 0,128\text{m/s}$  e  $0,693 \pm 0,080\text{m/s}$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,876$ . Não foi encontrada diferença estatística significativa da onda E.

A onda A apresentou com 7 dias velocidade média de  $0,245 \pm 0,083\text{ m/s}$  e  $0,318 \pm 0,117\text{m/s}$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,052$ . Com 30 dias,  $0,316 \pm 0,129\text{m/s}$  e  $0,350 \pm 0,061\text{m/s}$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,394$ .

A relação E/A foi de  $3,52 \pm 1,71$  e  $2,66 \pm 1,46$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,105$ . Com 30 dias, foi  $2,85 \pm 2,00$  e  $2,03 \pm 0,41$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,886$ .

O índice de performance miocárdica com 7 dias de pós-operatório foi  $0,51 \pm 0,19$  no grupo infartado e  $0,39 \pm 0,10$  no grupo controle, apresentando diferença com

significância estatística ( $p=0,021$ ). Com 30 dias de pós-operatório, os valores foram  $0,51 \pm 0,11$  e  $0,47 \pm 0,28$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,646$ .

	Dias de PO	n	infartados	n	controles	p
<b>Onda E*</b>	<b>7</b>	24	$0,767 \pm 0,109$	13	$0,691 \pm 0,112$	0,053**
	<b>30</b>	15	$0,700 \pm 0,128$	10	$0,693 \pm 0,080$	0,876**
<b>Onda A*</b>	<b>7 dias</b>	22	$0,245 \pm 0,083$	11	$0,318 \pm 0,117$	0,052**
	<b>30 dias</b>	14	$0,316 \pm 0,129$	10	$0,350 \pm 0,061$	0,394**
<b>E/A</b>	<b>7 dias</b>	22	$3,52 \pm 1,71$	11	$2,66 \pm 1,46$	0,105***
	<b>30 dias</b>	14	$2,85 \pm 2$	10	$2,03 \pm 0,41$	0,886***
<b>IPM</b>	<b>7 dias</b>	<b>24</b>	<b><math>0,51 \pm 0,19</math></b>	<b>13</b>	<b><math>0,39 \pm 0,10</math></b>	<b>0,021**</b>
	<b>30 dias</b>	15	$0,51 \pm 0,11$	10	$0,47 \pm 0,28$	0,646**

**Quadro 6: Valores das variáveis Doppler-cardiográficas nos grupos de ratos adultos**

Onda E: velocidade de fluxo mitral; onda A: velocidade de fluxo mitral; E/A: relação das ondas E e A; IPM: índice de performance miocárdica; PO: dias de pós-operatório; n: número de animais da amostra; p: nível de significância estatística; (\*) velocidade medida em metros por segundo; (\*\*) Teste t de Student para amostras independentes; (\*\*\*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney .

### 5.3.4 Análise ecocardiográfica evolutiva no grupo adulto

As variáveis ecocardiográficas, volume diastólico final, volume sistólico final e fração de ejeção, dispostas no quadro 7 e no apêndice D, comparam os ratos nos dias 7 e 30 de pós-operatório.

O volume diastólico final dos ratos infartados apresenta diferença estatisticamente significativa entre 7 ( $0,796 \pm 0,107\text{ml}$ ) e 30 dias ( $0,919 \pm 0,196\text{ml}$ ),  $p=0,009$ . Nos controles, os volumes foram  $0,667 \pm 0,133\text{ml}$  e  $0,695 \pm 0,168\text{ml}$  com 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,410$ .

O volume sistólico final médio no grupo infartado com 7 dias foi de  $0,587 \pm 0,117\text{ml}$  e com 30 dias foi  $0,668 \pm 0,225\text{ml}$ ,  $p=0,114$ . Nos controles foi  $0,367 \pm 0,110\text{ml}$  e  $0,389 \pm 0,106\text{ml}$  com 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,305$ .

A fração de ejeção manteve-se estável nos dois grupos nas duas fases do estudo. A fração de ejeção no grupo infartado foi  $26,5 \pm 7,5\%$  e  $28,9 \pm 10,3\%$  com 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,369$ . No grupo controle a fração de ejeção foi  $45,7 \pm 7,9\%$  e  $46,1 \pm 3,7\%$  para 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,826$ .

		7 dias x 30 dias			
		n	7	30	p
Vdf	infartados	15	$0,796 \pm 0,107$	$0,919 \pm 0,196$	<b>0,009*</b>
	controles	10	$0,667 \pm 0,133$	$0,695 \pm 0,168$	0,410*
Vsf	infartados	15	$0,587 \pm 0,117$	$0,668 \pm 0,225$	0,114*
	controles	10	$0,367 \pm 0,110$	$0,389 \pm 0,106$	0,305*
FE	infartados	15	$26,5 \pm 7,5$	$28,9 \pm 10,3$	0,369*
	controles	10	$45,7 \pm 7,9$	$46,1 \pm 3,7$	0,826*

**Quadro 7: Valores ecocardiográficos comparando os grupos de ratos adultos entre 7 e 30 dias após o infarto**

Vdf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; (\*) Teste t de Student para amostras pareadas; (\*\*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon

### 5.3.5 Análise Doppler-cardiográfica evolutiva no grupo adulto

A análise foi realizada entre os grupos com amostras pareadas. Os valores das variáveis Doppler-cardiográficas estão distribuídos no quadro 8 e no apêndice D. A velocidade da onda E no grupo de infartados foi  $0,766 \pm 0,113\text{m/s}$  e  $0,700 \pm 0,128\text{m/s}$  nas avaliações de 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,118$ . Os controles demonstraram velocidades de  $0,681 \pm 0,100\text{m/s}$  e  $0,702 \pm 0,082\text{m/s}$  com 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,671$ .

A onda A com 7 dias foi de  $0,259 \pm 0,080\text{m/s}$  e  $0,330 \pm 0,128\text{m/s}$  para infartados e controles, respectivamente,  $p=0,054$  e nos controles foi de  $0,349 \pm 0,105\text{m/s}$  e  $0,337 \pm 0,046\text{m/s}$  com 7 e 30 dias de pós-operatório, respectivamente,  $p=0,515$ .

Na relação das ondas E e A os valores foram: infartados com 7 dias  $3,27 \pm 1,78$  e com 30 dias  $2,71 \pm 2,02$ ,  $p=0,117$  e controles com 7 dias  $2,2 \pm 1,18$  e com 30 dias  $2,09 \pm 0,36$ ,  $p=0,767$ . A relação E/A apresentou diminuição de 7 para 30 dias nos infartados, sugerindo melhora da função diastólica, ao passo que nos controles, manteve-se estável.

O índice de performance miocárdica não demonstrou diferença estatística de 7 para 30 dias, com valores de  $0,46 \pm 0,21$  e  $0,51 \pm 0,11$ , respectivamente,  $p=0,294$ , e no grupo controle os valores foram  $0,41 \pm 0,12$  e  $0,47 \pm 0,28$  com 7 e 30 dias, respectivamente,  $p=0,646$ .

		7dias x 30 dias			
		n	7	30	p
<b>Onda E<sup>***</sup></b>	<b>infartados</b>	15	$0,766 \pm 0,113$	$0,700 \pm 0,128$	$0,118^*$
	<b>controles</b>	10	$0,681 \pm 0,100$	$0,702 \pm 0,082$	$0,671^*$
<b>Onda A<sup>***</sup></b>	<b>infartados</b>	12	$0,259 \pm 0,080$	$0,330 \pm 0,128$	$0,054^*$
	<b>controles</b>	9	$0,349 \pm 0,105$	$0,337 \pm 0,046$	$0,515^{**}$
<b>Relação E/A</b>	<b>infartados</b>	12	$3,27 \pm 1,78$	$2,71 \pm 2,02$	$0,117$
	<b>controles</b>	9	$2,2 \pm 1,18$	$2,09 \pm 0,36$	$0,767$
<b>IPM</b>	<b>infartados</b>	15	$0,46 \pm 0,21$	$0,51 \pm 0,11$	$0,294^*$
	<b>controle</b>	10	$0,41 \pm 0,12$	$0,47 \pm 0,28$	$0,646^{**}$

**Quadro 8: Valores Doppler-cardiográficos comparativos entre os dias 7 e 30 após o infarto em ratos adultos**

Onda E: velocidade de fluxo mitral; onda A: velocidade de fluxo mitral; Relação E/A: relação das ondas E e A; IPM: índice de performance miocárdica; n: número de animais da amostra; p: nível de significância estatística; (\*) Teste t de Student para amostras pareadas; (\*\*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon; (\*\*\*) Velocidades medidas em metros por segundo.

## 5.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS JOVEM E ADULTO INFARTADOS

### 5.4.1 Análise da frequência cardíaca

A frequência cardíaca (figura 3) demonstrou significativa diferença na comparação entre os grupos infartados com 7 dias de pós-operatório (jovem  $285,32 \pm 61,70$ bpm e adulto  $206,88 \pm 27,31$ bpm,  $p < 0,001$ ) do mesmo modo que com 30 dias (jovem  $216,80 \pm 17,29$ bpm e adulto  $190,90 \pm 19,87$ bpm,  $p = 0,001$ ).

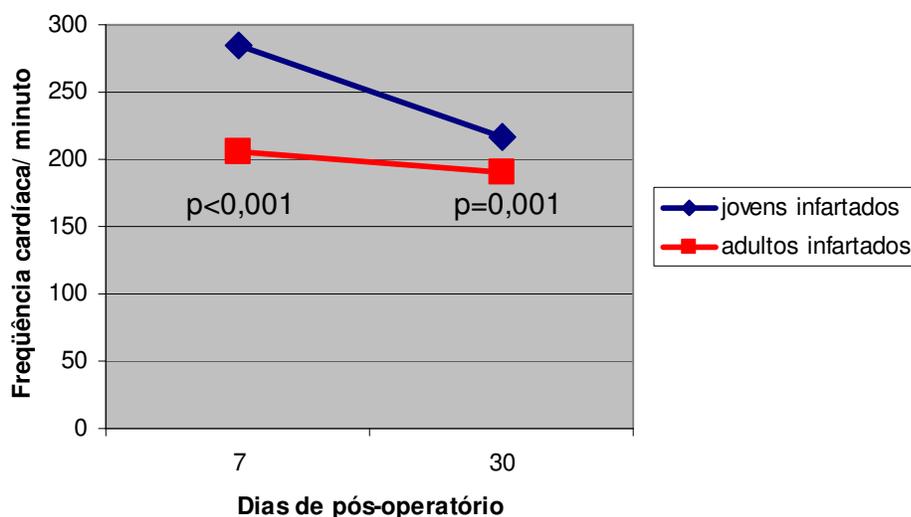
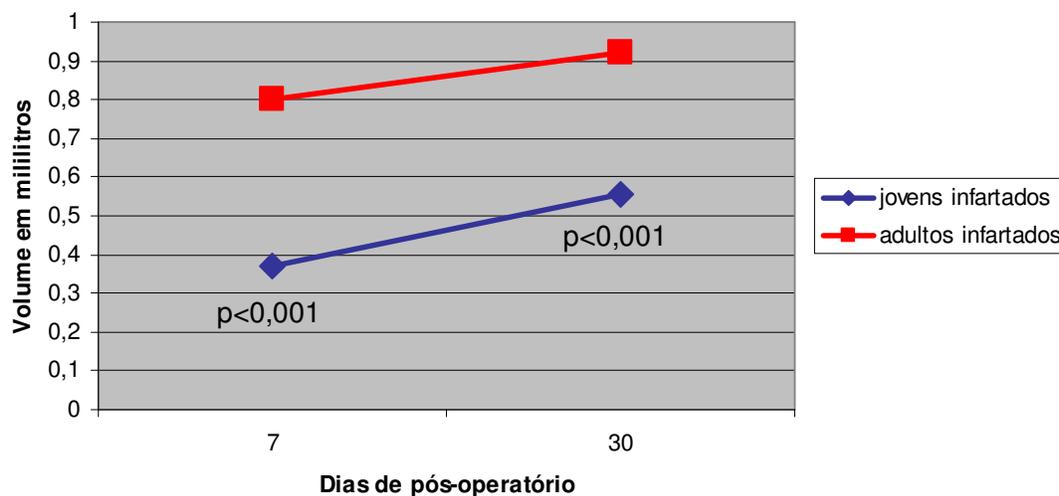


Figura 3: Frequência cardíaca durante as fases do estudo

### 5.4.2 Análise das variáveis ecocardiográficas

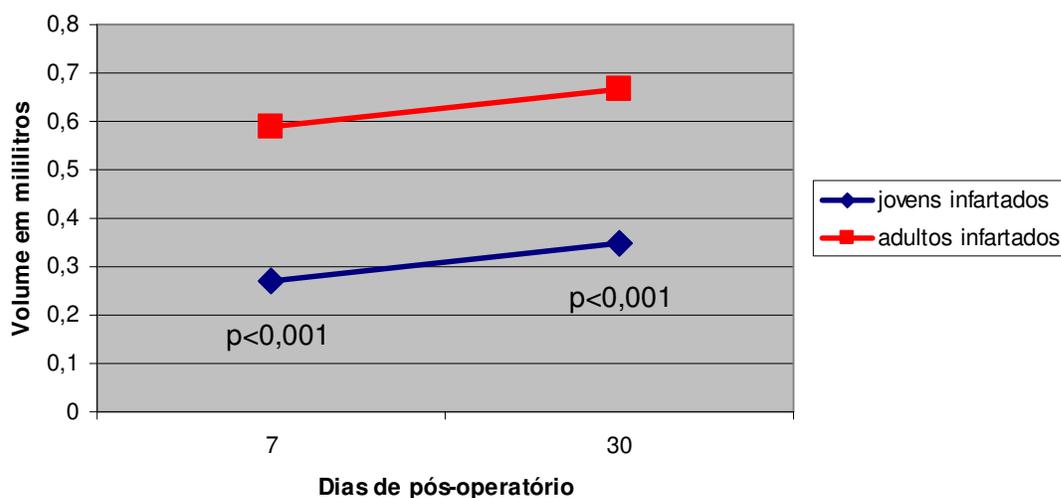
O volume diastólico final dos ratos jovens aumentou no transcorrer do estudo (figura 4 e apêndices A, B, C e D). Os valores médios de  $0,371 \pm 0,179$ ml no grupo foram infartados com 7 dias evoluíram para  $0,557 \pm 0,148$ ml com 30 dias. O volume diastólico final dos ratos adultos infartados com 7 dias foi de  $0,802 \pm 0,112$ ml

e com 30 dias foi de  $0,919 \pm 0,196\text{ml}$ . Houve diferença estatisticamente significativa dos volumes diastólicos nas duas fases analisadas entre jovens infartados e adultos infartados,  $p < 0,001$  e  $p < 0,001$  para 7 e 30, respectivamente.



**Figura 4: Evolução do volume diastólico final nas fases estudadas**

Na figura 5 e apêndices A, B, C e D, demonstra-se que o volume sistólico final do ventrículo esquerdo variou de maneira similar ao volume diastólico final. Os grupos de ratos infartados mostraram diferença com significância estatística com 7 e 30 dias de pós-operatório (7 dias: jovem  $0,270 \pm 0,143\text{ml}$  e adulto  $0,588 \pm 0,113\text{ml}$ ,  $p < 0,001$ ; 30 dias: jovem  $0,344 \pm 0,160\text{ml}$  e adulto  $0,668 \pm 0,225\text{ml}$ ,  $p < 0,001$ ).



**Figura 5: Evolução do volume sistólico final durante o estudo**

Comparando as frações de ejeção (figura 6 e apêndices C e D) nos grupos infartados, observa-se que não houve diferença estatística entre os jovens e os adultos com 7 dias (jovem  $27,9 \pm 7,6\%$  e adulto  $26,9 \pm 6,6\%$ ,  $p=0,633$ ). Estas frações de ejeção sugerem que ambos os grupos apresentavam infartos com repercussão semelhante. Com 30 dias de pós-operatório houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (jovem  $40,6 \pm 13,2\%$  e adulto  $28,9 \pm 10,3\%$ ),  $p=0,013$ . Observa-se melhora significativa no grupo jovem, com persistência da disfunção sistólica no grupo de adultos.

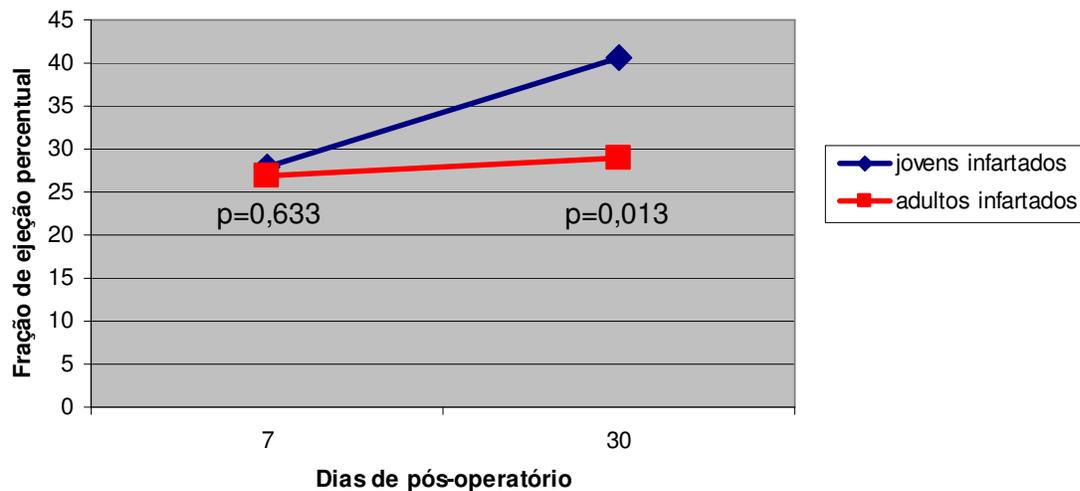
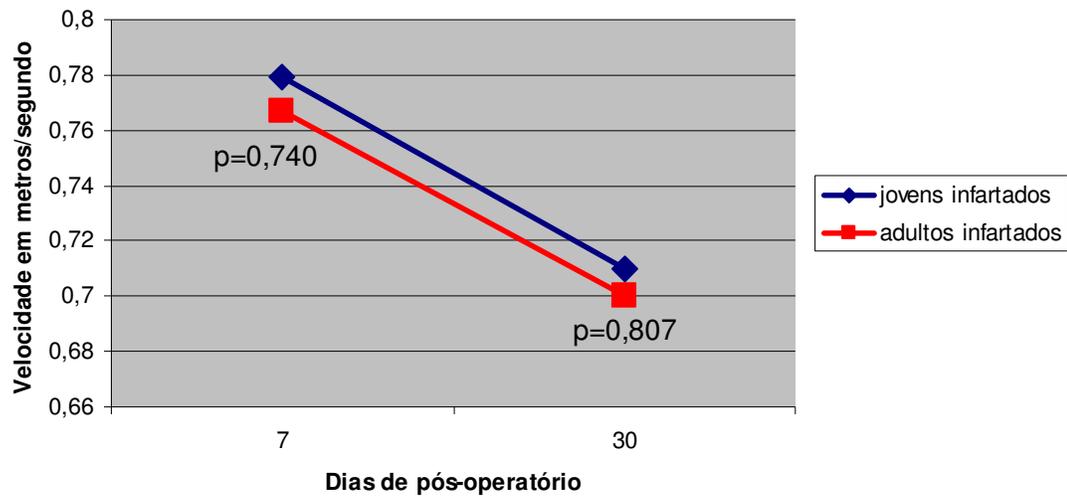


Figura 6: Evolução da fração de ejeção durante o estudo

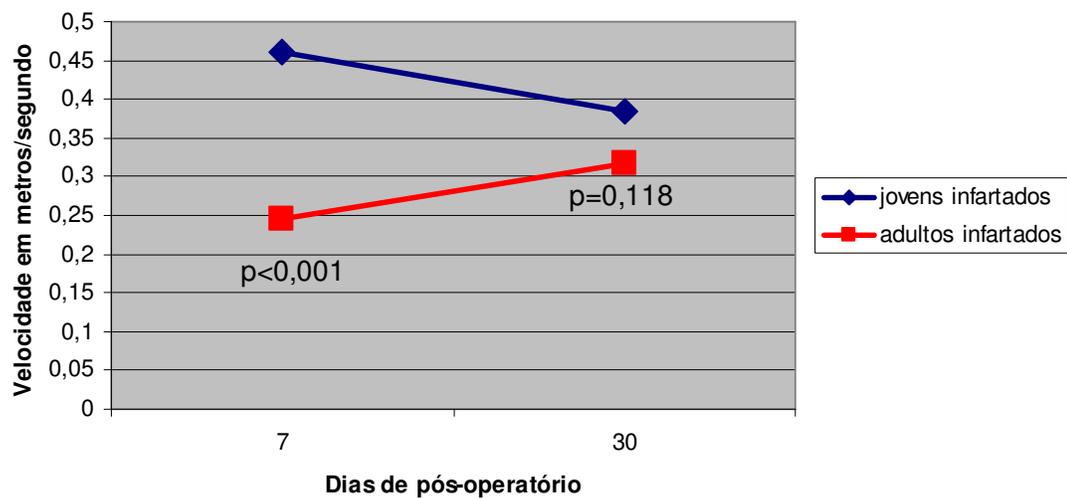
#### 5.4.3 Análise das variáveis Doppler-cardiográficas

Nos ratos jovens infartados os valores para onda E são: 7 dias  $0,779 \pm 0,134\text{m/s}$  e 30 dias  $0,710 \pm 0,087\text{m/s}$ . Nos ratos adultos infartados as médias são: 7 dias  $0,767 \pm 0,109\text{m/s}$ , 30 dias  $0,700 \pm 0,128\text{m/s}$  (figura 7 e apêndices A, B, C e D). Na figura 7 observa-se que a velocidade da onda E diminui de 7 para 30 dias nos dois grupos, mas esta diminuição não apresenta significância estatística.



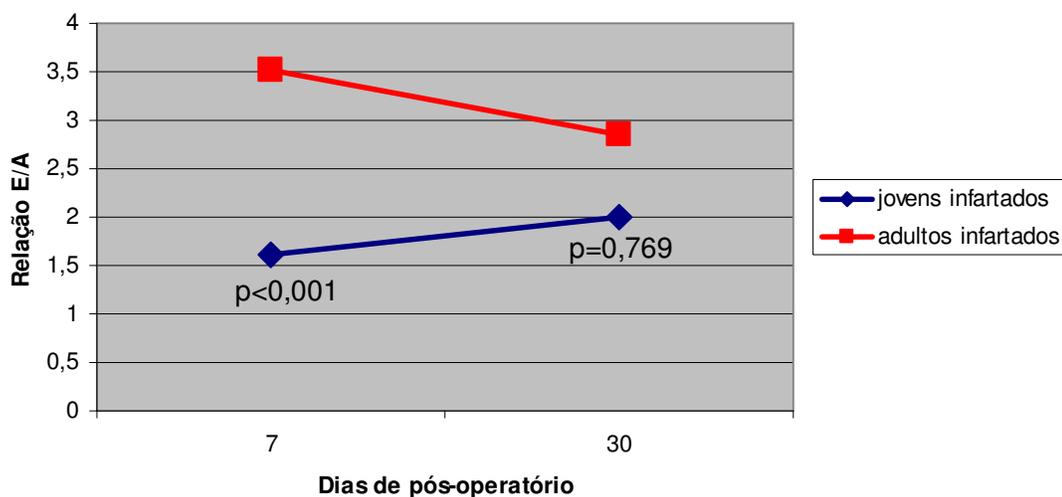
**Figura 7: Evolução da onda E nas fases do estudo**

A evolução da onda A está representada na figura 8 e apêndices A, B, C e D . Com 7 dias houve diferença estatística entre os grupos infartados (jovem  $0,460 \pm 0,089\text{m/s}$  e adulto  $0,245 \pm 0,083\text{m/s}$ ,  $p < 0,001$ ). Com 30 dias, a diferença não foi estatisticamente significativa (jovem infartado  $0,385 \pm 0,093\text{m/s}$ , adulto infartado  $0,316 \pm 0,129\text{m/s}$ ,  $p = 0,118$ ).



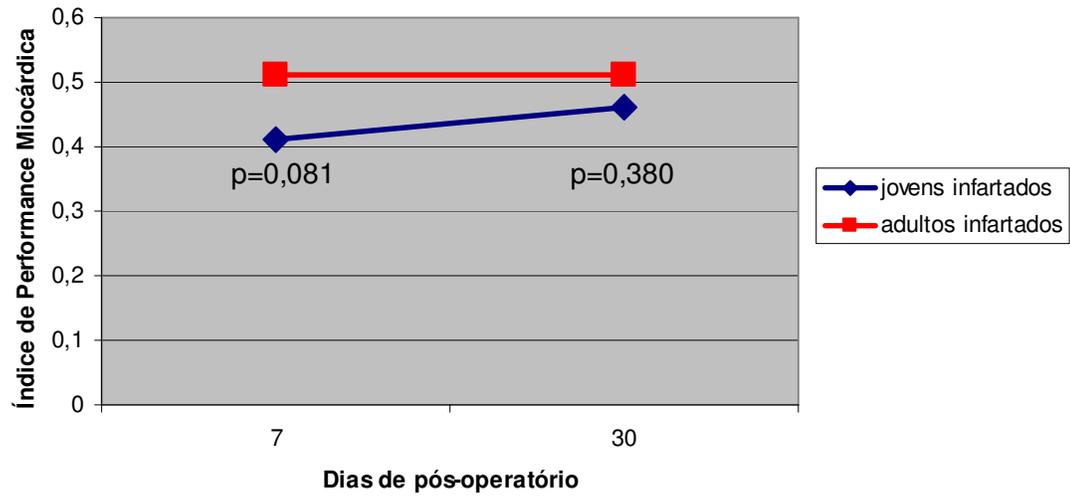
**Figura 8: Evolução da onda A nas fases do estudo**

A relação E/A demonstrou diferença significativa com 7 dias nos grupos infartados (jovem  $1,62 \pm 0,41$  e adulto  $3,52 \pm 1,71$ ,  $p < 0,001$ ). Com 30 dias, nestes grupos, as médias foram similares (jovem  $2,00 \pm 0,80$  e adulto  $2,85 \pm 2,00$ ,  $p = 0,765$ ), (figura 9 e apêndices A, B, C e D).



**Figura 9: Comparação da relação E/A entre os grupos jovem e adulto**

A evolução do índice de performance miocárdica está demonstrada na figura 10 e nos apêndices A, B, C e D. Os valores dos grupos jovens foram: grupo infartado com 7 dias  $0,41 \pm 0,18$ , com 30 dias  $0,46 \pm 0,17$ . Nos grupos de adultos as médias são: grupo infartado com 7 dias  $0,51 \pm 0,19$  e com 30 dias  $0,51 \pm 0,11$ .



**Figura 10: Evolução do índice de performance miocárdica**

O índice de performance miocárdica foi maior no grupo de adultos infartados, mas sem diferença, com significância estatística para os jovens.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 ASPECTOS GERAIS

O ecocardiograma com Doppler é o exame cardiológico não-invasivo de escolha para avaliar a função contrátil do coração, dimensionar as cavidades cardíacas, fazer o acompanhamento evolutivo de doenças e verificar a resposta ao tratamento. Todos esses procedimentos podem ser utilizados em pequenos animais. O exame permite, também, que o mesmo animal seja analisado seriadamente, sem grandes traumas ou riscos. <sup>(47), (58), (65)</sup>

Reffelmann et. al. demonstraram que ratos Wistar adultos, sem intervenção como o infarto do miocárdio, mantiveram as dimensões ventriculares esquerdas no período de observação, que foi de 57 semanas a 87 semanas, em comparação com ratos da linhagem SHHF que são geneticamente hipertróficos. Nesse mesmo estudo, os autores observaram que o diâmetro ventricular esquerdo e a área obtida pela ecocardiografia se correlacionam significativamente com as medidas do volume ventricular medidos por infusão de líquido na cavidade ventricular esquerda pós-morte. Deste modo, a ecocardiografia mostra-se como método adequado para medidas dos volumes ventriculares. <sup>(58)</sup>

Encontram-se na literatura médica muitos estudos com modelos de isquemia miocárdica em ratos adultos, porém são poucos os experimentos realizados em ratos jovens.

No estudo realizado por Azhar et al., em camundongos adultos jovens e adultos, foram induzidos períodos de isquemia miocárdica com subsequente reperfusão. Os autores observaram que os animais adultos jovens tinham áreas de infarto substancialmente menores. Foi sugerido então que os ratos mais velhos teriam menor capacidade de recuperação. <sup>(32)</sup>

Crianças com doenças coronarianas como origem anômala de coronária esquerda da artéria pulmonar podem desenvolver quadros de isquemia miocárdica importante com áreas de infarto, com disfunção cardíaca e insuficiência cardíaca; porém, após o tratamento há melhora clínica significativa. <sup>(73)</sup>

O infarto do miocárdio em crianças é pouco freqüente. Em autópsia para a determinação da causa do óbito em crianças sem cardiopatia, foram observadas

anormalidades coronarianas em 2% das crianças e que estas anormalidades poderiam contribuir para o óbito. Recém-nascidos que apresentaram infarto do miocárdio com quadro de insuficiência cardíaca por provável embolização do ducto venoso, cordão umbilical ou veia renal para artéria coronária, demonstraram recuperação completa da função miocárdica. Esta evolução difere da dos adultos que foram submetidos à reperfusão arterial coronariana, em que 22% apresentaram recuperação da fração de ejeção na evolução após o infarto do miocárdio. <sup>(5),(22),(74)</sup>

A escolha deste modelo animal com ratos Wistar deve-se à experiência acumulada no Laboratório de Pesquisa Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, utilizando esta metodologia. <sup>(75)</sup>

A mortalidade de ratos com este modelo de isquemia miocárdica não é baixa. Estudos demonstram que o óbito precoce, logo após o procedimento cirúrgico, varia de 10 a 48% em ratos adultos jovens, adultos e adultos senescentes. <sup>(6),(67),(76)</sup>

Neste estudo, a mortalidade de animais jovens do grupo de infartados foi maior que a mortalidade no grupo de adultos infartados, com 49,3% e 28,5% respectivamente. Esta maior mortalidade nos ratos jovens infartados pode estar relacionada à dificuldade na manipulação, dado o tamanho destes animais. A mortalidade no grupo de ratos adultos foi semelhante à relatada na literatura.

No grupo de ratos jovens com cirurgia simulada (*sham operation*), a mortalidade foi de 2,9%, e não houve óbito no grupo controle adulto. Não foram encontrados na literatura dados de mortalidade em ratos com a operação simulada.

Considerando a fração de ejeção normal como maior que 40%, 18 ratos jovens (33,9%) e 8 adultos (17,3%) foram excluídos do estudo. Este valor foi definido como ponto de corte, pois quando o animal apresenta fração de ejeção menor que 40%, em geral, encontra-se em insuficiência cardíaca. Em alguns ratos observaram-se áreas de infarto ao ecocardiograma bidimensional, porém como a fração de ejeção apresentava-se acima de 40%, estes animais foram excluídos de estudo.

A ecocardiografia é uma das ferramentas para a detecção do infarto do miocárdio e das funções sistólica e diastólica. Em infartos do miocárdio comprometendo menos de 30% da massa ventricular esquerda, os sinais de diminuição da função cardíaca podem não ser detectados, porém a área infartada pode ser identificada. No estudo de Moises et al., com 38 ratos submetidos ao infarto do miocárdio pela ligadura cirúrgica da coronária esquerda, 28 (73,6%) não apresentaram sinais de infarto do miocárdio ao ecocardiograma. Este achado foi

confirmado pela anatomia patológica, ao passo que, no restante dos animais, a ecocardiografia identificou todos os infartos extensos nesse estudo. <sup>(21),(56)</sup>

A definição de rato jovem neste estudo baseou-se na publicação de Sharp et al., que consideram ratos adultos quando atingem a idade entre 50 a 60 dias. Portanto, o grupo jovem do nosso estudo foi formado por ratos com 28 dias de idade, que atingiram a idade adulta na avaliação de 30 dias de pós-operatório. Por segurança, para compor o grupo de adultos optou-se por utilizar ratos com idade inicial de 153 dias de vida. <sup>(70)</sup>

O peso de ratos adultos submetidos à cirurgia simulada (*sham operation*) mostra-se maior que os ratos infartados com insuficiência cardíaca. O ganho ponderal geralmente é menor em ratos infartados com insuficiência cardíaca. <sup>(1),(27)</sup>

Neste estudo, os grupos de ratos adultos mostraram pesos similares em todos os períodos analisados, denotando um ganho ponderal semelhante nos grupos infartados e controles. Provavelmente estes animais não apresentavam insuficiência cardíaca importante, variável clínica de difícil análise e não pesquisada neste experimento.

Os ratos jovens demonstraram aumento progressivo do peso, porém com 30 dias de pós-operatório ainda houve diferença com significância estatística entre jovens e adultos infartados e sem diferença com significância estatística entre jovens controles e adultos controles. Considerando a similaridade dos pesos dos ratos jovens e adultos controles, pode-se concluir também que os ratos considerados jovens neste estudo alcançaram a idade adulta com 30 dias de pós-operatório.

Mesmo ocorrendo perda de massa cardíaca em conseqüência do infarto, esses corações demonstram pesos iguais aos ratos não-infartados, provavelmente por mecanismos compensatórios, como a hipertrofia da parede ventricular não-infartada, do septo ventricular e do ventrículo direito. Estudo de anatomia patológica observou que o peso do ventrículo esquerdo após infarto do miocárdio foi 25% menor que os seus controles, porém o septo apresentou algum aumento e o ventrículo direito apresentou aumento de 100%. <sup>(62)</sup> A manutenção do peso do coração também pode ser explicada pela substituição do tecido necrosado por colágeno, acúmulo de colágeno na zona não-infartada, bem como pela deposição de colágeno no ventrículo direito. <sup>(7), (29), (30)</sup>

A hipertrofia nas margens do infarto do miocárdio ocorre nas primeiras duas a quatro semanas. Em alguns corações a hipertrofia poderia justificar o melhor

desempenho e a recuperação da fração de ejeção. A hipertrofia é um mecanismo de compensação que faz diminuir o estresse da parede, melhorando o desempenho ventricular. <sup>(21),(20)</sup>

Nos ratos jovens, outros mecanismos podem estar envolvidos na manutenção do peso do coração. A divisão celular virtualmente cessa com 6 a 7 dias de idade, muito embora por métodos de marcação sejam identificados cardiomiócitos em progressão no ciclo celular. No infarto do miocárdio a célula cardíaca poderia reentrar no ciclo celular para compensar a perda de células da zona infartada. <sup>(12)</sup>

A dilatação ventricular é um acontecimento relacionado à remodelação de todo coração em consequência de uma agressão como o infarto do miocárdio. A dilatação ventricular produz aumento do estresse da parede que poderia ser um estímulo para o desencadeamento da hipertrofia celular e proliferação de novos cardiomiócitos. <sup>(20),(21)</sup>

## 6.2 FREQUÊNCIA CARDÍACA

Os animais foram anestesiados com xylazina<sup>®</sup> e ketamina<sup>®</sup> em todas as fases do estudo, utilizando a mesma dose por quilograma de peso corporal de medicação do mesmo fabricante, para evitar interferência de diferentes anestésicos na função cardíaca. Esta associação, no entanto, produz marcada bradicardia. <sup>(61, 64)</sup>

A frequência cardíaca dos ratos jovens infartados e controles com 7 dias de pós-operatório foi maior que a dos ratos adultos, apresentando diminuição para o nível destes com 30 dias.

A frequência cardíaca média dos ratos adultos foi semelhante à relatada na literatura que utilizou o mesmo anestésico. No estudo de Nozawa et al., que induziu infarto do miocárdio, mesmo nos animais com infarto grande, a frequência cardíaca manteve-se estável. <sup>(56),(61), (67)</sup>

Os autores acreditam que as implicações cardiodepressoras dos anestésicos são menos comprometedoras na qualidade do exame do que a alta frequência cardíaca e a movimentação do animal acordado. Foi sugerido que o uso do mesmo anestésico nas diversas fases do estudo pode ser considerado como sob as mesmas condições fisiológicas e não influenciar os resultados. <sup>(67)</sup>

Reffemann et al., utilizando anestesia inalatória com isofluorano, observaram frequência cardíaca média de 313 batimentos por minuto, superior aos estudos com associação de xylazina e ketamina. Em estudo com instrumentação crônica para mensuração dos parâmetros cardíacos em ratos conscientes, 2 e 3 semanas após, foram observadas frequências cardíacas médias de  $339 \pm 11$ bpm e  $332 \pm 8$ bpm, respectivamente. Nesse mesmo estudo, ratos espontaneamente hipertensos mostraram diminuição da frequência cardíaca com a instituição do halotano, e, usando isofluorano com 1-2% em oxigênio, observaram frequências cardíacas médias de  $327 \pm 36$ bpm e  $313 \pm 41$ bpm em controles e em infartados em insuficiência cardíaca, respectivamente. <sup>(1),(58),(60),(77)</sup>

Neste estudo foi observada frequência cardíaca maior que 300 batimentos por minuto em ratos jovens com 7 dias de pós-operatório. Provavelmente, isto se deve à idade do animal. Comportamento semelhante é notado em seres humanos, que mostram frequência cardíaca maior quanto menor a idade.

## 6.3 ANÁLISE FUNCIONAL

### 6.3.1 Ecocardiograma

Nos ratos adultos controles os volumes diastólico e sistólico finais permaneceram inalterados durante as fases do estudo. Com 7 dias de pós-operatório, os volumes diastólicos finais foram semelhantes entre os infartados e os controles, porém com 30 dias observou-se aumento significativo nos ratos infartados. Estes dados estão em concordância com estudos que observaram maiores dimensões ventriculares após o infarto e aumento progressivo com o tempo. <sup>(11),(29),(69)</sup>

Nos ratos jovens, neste estudo, os volumes diastólicos finais foram semelhantes entre infartados e controles, com 7 e 30 dias. O comportamento similar desta variável nos ratos infartados em relação aos ratos controles com 7 dias, tanto nos jovens como nos adultos, deve-se provavelmente ao curto tempo de evolução da doença. Com 30 dias, o aumento no adulto está associado ao remodelamento

natural que ocorre no pós-infarto <sup>(19),(56)</sup> o que não aconteceu com os ratos jovens pela possível regeneração miocárdica ou hipertrofia concêntrica do coração. <sup>(12)</sup>

Em humanos, a hipertrofia compensatória nas regiões remotas ocorre com 7 a 10 após o IM, e a dilatação do ventrículo esquerdo continua nos primeiros 12 meses. O volume ventricular apresenta significativo aumento por dilatação nos infartos transmuralis. <sup>(26),(56)</sup>

Os ratos jovens, infartados e controles, que apresentavam volumes diastólico e sistólico finais significativamente menores, atingiram os volumes dos ratos adultos controles com 30 dias. O volume diastólico, discretamente menor no grupo infartado com 7 e 30 dias de pós-operatório, demonstra crescimento proporcional com o desenvolvimento do rato, porém sem diferença significativa entre os dois grupos. Espera-se que o volume diastólico dos ratos infartados seja maior que os controles. Mecanismo de compensação, como hipertrofia, hiperplasia e menor expansão do infarto, podem ter interferido na menor dilatação da cavidade.

Ao contrário do volume diastólico, o volume sistólico do grupo jovem infartado foi maior que o grupo controle nas duas fases analisadas, porém estatisticamente significativo com 7 dias. As áreas isquêmicas presentes e a depressão da função contrátil nas regiões não-infartadas <sup>(11)</sup> pioram a contratilidade ventricular, conseqüentemente, mantêm o volume sistólico final maior que os controles.

A avaliação da função cardíaca pode ser realizada por meio de vários métodos ecocardiográficos. Neste trabalho, como o modelo experimental foi de infarto do miocárdio, optou-se pelo método de Simpson. Foram obtidas imagens longitudinais do ventrículo esquerdo na posição para-esternal longo eixo e Doppler-cardiograma dos fluxos mitral e aórtico na posição apical de quatro câmaras. As imagens nestes cortes ecocardiográficos foram visibilizadas adequadamente, bem como a obtenção dos traçados Doppler da valva mitral e da via de saída do ventrículo esquerdo. O método de Simpson é o melhor para avaliação da fração de ejeção no infarto do miocárdio por permitir que a área de dilatação ventricular localizada seja incluída no cálculo do volume da cavidade ventricular. <sup>(59)</sup>

O método de Simpson para cálculo da fração de ejeção é questionado, quanto a dificuldade de reprodutibilidade das medidas. No entanto, a experiência do laboratório da PUCPR tem mostrado que os resultados alcançados com este método assemelham-se com os da literatura. Em todos os animais foi obtida boa definição

das bordas endocárdicas, necessária para realização do método, diferente de outro estudo.<sup>(7),(54),(57),(58),(67)</sup>

Além do método de análise, a fração de ejeção pode ser influenciada por outros fatores. Os índices de função cardíaca são consistentemente menores durante a anestesia com xylazina e ketamina quando comparados com animais conscientes e quando comparado com outros anestésicos como o pentobarbital. Somente infartos maiores que 45% da massa do ventrículo esquerdo apresentam elevações da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo e da pressão sistólica do ventrículo direito, com depressão da função cardíaca. No estudo de Kawahara et al., publicado em julho 2005, foi sugerida a utilização de pentobarbital como anestésico por interferir menos nos parâmetros funcionais do ventrículo esquerdo, mas este estudo já estava em andamento e não foi possível a modificação do protocolo.<sup>(61),(62),(77)</sup>

A fração de ejeção apresentou comportamento diferente nos ratos infartados, adultos e jovens. Nos ratos adultos a fração ejeção mostrou-se baixa nos dois períodos analisados, sendo estatisticamente diferente com o grupo controle. No grupo de ratos jovens, a fração de ejeção apresentou-se baixa com 7 dias de pós-operatório e melhorou na evolução de 30 dias, aproximando-se dos valores dos controles. Esta melhora da fração de ejeção nos ratos jovens pode ser a tradução funcional dos achados de Marino et al., que demonstraram maior proliferação e hipertrofia de cardiomiócitos em ratos adultos jovens.<sup>(43)</sup>

No grupo controle de ratos jovens, observou-se diminuição significativa da fração de ejeção entre o sétimo e o trigésimo dia de pós-operatório. Não foram obtidos trabalhos similares na literatura que pudessem explicar este fenômeno. No entanto, acredita-se que a alta frequência com 7 dias tenha proporcionado erro na medida haja vista a dificuldade de identificação exata do maior volume diastólico final e do menor volume sistólico final. Por outro lado, o comportamento dos ratos jovens com os anestésicos utilizados pode ter contribuído com estas alterações.

Comparando os valores da fração ejeção deste estudo com os da literatura, observa-se que os valores deste trabalho são consistentemente menores<sup>(7),(54, 58)</sup>. O valor de 40% como ponto de corte para a fração de ejeção mostrou-se adequado, pois ficou evidente neste estudo que os ratos com fração de ejeção menor que 40% na ecocardiografia de 7 dias encontravam-se com infarto importante. Por outro lado, nenhum rato controle apresentou fração de ejeção menor que 40%.

A persistência da fração de ejeção baixa nos ratos adultos infartados, provavelmente ocorreu pela inadequada hipertrofia compensatória das áreas não-infartadas e pela inadequada reposição de novos cardiomiócitos. A regeneração do músculo cardíaco continua controversa a despeito de evidências da formação de novos cardiomiócitos no coração adulto. A piora da função cardíaca também aconteceu em decorrência da depressão da contratilidade miocárdica em regiões distante do infarto. <sup>(9),(21), (29),(45),(62)</sup>

A diferença de resposta da fração de ejeção entre ratos jovens e adultos pode estar relacionada à capacidade de recuperação do miocárdio jovem. Mesmo em mamíferos adultos, estudos sugerem que os cardiomiócitos são constantemente renovados, porém em taxas menores que os jovens. A homeostase cardíaca seria mantida pelo equilíbrio entre perda por apoptose e renovação de cardiomiócitos. A falha da renovação natural das células contráteis poderia explicar a maior propensão dos ratos velhos desenvolverem insuficiência cardíaca em situações adversas. No infarto do miocárdio, a regeneração miocárdica nas margens da área infartada seria pequena para recompor a população de cardiomiócitos e recuperar a função. <sup>(78)</sup>

No rato jovem, o infarto do miocárdio pode ser o estímulo para o cardiomiócito reentrar no ciclo celular e restaurar a função cardíaca. No estudo de Anversa et al., foi demonstrado que os ratos jovens apresentam maior atividade de síntese de proteínas necessárias para a progressão do ciclo celular e replicação de cardiomiócitos. O mecanismo pelo qual os cardiomiócitos entram no ciclo celular não está claro. <sup>(13),(45)</sup>

A marcação de núcleos com bromodeoxiuridina sugere que há atividade de síntese de proteínas para o ciclo celular em animais adultos, com aumento do número de cardiomiócitos, e que esta atividade é mais intensa nos animais jovens, podendo ser a explicação para a diferença de resposta entre os ratos jovens e adultos infartados neste estudo. <sup>(45)</sup>

O estudo de Anversa et al. sugere que nos ratos adultos ocorre desproporção entre o desenvolvimento de novos capilares e a hipertrofia miocárdica após o infarto. Nas áreas não-infartadas foi observada diminuição percentual da superfície dos capilares no miocárdio hipertrofiado, com conseqüente aumento da distância para difusão do oxigênio e limitação da capacidade de adaptação do miocárdio. Esta alteração anatômica pode estar relacionada à depressão do cardiomiócitos observada nas regiões não-infartadas. <sup>(6)</sup>

Os mecanismos adaptativos ainda precisam ser melhor entendidos. Com a observação deste estudo de que ratos jovens e adultos apresentam respostas funcionais diferentes ao infarto, novos estudos devem ser realizados com intuito de verificar se a melhora funcional dos ratos jovens é acompanhada de recuperação celular.

### 6.3.2 Doppler-cardiograma

O Doppler-cardiograma tem sido usado rotineiramente para avaliação da função cardíaca diastólica em seres humanos, assim como em trabalhos experimentais. Mesmo assim, a função diastólica continua ser de difícil análise pelo ecocardiograma. <sup>(58),(59), (67),(69),(77),(79)</sup>

Parâmetros do fluxo mitral são os mais estudados, porém a sua interpretação é dificultada pela grande influência que sofre com as variações de pré-carga, pós-carga e da contratilidade ventricular. O Doppler tissular tem acrescentado conhecimento na área, mas existem poucos trabalhos publicados em ratos. <sup>(79),(66)</sup>

Neste estudo foi utilizado somente o fluxo mitral para a avaliação da função diastólica. Não foi realizado o estudo do Doppler tissular.

As médias das medidas do fluxo mitral dos ratos infartados, tanto no grupo jovem como no grupo adulto, não demonstraram diferenças estatisticamente significativas em relação aos grupos controles em nenhuma fase analisada.

Muitas das análises foram prejudicadas neste estudo visto que algumas medidas, principalmente da onda A, não foram possíveis. Em frequência cardíaca acima de 300 batimentos por minuto há fusão das duas ondas, o que impede a identificação da onda A. A sua diminuição ou o seu desaparecimento também pode ser em consequência do aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo, determinado pela rigidez da parede ventricular após infarto do miocárdio. <sup>(79)</sup>

Os valores das ondas E e A deste estudo são semelhantes às descritas na literatura. Nos ratos infartados com disfunção diastólica ocorre aumento da onda E e diminuição ou desaparecimento da onda A, bem como aumento da relação E/A.

Para melhor caracterização do padrão diastólico restritivo, é necessária a realização de Doppler tissular do anel mitral. <sup>(29),(56)</sup>

O estudo de Nozawa et al. analisou a função diastólica de ratos adultos infartados. Os autores observaram que a onda E não apresentou diferenças entre os ratos do grupo *sham operation* e os com infartos que variaram de pequeno a grande. Foi identificado que houve significativa diminuição da onda A e aumento da relação E/A somente nos animais com infarto extenso. <sup>(67)</sup>

Moises et al., estudando ratos infartados, verificaram aumento da onda E, diminuição da onda A e aumento da relação E/A nos ratos adultos cinco semanas após o infarto do miocárdio. Esta fisiologia restritiva somente foi observada nos animais com infarto extenso. <sup>(56)</sup>

Prunier et al. induziram infarto do miocárdio em ratos Wistar machos e realizaram ecocardiograma com Doppler 2 dias, 7 dias, 21 dias e 3 meses após. Observaram aumento da onda E mais acentuado nos ratos com insuficiência cardíaca em relação aos sem insuficiência cardíaca e aos *sham operation*. A onda A diminuiu e até desapareceu em alguns ratos. <sup>(1)</sup>

Neste estudo, os ratos adultos apresentaram padrão restritivo com relação E/A maior que 2 com 7 dias, diminuindo para 30 dias, bem como os jovens aproximaram-se de 2 com 30 dias. Este comportamento evolutivo não nos permite concluir que os animais permaneceriam com padrão diastólico restritivo, devido ao curto tempo de observação. O padrão restritivo pode ocorrer na primeira semana após o IM, piorando nas subseqüentes seis semanas. <sup>(29)</sup>

Nos ratos jovens, houve diminuições significativas nas medidas da onda E e da onda A com aumento da relação E/A na análise evolutiva de 7 dias para 30 dias de pós-operatório. A onda A foi significativamente maior e a relação E/A significativamente menor nos ratos infartados jovens quando comparados com os ratos infartados adultos no sétimo dia de pós-operatório. Estas alterações assemelham-se ao comportamento evolutivo do ser humano, que mostram com o crescimento e a maturidade melhora da complacência ventricular, traduzido pelo aumento da relação E/A. No feto e nos primeiros dias de vida do recém-nascido, a relação E/A mostra-se menor que 1, posteriormente progride para maior que 1 de forma gradativa com o crescimento. <sup>(80),(81),(82)</sup>

Os valores encontrados da relação E/A para os ratos adultos são semelhantes aos da literatura pesquisada, tanto para os infartados como para os

controles, demonstrando que os ratos adultos, diferente dos ratos jovens, apresentavam fisiologia ventricular diastólica restritiva sem recuperação na evolução. Esta análise pode ser observada na comparação da relação E/A entre os dois grupos infartados, em que este índice permanece maior que 2 na evolução de 30 dias nos ratos adultos. Conforme demonstrado por Leferovich et al., a evolução favorável dos ratos jovens pode ser atribuída à regeneração miocárdica por replicação de novos cardiomiócitos e menor deposição de colágeno. <sup>(28),(29), (67),(79)</sup>

Várias publicações foram realizadas nos últimos anos na tentativa de aprimorar a análise da função cardíaca por meio do Doppler-cardiograma. Entre elas, destacam-se trabalhos com o índice de Tei ou índice de performance miocárdica, que reflete a combinação da função sistólica e diastólica, utilizando valores derivados de tempos do intervalo Doppler. <sup>(60),(66),(68)</sup>

Este índice mostra-se bom para análise do desempenho ventricular após infarto, porque parece ser independente da geometria ventricular e da frequência cardíaca. É particularmente útil na análise evolutiva de ventrículo que se encontra em remodelamento. Em situações de alteração de pós-carga, o índice pode se alterar como no trabalho de Salemi et al., que observaram valores superiores em ratos submetidos a sobrecarga de pressão em relação aos controles. A pré-carga pode também induzir alterações significativas neste índice. <sup>(60),(66),(68), (69)</sup>

No estudo de Cury et al., com ratos adultos submetidos a infarto do miocárdio, foram encontrados valores de  $0,34 \pm 0,06$ ,  $0,47 \pm 0,07$  e  $0,69 \pm 0,08$  para infarto pequeno, infarto moderado e infarto grande, respectivamente, e  $0,38 \pm 0,05$  para o grupo controle. Os autores verificaram que o tamanho do infarto está diretamente relacionado com o índice de performance miocárdica. Nos infartos grandes há diminuição do desempenho ventricular com conseqüente aumento do índice de performance miocárdica. <sup>(60)</sup>

Neste estudo, observou-se que o índice de performance miocárdica foi significativamente maior no grupo de jovens e adultos infartados em relação aos seus controles com 7 dias de pós-operatório. Esta diferença não se manifesta na evolução de 30 dias de pós-operatório. Provavelmente fatores de pré e pós-carga da fase aguda podem estar contribuindo com alterações verificadas, porém outros estudos são necessários, visto que não foi encontrado na literatura pesquisada nenhum estudo que explicasse este comportamento.

## 7 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstram que os ratos jovens infartados apresentam melhor recuperação da função cardíaca com menor remodelamento ventricular em comparação com os ratos adultos.

Baseado nos dados apresentados identificou-se:

- a) melhora da fração de ejeção dos ratos jovens infartados em relação ao grupo controle e em relação aos ratos adultos infartados;
- b) remodelamento ventricular dos animais do grupo infartado em relação aos animais do grupo controle;
- c) que os ratos adultos infartados demonstraram função diastólica restritiva diferente dos jovens.

## REFERÊNCIAS

1. Prunier F, Gaertner R, Louedec L, Michel JB, Mercadier JJ, Escoubet B. Doppler echocardiographic estimation of left ventricular end-diastolic pressure after MI in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283(1): H346-52.

2 AMERICAN HEART ASSOCIATION. 2004. Disponível em: <<http://www.americanheart.org>> Acesso em: 20 out. 2004.

3 BRASIL. Ministério da Saúde. Datasus. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?db2003/c08.def>.In. Acesso em: 20 out. 2004.

4 Tarnavski O, McMullen JR, Schinke M, Nie Q, Kong S, Izumo S. Mouse cardiac surgery: comprehensive techniques for the generation of mouse models of human diseases and their application for genomic studies. *Physiol Genomics* 2004; 16(3):349-60.

5 Zornoff LAM, Azevedo PS, Minicucci MF, Molina RBG. Abordagem clínica do paciente com insuficiência cardíaca aguda após infarto do miocárdio. *Revista Socesp*, 2004.

6 Anversa P, Beghi C, Kikkawa Y, Olivetti G. Myocardial infarction in rats. Infarct size, myocyte hypertrophy, and capillary growth. *Circ Res* 1986; 58(1): 26-37.

7 III Diretriz sobre tratamento do infarto agudo do miocárdio. *Arq Bras cardiol*, 2004 september.

8 Anversa P, Leri A, Kajstura J. Cardiac regeneration. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(9): 1769-76.

9 Kajstura J, Leri A, Castaldo C, Nadal-Ginard B, Anversa P. Myocyte growth in the failing heart. *Surg Clin North Am* 2004; 84(1):161-77.

10 Wexler BC. Myocardial infarction in young vs old male rats: pathophysiologic changes. *Am Heart J* 1978; 96(1):70-80.

11 Olivetti G, Capasso JM, Meggs LG, Sonnenblick EH, Anversa P. Cellular basis of chronic ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Circ Res* 1991; 68(3):856-69.

12 Bishop SP. The myocardial cell: normal growth, cardiac hypertrophy and response to injury. *Toxicol Pathol* 1990; 18(4 Pt 1): 438-53.

13 Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart. *Circ Res* 1998; 83(1): 1-14.

14 Wulfsohn D, Nyengaard JR, Tang Y. Postnatal growth of cardiomyocytes in the left ventricle of the rat. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004; 277(1): 236-47.

15 Anversa P, Olivetti G, Loud AV. Morphometric study of early postnatal development in the left and right ventricular myocardium of the rat. I. Hypertrophy, hyperplasia, and binucleation of myocytes. *Circ Res* 1980; 46(4): 495-502.

16 Olivetti G, Anversa P, Loud AV. Morphometric study of early postnatal development in the left and right ventricular myocardium of the rat. II. Tissue composition, capillary growth, and sarcoplasmic alterations. *Circ Res* 1980; 46(4): 503-12.

17 Clubb FJ, Jr., Bishop SP. Formation of binucleated myocardial cells in the neonatal rat. An index for growth hypertrophy. *Lab Invest* 1984; 50(5): 571-7.

18 Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000; 101(25): 2981-8.

19 Weisman HF, Bush DE, Mannisi JA, Weisfeldt ML, Healy B. Cellular mechanisms of myocardial infarct expansion. *Circulation* 1988; 78(1): 186-201.

20 Rubin SA, Fishbein MC, Swan HJ. Compensatory hypertrophy in the heart after myocardial infarction in the rat. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1(6): 1435-41.

21 Anversa P, Capasso JM, Puntillo E, Sonnenblick EH, Olivetti G. Morphometric analysis of the infarcted heart. *Pathol Res Pract* 1989; 185(5): 544-50.

22 Zornoff LA, Spadaro J. [Ventricular remodeling after acute myocardial infarction. Concepts, pathophysiology and therapeutic approach]. *Arq Bras Cardiol* 1997; 68(6): 453-60.

- 23 Harsdorf R von, Poole-Wilson PA, Dietz R. Regenerative capacity of the myocardium: implications for treatment of heart failure. *Lancet* 2004; 363(9417): 1306-13.
- 24 Dowell JD, Field LJ, Pasumarthi KB. Cell cycle regulation to repair the infarcted myocardium. *Heart Fail Rev* 2003; 8(3): 293-303.
25. Epifanio HB, Zornoff LA, Matsubara BB, de Paiva SA, Inoue RM, Matsubara LS. [Myocardial remodeling after experimental acute myocardial infarction in rats. Effect of renin-angiotensin-aldosterone blockade]. *Arq Bras Cardiol* 2005; 84(1): 10-4.
- 26 Grossman W, Lorell BH. Adaptive and maladaptive processes: hemodynamic aspects of left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Circ* 1993 jun: VII28-VII30.
- 27 Anand IS, Liu D, Chugh SS, Prahash AJ, Gupta S, John R, et al. Isolated myocyte contractile function is normal in postinfarct remodeled rat heart with systolic dysfunction. *Circulation* 1997; 96(11): 3974-84.
- 28 Lefterovich JM, Bedelbaeva K, Samulewicz S, Zhang XM, Zwas D, Lankford EB, et al. Heart regeneration in adult MRL mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(17): 9830-5.
- 29 Litwin SE, Katz SE, Morgan JP, Douglas PS. Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. *Circulation* 1994; 89(1): 345-54.
- 30 Raya TE, Gaballa M, Anderson P, Goldman S. Left ventricular function and remodeling after myocardial infarction in aging rats. *Am J Physiol* 1997; 273(6 Pt 2): H2652-8.
- 31 Yang XP, Liu YH, Rhaleb NE, Kurihara N, Kim HE, Carretero OA. Echocardiographic assessment of cardiac function in conscious and anesthetized mice. *Am J Physiol* 1999; 277(5 Pt 2): H1967-74.
- 32 Azhar G, Gao W, Liu L, Wei JY. Ischemia-reperfusion in the adult mouse heart influence of age. *Exp Gerontol* 1999; 34(5): 699-714.

33 Schulze PC, Lee RT. Macrophage-mediated cardiac fibrosis. *Circ Res* 2004; 95(6): 552-3.

34 Yuasa S, Fukuda K, Tomita Y, Fujita J, Ieda M, Tahara S, et al. Cardiomyocytes undergo cell division following myocardial infarction is a spatially and temporally restricted event in rats. *Mol Cell Biochem* 2004; 259(1-2): 177-81.

35 Yang F, Liu YH, Yang XP, Xu J, Kapke A, Carretero OA. Myocardial infarction and cardiac remodeling in mice. *Exp Physiol* 2002; 87(5): 547-55.

36 Sun Y, Kiani MF, Postlethwaite AE, Weber KT. Infarct scar as living tissue. *Basic Res Cardiol* 2002; 97(5): 343-7.

37 Whittaker P. Collagen organization in wound healing after myocardial injury. *Basic Res Cardiol*, 1998: 23-5.

38 Gould KE, Taffet GE, Michael LH, Christie RM, Konkol DL, Pocius JS, et al. Heart failure and greater infarct expansion in middle-aged mice: a relevant model for postinfarction failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282(2): H615-21.

39 Jugdutt BI. Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix: when is enough enough? *Circulation* 2003; 108(11): 1395-403.

40 Quaini F, Urbanek K, Graiani G, Lagrasta C, Maestri R, Monica M, et al. The regenerative potential of the human heart. *Int J Cardiol* 2004; 95 Suppl 1: S26-8.

41 Muller-Ehmsen J, Peterson KL, Kedes L, Whittaker P, Dow JS, Long TI, et al. Rebuilding a damaged heart: long-term survival of transplanted neonatal rat cardiomyocytes after myocardial infarction and effect on cardiac function. *Circulation* 2002; 105(14): 1720-6.

42 Vliegen HW, van der Laarse A, Huysman JA, Wijnvoord EC, Mentar M, Cornelisse CJ, et al. Morphometric quantification of myocyte dimensions validated in normal growing rat hearts and applied to hypertrophic human hearts. *Cardiovasc Res* 1987; 21(5): 352-7.

43 Marino TA, Haldar S, Williamson EC, Beaverson K, Walter RA, Marino DR, et al. Proliferating cell nuclear antigen in developing and adult rat cardiac muscle cells. *Circ Res* 1991; 69(5): 1353-60.

44 Anversa P. Myocyte death in the pathological heart. *Circ Res* 2000; 86(2): 121-4.

45 Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Myocyte death, growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure. *Circ Res* 2003; 92(2): 139-50.

46 Tamamori-Adachi M, Ito H, Sumrejkanchanakij P, Adachi S, Hiroe M, Shimizu M, et al. Critical role of cyclin D1 nuclear import in cardiomyocyte proliferation. *Circ Res* 2003 Jan 10: e12-9.

47 Souza LGS, Carvalho RG, Pouzet B, Vilquin JT, Garcin I, Menasché P, et al. The transplant of cardiac cells and myoblast skeletal cells in myocardium infarction. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2002: 312-22.

48 Souza LC, Carvalho KA, Rebelatto C, Senegaglia A, Furuta M, Miyague N, et al. Combined transplantation of skeletal myoblasts and mesenchymal cells (cocultivation) in ventricular dysfunction after myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol* 2004; 83(4): 294-9; 288-93.

49 Gingell RL. Developmental biology of mammalian myocardium. In: Freedom R, editor. *Neonatal Heart Disease*. 1 ed ed. Toronto: Springer-Verlag; 1992. p. 35-44.

50 Marino TA, Cao W, Lee J, Courtney R. Localization of proliferating cell nuclear antigen in the developing and mature rat heart cell. *Anat Rec* 1996; 245(4): 677-84.

51 Bjornerheim R, Groggaard HK, Kjekshus H, Attramadal H, Smiseth OA. High frame rate Doppler echocardiography in the rat: an evaluation of the method. *Eur J Echocardiogr* 2001; 2(2): 78-87.

52 Burrell LM, Chan R, Phillips PA, Calafiore P, Tonkin AM, Johnston CI. Validation of an echocardiographic assessment of cardiac function following moderate size myocardial infarction in the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996; 23(6-7): 570-2.

53 Pollick C, Hale SL, Kloner RA. Echocardiographic and cardiac Doppler assessment of mice. *J Am Soc Echocardiogr* 1995; 8(5 Pt 1): 602-10.

54 Schwarz ER, Pollick C, Meehan WP, Kloner RA. Evaluation of cardiac structures and function in small experimental animals: transthoracic, transesophageal, and intraventricular echocardiography to assess contractile function in rat heart. *Basic Res Cardiol* 1998; 93(6): 477-86.

55 Broberg CS, Pantely GA, Barber BJ, Mack GK, Lee K, Thigpen T, et al. Validation of the myocardial performance index by echocardiography in mice: a noninvasive measure of left ventricular function. *J Am Soc Echocardiogr* 2003;16(8): 814-23.

56 Moises VA, Ferreira RL, Nozawa E, Kanashiro RM, Campos O, Andrade JL, et al. Structural and functional characteristics of rat hearts with and without myocardial infarct. Initial experience with Doppler echocardiography. *Arq Bras Cardiol* 2000; 75(2): 125-36.

57 Slama M, Susic D, Varagic J, Ahn J, Frohlich ED. Echocardiographic measurement of cardiac output in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284(2): H691-7.

58 Reffelmann T, Kloner RA. Transthoracic echocardiography in rats. Evaluation of commonly used indices of left ventricular dimensions, contractile performance, and hypertrophy in a genetic model of hypertrophic heart failure (SHHF-Mcc-facp-Rats) in comparison with Wistar rats during aging. *Basic Res Cardiol* 2003; 98(5): 275-84.

59 Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr* 1989; 2(5): 358-67.

60 Cury AF, Bonilha A, Saraiva RM, Campos O, Carvalho AC, de Paola AAV, et al. Relação entre o índice de performance miocárdica e parâmetros de função ventricular esquerda em ratas com infarto do miocárdio. *Rev Bras Ecocardio*, 2003: 69-71.

61 Kawahara Y, Tanonaka K, Daicho T, Nawa M, Oikawa R, Nasa Y, et al. Preferable anesthetic conditions for echocardiographic determination of murine cardiac function. *J Pharmacol Sci* 2005; 99(1): 95-104.

62 Zimmer HG, Gerdes AM, Lortet S, Mall G. Changes in heart function and cardiac cell size in rats with chronic myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 1990; 22(11): 1231-43.

63 Scorsin M, Hagege AA, Dolizy I, Marotte F, Mirochnik N, Copin H, et al. Can cellular transplantation improve function in doxorubicin-induced heart failure? *Circulation* 1998; 98(19 Suppl): II151-5; discussion II155-6.

64 Hart CY, Burnett JC, Jr., Redfield MM. Effects of avertin versus xylazine-ketamine anesthesia on cardiac function in normal mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281(5): H1938-45.

65 Brown L, Fenning A, Chan V, Loch D, Wilson K, Anderson B, et al. Echocardiographic assessment of cardiac structure and function in rats. *Heart Lung Circ* 2002; 11(3): 167-73.

66 Barberato SH, Pecoits Filho R. [Influence of preload reduction on Tei index and other Doppler echocardiographic parameters of left ventricular function]. *Arq Bras Cardiol* 2006; 86(6): 425-31.

67 Nozawa E, Kanashiro RM, Murad N, Carvalho AC, Cravo SL, Campos O, et al. Performance of two-dimensional Doppler echocardiography for the assessment of infarct size and left ventricular function in rats. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39(5): 687-95.

68 Salemi VM, Pires MD, Cestari IN, Cestari IA, Picard MH, Leirner AA, et al. Echocardiographic assessment of global ventricular function using the myocardial performance index in rats with hypertrophy. *Artif Organs* 2004; 28(4): 332-7.

69 Morgan EE, Faulx MD, McElfresh TA, Kung TA, Zawaneh MS, Stanley WC, et al. Validation of echocardiographic methods for assessing left ventricular dysfunction in rats with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287(5): H2049-53.

70 Sharp PE, la Regina MC. Experimental methodology. In: Suckow MA, editor. *The Laboratory Rat*. 1 ed. Boston; 1998. p. 17.

71 Scaini CT, MF; Travesi, N do C; Rheingantz, MGT; Signirini, Vm. Helminths de ratos wistar de diferentes faixas etárias criados em biotério convencional. *Arq. Inst. Biol* 2003 jul/aug: 265-8.

72 Reuelto M, Ambros L, Montoya L, Bonafine R. Treatment-time-dependent difference of ketamine pharmacological response and toxicity in rats. *Chronobiol Int* 2002; 19(5): 937-45.

73 Birk E, Stamler A, Katz J, Berant M, Dagan O, Matitiau A, et al. Anomalous origin of the left coronary artery from the pulmonary artery: diagnosis and postoperative follow up. *Isr Med Assoc J* 2000; 2(2): 111-4.

74 Saker DM, Walsh-Sukys M, Spector M, Zahka KG. Cardiac recovery and survival after neonatal myocardial infarction. *Pediatr Cardiol* 1997; 18(2): 139-42.

75 Guarita-Souza LC, Carvalho KA, Voitowicz V, Rebelatto C, Senegaglia A, Hansen P, et al. Simultaneous autologous transplantation of cocultured mesenchymal stem cells and skeletal myoblasts improves ventricular function in a murine model of Chagas disease. *Circulation* 2006; 114(1 Suppl): I120-4.

76 Jugdutt BI, Joljart MJ, Khan MI. Rate of collagen deposition during healing and ventricular remodeling after myocardial infarction in rat and dog models. *Circulation* 1996; 94(1): 94-101.

77 Doursout M-F, Wouters P, Kashimoto S, Hartley CJ, Rabinovitz R, Chelly JE. Measurement of cardiac function in conscious rat. *Ultrasound in Med. & Biol.* 2001: 195-202.

78 Anversa P, Fitzpatrick D, Argani S, Capasso JM. Myocyte mitotic division in the aging mammalian rat heart. *Circ Res* 1991; 69(4): 1159-64.

79 Watson LE, Sheth M, Denyer RF, Dostal DE. Baseline echocardiographic values for adult male rats. *J Am Soc Echocardiogr* 2004; 17(2): 161-7.

80 Horowitz E. Estudo ecocardiográfico da função diastólica em crianças. *Revista Brasileira de Ecocardiografia* 2002 julho/agosto/setembro: 22-32.

81 Zielinsky PeF, C. Abordagem ecocardiográfica da função diastólica fetal: novos conceitos. *Revista Brasileira de Ecocardiografia* 2002 julho/agosto/setembro: 52-60.

82 Tatani SB. [Fetal echocardiography. Presentation of a method]. *Arq Bras Cardiol* 1997; 69(3): 197-201.

## APÊNDICE A - MOMENTO DE AVALIAÇÃO: 7 DIAS

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
<b>Vdf</b>	Jovens infartados	22	0,371	0,391	0,099	0,712	0,179
	Jovens controles	13	0,404	0,416	0,319	0,505	0,060
	Adultos infartados	24	0,802	0,814	0,594	0,1080	0,112
	Adultos controles	13	0,724	0,681	0,470	0,1050	0,169
<b>Vsf</b>	Jovens infartados	22	0,270	0,266	0,073	0,551	0,143
	Jovens controles	13	0,168	0,174	0,086	0,234	0,041
	Adultos infartados	24	0,588	0,600	0,392	0,861	0,113
	Adultos controles	13	0,407	0,431	0,192	0,621	0,131
<b>FE</b>	Jovens infartados	22	27,9	27,9	11,0	40,0	7,6
	Jovens controles	13	58,6	57,9	49,8	73,0	6,7
	Adultos infartados	24	26,9	26,6	12,8	37,0	6,6
	Adultos controles	13	44,6	42,9	35,1	61,3	7,4
<b>Onda E</b>	Jovens infartados	22	0,779	0,759	0,550	1,070	0,134
	Jovens controles	13	0,845	0,837	0,717	1,170	0,115
	Adultos infartados	24	0,767	0,750	0,548	0,976	0,109
	Adultos controles	13	0,691	0,684	0,491	0,848	0,112
<b>Onda A</b>	Jovens infartados	12	0,460	0,478	0,336	0,601	0,089
	Jovens controles	7	0,581	0,546	0,394	0,929	0,185
	Adultos infartados	22	0,245	0,246	0,112	0,438	0,083
	Adultos controles	11	0,318	0,342	0,165	0,551	0,117
<b>IPM</b>	Jovens infartados	22	0,41	0,45	0,12	0,90	0,18
	Jovens controles	13	0,28	0,31	0,08	0,57	0,14
	Adultos infartados	24	0,51	0,50	0,03	0,87	0,19
	Adultos controles	13	0,39	0,41	0,21	0,53	0,10
<b>FC</b>	Jovens infartados	22	285,32	278	141	437	61,70
	Jovens controles	13	255,08	267	126	360	69,89
	Adultos infartados	24	206,88	207,5	164	251	27,31
	Adultos controles	13	200,73	202	112	295	45,55
<b>Onda E/A</b>	Jovens infartados	12	1,62	1,51	1,23	2,72	0,41
	Jovens controles	7	1,44	1,56	0,87	1,90	0,34
	Adultos infartados	22	3,52	3,22	1,64	8,36	1,71
	Adultos controles	11	2,66	1,82	1,16	5,04	1,46

Na tabela abaixo são apresentados os valores de p dos testes estatísticos

Grupos comparados	Vdf	Vsf	FE	Onda E	Onda A	IPM	FC	Onda E/A
	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p**
<b>Jovem estudo x Jovem controle</b>	0,441	<b>0,004</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,150	0,144	<b>0,034</b>	0,191	0,482
<b>Jovem estudo x Adulto estudo</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,633	0,740	<b>&lt;0,001</b>	0,081	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Jovem controle x Adulto controle</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,026</b>	<b>0,027</b>	<b>0,020</b>
<b>Adulto estudo x Adulto controle</b>	0,103	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,053	0,049	<b>0,021</b>	0,662	0,105

Vsf: volume diastólico final em mlilitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; Onda E: velocidade de fluxo mitral em metros por segundo; Onda A: velocidade de fluxo mitral em metros por segundos; IPM: índice de performance miocárdica; FC: frequência cardíaca/minuto; Onda E/A: relação das ondas E e A; p: nível de significância estatística; n: número de amostras; (\*) Teste t de Student para amostras independentes; (\*\*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

## APÊNDICE B - MOMENTO DE AVALIAÇÃO: 30 DIAS

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Vdf	Jovens infartados	14	0,557	0,581	0,352	0,804	0,148
	Jovens controles	9	0,626	0,591	0,457	0,883	0,146
	Adultos infartados	15	0,919	0,895	0,641	1,220	0,196
	Adultos controles	10	0,712	0,668	0,481	1,006	0,173
Vsf	Jovens infartados	14	0,347	0,345	0,164	0,668	0,160
	Jovens controles	9	0,325	0,296	0,255	0,482	0,071
	Adultos infartados	15	0,668	0,615	0,341	1,070	0,225
	Adultos controles	10	0,401	0,378	0,233	0,556	0,111
FE	Jovens infartados	14	40,6	40,5	12,8	57,5	13,2
	Jovens controles	9	47,7	46,8	42,9	54,7	4,2
	Adultos infartados	15	28,9	30,7	12,2	49,5	10,3
	Adultos controles	10	45,8	44,9	39,8	52,5	4,1
Onda E	Jovens infartados	14	0,710	0,682	0,612	0,841	0,087
	Jovens controles	9	0,680	0,667	0,584	0,813	0,072
	Adultos infartados	15	0,700	0,717	0,466	0,965	0,128
	Adultos controles	10	0,693	0,704	0,562	0,808	0,080
Onda A	Jovens infartados	14	0,385	0,361	0,182	0,532	0,093
	Jovens controles	9	0,356	0,350	0,292	0,427	0,048
	Adultos infartados	14	0,316	0,348	0,113	0,491	0,129
	Adultos controles	10	0,350	0,335	0,284	0,471	0,061
IPM	Jovens infartados	14	0,46	0,45	0,22	0,89	0,17
	Jovens controles	9	0,59	0,59	0,42	0,98	0,18
	Adultos infartados	15	0,51	0,52	0,27	0,71	0,11
	Adultos controles	10	0,47	0,41	0,27	1,25	0,28
FC	Jovens infartados	14	216,80	213,5	188	251	17,29
	Jovens controles	9	192,20	204	134	239	36,98
	Adultos infartados	15	190,90	195	159	228	19,87
	Adultos controles	10	193,90	195	118	250	34,35
Onda E/A	Jovens infartados	14	2,00	1,89	1,16	4,46	0,80
	Jovens controles	9	1,93	1,88	1,59	2,28	0,23
	Adultos infartados	14	2,85	1,81	1,42	6,83	2,00
	Adultos controles	10	2,03	1,98	1,42	2,66	0,41

Na tabela abaixo são apresentados os valores de p dos testes estatísticos.

Grupos comparados	Vdf	Vsf	FE	Onda E	Onda A	IPM	FC	Onda E/A
	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p*	Valor de p**
Jovens infartados x Jovens controles	0,286	0,665	0,079	0,405	0,413	0,104	0,091	0,975
Jovens infartados X Adultos infartados	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,013</b>	0,807	0,118	0,380	<b>0,001</b>	0,769
Jovens controles x Adultos controles	0,261	0,102	0,337	0,727	0,812	0,280	0,920	0,780
Adulto infartados x Adultos controles	0,013	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,876	0,394	0,646	0,786	0,886

Vsf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; Onda E: velocidade de fluxo mitral em metros por segundo; Onda A: velocidade de fluxo mitral em metros por segundos; IPM: índice de performance miocárdica; FC: frequência cardíaca/minuto; Onda E/A: relação das ondas E e A; p: nível de significância estatística; n: número de amostras; (\*) Teste t de Student para amostras independentes; (\*\*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

### APÊNDICE C - MOMENTOS COMPARATIVOS: 7 DIAS X 30 DIAS

Jovens Infartados	Momento	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
<b>7 dias x 30 dias</b>								
<b>Vdf</b>	7 dias	14	0,290	0,264	0,099	0,525	0,152	<b>&lt;0,001*</b>
	30 dias	14	0,557	0,581	0,352	0,804	0,148	
<b>Vsf</b>	7 dias	14	0,210	0,178	0,073	0,427	0,122	<b>&lt;0,001*</b>
	30 dias	14	0,347	0,345	0,164	0,668	0,160	
<b>FE</b>	7 dias	14	28,06	27,32	11,00	40,00	8,87	<b>0,001*</b>
	30 dias	14	40,61	40,58	12,81	57,57	13,23	
<b>Onda E</b>	7 dias	14	0,770	0,759	0,601	1,010	0,113	0,198**
	30 dias	14	0,710	0,682	0,612	0,841	0,087	
<b>Onda A</b>	7 dias	6	0,476	0,510	0,358	0,579	0,086	0,138*
	30 dias	6	0,395	0,358	0,323	0,532	0,087	
<b>IPM</b>	7 dias	14	0,42	0,39	0,19	0,90	0,18	0,453*
	30 dias	14	0,47	0,45	0,22	0,89	0,17	
<b>FC</b>	7 dias	14	293,36	280	141	437	74,27	<b>0,002*</b>
	30 dias	14	216,79	213,50	188	251	17,29	
<b>Onda E/A</b>	7 dias	6	1,47	1,51	1,23	1,68	0,19	0,075
	30 dias	6	1,87	1,89	1,16	2,33	0,43	

Vsf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção/percentual; Onda E: velocidade de fluxo mitral em metros por segundo; Onda A: velocidade de fluxo mitral em metros por segundos; IPM: índice de performance miocárdica; FC: frequência cardíaca/minuto; Onda E/A: relação das ondas E e A; p: nível de significância estatística; n: número de amostras; (\*) Teste t de Student para amostras pareadas; (\*\*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon

Jovens Controles	Momento	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
<b>7 dias x 30 dias</b>								
<b>Vdf</b>	7 dias	9	0,418	0,432	0,319	0,505	0,059	<b>0,006*</b>
	30 dias	9	0,626	0,591	0,457	0,883	0,146	
<b>Vsf</b>	7 dias	9	0,169	0,174	0,086	0,234	0,048	<b>0,001*</b>
	30 dias	9	0,325	0,296	0,255	0,482	0,071	
<b>FE</b>	7 dias	9	60,34	57,93	53,30	73,00	6,78	<b>0,001*</b>
	30 dias	9	47,71	46,87	42,93	54,70	4,21	
<b>Onda E</b>	7 dias	9	0,858	0,837	0,717	1,170	0,135	<b>0,008**</b>
	30 dias	9	0,680	0,667	0,584	0,813	0,072	
<b>Onda A</b>	7 dias	6	0,613	0,577	0,441	0,929	0,182	<b>0,028**</b>
	30 dias	6	0,359	0,365	0,292	0,427	0,053	
<b>IPM</b>	7 dias	9	0,23	0,28	0,08	0,40	0,12	<b>&lt;0,001*</b>
	30 dias	9	0,59	0,59	0,42	0,98	0,18	
<b>FC</b>	7 dias	9	242,67	212	126	360	74,58	0,091*
	30 dias	9	192,22	204	134	239	36,98	
<b>Onda E/A</b>	7 dias	6	1,37	1,48	0,87	1,63	0,31	<b>0,046</b>
	30 dias	6	1,93	1,90	1,59	2,28	0,28	

Vsf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; Onda E: velocidade de fluxo mitral em metros por segundo; Onda A: velocidade de fluxo mitral em metros por segundos; IPM: índice de performance miocárdica; FC: frequência cardíaca/minuto; Onda E/A: relação das ondas E e A; p: nível de significância estatística; n: número de amostras (\*) Teste t de Student para amostras pareadas; (\*\*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon

## APÊNDICE D - MOMENTOS COMPARADOS: 7 E 30 DIAS

Adultos infartados	Momento	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
<b>7 dias x 30 dias</b>								
<b>Vdf</b>	7 dias	15	0,796	0,813	0,594	1,080	0,107	<b>0,009*</b>
	30 dias	15	0,919	0,895	0,641	1,220	0,196	
<b>Vsf</b>	7 dias	15	0,587	0,592	0,392	0,861	0,117	0,114*
	30 dias	15	0,668	0,615	0,341	1,070	0,225	
<b>FE</b>	7 dias	15	26,53	25,50	12,87	37,07	7,52	0,369*
	30 dias	15	28,98	30,70	12,27	49,57	10,36	
<b>Onda E</b>	7 dias	15	0,766	0,730	0,548	0,976	0,113	0,118*
	30 dias	15	0,700	0,717	0,466	0,965	0,128	
<b>Onda A</b>	7 dias	12	0,259	0,267	0,112	0,438	0,080	0,054*
	30 dias	12	0,330	0,369	0,113	0,491	0,128	
<b>IPM</b>	7 dias	15	0,46	0,48	0,03	0,87	0,21	0,294*
	30 dias	15	0,51	0,53	0,27	0,71	0,11	
<b>FC</b>	7 dias	15	206,80	207	164	251	30,31	0,068*
	30 dias	15	190,93	195	159	228	19,87	
<b>Onda E/A</b>	7 dias	12	3,27	2,65	1,64	8,36	1,78	0,117
	30 dias	12	2,71	1,76	1,42	6,83	2,02	

Vsf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; Onda E: velocidade de fluxo mitral em metros por segundo; Onda A: velocidade de fluxo mitral em metros por segundos; IPM: índice de performance miocárdica; FC: frequência cardíaca/minuto; Onda E/A: relação das ondas E e A; p: nível de significância estatística; n: número de amostras; (\*) Teste t de Student para amostras pareadas

Adultos Controles	Momento	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
<b>7 dias x 30 dias</b>								
<b>Vdf</b>	7 dias	10	0,667	0,673	0,470	0,826	0,133	0,410*
	30 dias	10	0,695	0,667	0,481	1,006	0,168	
<b>Vsf</b>	7 dias	10	0,367	0,387	0,192	0,535	0,111	0,305*
	30 dias	10	0,389	0,378	0,233	0,556	0,106	
<b>FE</b>	7 dias	10	45,75	44,92	35,10	61,33	7,93	0,826*
	30 dias	10	46,13	44,93	41,90	52,57	3,72	
<b>Onda E</b>	7 dias	10	0,681	0,696	0,491	0,835	0,100	0,671*
	30 dias	10	0,702	0,743	0,562	0,808	0,082	
<b>Onda A</b>	7 dias	9	0,349	0,342	0,165	0,551	0,105	0,515**
	30 dias	9	0,337	0,333	0,284	0,427	0,046	
<b>IPM</b>	7 dias	10	0,41	0,46	0,21	0,53	0,12	0,646**
	30 dias	10	0,47	0,41	0,27	1,25	0,28	
<b>FC</b>	7 dias	9	213,28	206	179	295	34,55	0,110**
	30 dias	9	187,67	195	118	215	29,84	
<b>Onda E/A</b>	7 dias	9	2,20	1,78	1,16	5,04	1,18	0,767
	30 dias	9	2,09	2,01	1,69	2,66	0,36	

Vsf: volume diastólico final em mililitros; Vsf: volume sistólico final em mililitros; FE: fração de ejeção percentual; Onda E: velocidade de fluxo mitral em metros por segundo; Onda A: velocidade de fluxo mitral em metros por segundos; IPM: índice de performance miocárdica; FC: frequência cardíaca/minuto; Onda E/A: relação das ondas E e A; p: nível de significância estatística; n: número de amostras; (\*) Teste t de Student para amostras pareadas; (\*\*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon

## APÊNDICE E - PESOS DOS RATOS E DOS CORAÇÕES COM 7 DIAS PÓS-OPERATÓRIO

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Peso do rato	Jovens infartados	8	176,49	164,77	131,60	237,16	37,74
	Jovens controles	4	206,44	201,37	186,78	236,25	22,66
	Adulto infartados	9	335,92	340,28	290,90	364,70	21,39
	Adultos controles	3	365,99	375,75	342,20	380,01	20,71
Peso coração	Jovens infartados	8	0,96	0,98	0,69	1,11	0,15
	Jovens controles	3	1,11	1,18	0,96	1,21	0,13
	Adultos infartados	9	1,34	1,24	1,14	1,76	0,21
	Adultos controles	3	1,16	1,14	1,06	1,29	0,12

Na tabela abaixo são apresentados os valores de p dos testes estatísticos.

Grupos comparados	Peso do rato	Peso do coração
	Valor de p*	Valor de p*
Jovens infartados x Jovens controles	0,283	<b>0,048</b>
Jovens infartados x Adultos infartados	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
Jovens controles x Adultos controles	0,057	0,857
Adulto infartados x Adultos controles	0,100	0,145

n: número de amostras; p: nível de significância estatística;  
 (\*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

## APÊNDICE F - PESOS DOS RATOS E DOS CORAÇÕES COM 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Peso do rato	Jovens infartados	9	265,34	267,20	249,34	277,50	8,72
	Jovens controles	4	312,33	316,61	289,38	326,74	17,37
	Adultos infartados	8	357,56	357,04	324,22	380,70	19,31
	Adultos controles	3	381,81	372,00	364,60	408,82	23,69
Peso coração	Jovens infartados	9	1,10	1,10	0,86	1,28	0,14
	Jovens controles	4	1,15	1,17	1,02	1,23	0,09
	Adultos infartados	8	1,49	1,44	1,07	1,81	0,23
	Adultos controles	3	1,29	1,33	1,18	1,36	0,10

Na tabela abaixo são apresentados os valores de p dos testes estatísticos.

Grupos comparados	Peso do rato	Peso do coração
	Valor de p*	Valor de p*
Jovens infartados x Jovens controles	0,003	0,604
Jovens infartados x Adultos infartados	<0,001	0,002
Jovens controles x Adultos controles	0,057	0,114
Adultos infartados x Adultos controles	0,194	0,085

n: número de amostras; p: nível de significância estatística;  
 (\*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

## ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS



Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Curitiba, 12 de Novembro de 2004.  
PARECER N. 26/04/CEPA-PUCPR

Prezado (a) Pesquisador (es),

Venho por meio desta informar a Vossa Senhoria que o Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCRPR, em reunião realizada no dia 25 de outubro do corrente ano avaliou o Projeto Intitulado “Análise do Comportamento Evolutivo do Remodelamento Ventricular em Ratos de Diferentes Idades, Submetidos a Infarto do Miocárdio”, sob o registro no CEPA /PUCPR nº 21.

O experimento classificado como de categoria D será realizado com o número de 60 Ratos Wistar, os quais após o experimento serão eutanasiados.

O colegiado do CEPA entendeu que o projeto avaliado está de acordo com as normas éticas vigentes no país e por isso emite o seguinte parecer:

### **APROVADO**

Lembramos o senhor (a) pesquisador (a) que é obrigatório encaminhar relatório anual parcial e relatório final da pesquisa a este CEPA.

Atenciosamente,

  
Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza  
Secretário do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCPR

Ilmo Sr. Francisco César Pabis