

Infarto de Miocardio Experimental en Ratones: Análisis del Modelo

Leonardo A. M. Zornoff, Sergio A. R. Paiva, Marcos F. Minicucci, Joel Spadaro

Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, SP - Brasil

Resumen

Una de las estrategias que se utiliza más en el estudio de las alteraciones fisiopatológicas resultantes de la oclusión coronaria es el uso del modelo del infarto experimental en el ratón. Entre otros factores, este hecho resulta de la similitud con las alteraciones fisiopatológicas que ocurren tras el infarto, en humanos. Sin embargo, debemos tener en cuenta que este modelo tiene características que pueden dificultar tanto el empleo como la interpretación de eventuales resultados. Así, esta revisión tiene por objeto discutir las principales características del modelo del infarto experimental en el ratón, y que se aborde la técnica de la oclusión coronaria, las consecuencias y los métodos de evaluación morfológicos y funcionales del infarto y sus implicaciones clínicas.

Introducción

El infarto agudo de miocardio (IAM) se define como el enfoque de necrosis resultante de baja perfusión tisular, con señales y síntomas consecuentes de la muerte celular cardiaca.

Se estima que, en todo el mundo, este síndrome pueda ocurrir en proporciones epidémicas. Pocas patologías tuvieron su evolución alterada de modo tan radical como el IAM, con una reducción acentuada de la mortalidad, en consecuencia de los cambios ocasionados en el tratamiento en los últimos 30 años^{1,2}. El cambio en el tratamiento fue el resultado de los avances obtenidos en el estudio de la patogénesis del IAM y de sus complicaciones. Este hecho resalta la importancia de mejor entendimiento sobre los mecanismos fisiopatológicos de los síndromes coronarios agudos.

Uno de los modelos que más se utiliza en el estudio de las alteraciones fisiopatológicas resultantes de la oclusión coronaria es el del infarto experimental en el ratón. No obstante, el modelo presenta diversas características peculiares que pueden dificultar su manejo. De ese modo, el objetivo de esta revisión es que se discuta los principales aspectos metodológicos relacionados con el modelo de infarto experimental en el modelo del ratón.

Palabras clave

Infarto del miocardio, animales de laboratorio, ratones, oclusión coronaria.

Correspondencia: Leonardo Antônio Mamede Zornoff •

Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Clínica Médica, Rubião Jr, 18.618-000, Botucatu, SP - Brasil
E-mail: lzornoff@fmb.unesp.br, lzornoff@cardiol.br
Artículo recibido el 18/04/08; revisado recibido el 29/05/08; aceptado el 29/05/08.

Desarrollo del método

Heimburger, en el 1946³, describió inicialmente el modelo de IAM experimental en el ratón mediante la oclusión de la coronaria izquierda. Con el paso de los años, Johns y Olson⁴, Kaufman et al.⁵ y Seyle et al.⁶ modificaron la técnica progresivamente. A principios de la década del 1980, se introdujo el método en Brasil, en la Facultad de Medicina de Botucatu⁷, diseminándolo en otros servicios. En suma, tras la anestesia se realiza la toracotomía izquierda, entre el 4° y el 5° espacios intercostales. El corazón se exterioriza a través de compresión lateral del tórax y la arteria coronaria izquierda unida con hilo de sutura 5-0 a, aproximadamente, 2 mm del origen, entre el borde del atrio izquierdo y el surco de la arteria pulmonar (Figura 1). Acto seguido, se pone nuevamente el corazón en la cavidad torácica, los pulmones expandidos con ventilación positiva con oxígeno al 100% y el tórax cerrado³⁻⁶. El método descrito anteriormente tiene varias ventajas. En primer lugar, se pueden crear los animales específicamente para los protocolos y con costo más bajo que animales mayores. En segundo lugar, la cirugía es extremadamente rápida, con una duración que varía de 2 a 5 minutos. Otro aspecto es que debido a las características del metabolismo, las etapas involucradas en la evolución del infarto como, por ejemplo, necrosis, cicatrización y remodelación ocurren rápidamente, lo que disminuye el tiempo de observación de los estudios. Finalmente, las alteraciones morfológicas y funcionales que resultan del infarto se asemejan a aquellas encontradas en humanos^{8,9}.

Animales y cirugía

Las cepas que se utilizan más frecuentemente son la Wistar y la Sprague-Dawley, dependiendo del servicio. Usualmente, se utilizan animales con peso entre 200 y 250 gramos. En esta franja de peso, se considera el ratón como adulto joven, y se lo sitúa en una fase evolutiva caracterizada por crecimiento lento y presenta mortalidad quirúrgica menor que animales más viejos. Se recomienda también que se trabaje con animales del mismo sexo, debido al hecho de esta variable ser un importante factor de regulación de las adaptaciones cardíacas, en respuesta a diversos estímulos^{10,11}.

Respecto a la anestesia, diversos agentes vienen siendo utilizados. De entre ellos, se destacan los inhalatorios, como el éter y el isoflurano, ya que estos fármacos son relativamente baratos y presentan la ventaja de tener una corta duración de acción, además de permitir la variación de la intensidad de la anestesia durante la cirugía¹⁰.

Barbitúricos o la asociación de clorhidrato de ketamina (50mg/kg) y clorhidrato de xilidino (1mg/kg) también se utilizan frecuentemente por vía intraperitoneal o intramuscular. Estos



Figura 1 - Infarto experimental. Exteriorización del corazón para sutura coronaria a 2 mm del origen, entre el borde del atrio izquierdo y el surco de la arteria pulmonar.

agentes son de rápida acción y pueden producir un plano anestésico en 5 minutos. Es importante acordar que los agentes con corta vida media son preferibles a los de larga acción¹⁰.

Durante el procedimiento, se recomienda que se ventilen a los animales, artificialmente, con suplementación de oxígeno. Para ello, se pueden ventilar a los animales por medio de compresión nasal, con catéter, o mediante ventilación mecánica tras la intubación orotraqueal con catéter número 16¹⁰.

Después de la cirugía, los analgésicos que más se utilizan son la morfina, la meperidina, la dipirona o el paracetamol. Otro aspecto es que las condiciones ambientales se deben mantener constantes, ya que variaciones de temperatura, por ejemplo, pueden aumentar la mortalidad tras el infarto.

Mortalidad

La mortalidad verificada en las primeras 24 horas tras la cirugía está ubicada comúnmente entre el 40% y el 60%. Entre las causas de muerte en este período están destacados factores relacionados con el procedimiento quirúrgico, como neumotórax y depresión respiratoria y factores asociados a la falla de la bomba cardiaca, como el edema agudo de pulmón^{10,12}. La principal causa de óbito en este modelo, sin embargo, es el alta prevalencia de arritmias malignas, como la taquicardia ventricular sostenida y la fibrilación ventricular. Opitz et al encontraron mortalidad del 65% en las 48 horas tras el infarto. Por medio de monitoreo continuo, los autores mostraron que el 96% de los animales sometidos al IAM presentaron centenas de episodios de taquicardia ventricular y como mínimo 20 episodios de fibrilación ventricular. Adicionalmente, se evidenciaron 2 períodos distintos de arritmia: el primer período incluyó los primeros 30 minutos luego de la oclusión coronaria y el segundo, responsable del 65% de los óbitos, incluyó el período entre 1,5 y 9 horas tras el infarto¹³.

En cuanto el período crónico post-IAM, la mortalidad encontrada en este modelo es extremadamente variable, lo que es el principal determinante de este evento es el tamaño del infarto. De ese modo, Pfeffer et al.¹⁴, siguiendo a animales

infartados durante el período de un año, verificaron que para infartos pequeños (entre el 5% y el 19,9% del ventrículo izquierdo), moderados (20-39,9%) y grandes ($\geq 40\%$), las tasas de mortalidad quedaron alrededor del 50%, el 75% y el 85%, respectivamente¹⁴.

Aspectos relacionados con el tamaño del infarto

Uno de los aspectos más relevantes de este modelo está relacionado con el tamaño del infarto. Se acepta que este parámetro resultante de la oclusión coronaria, en su porción proximal, no sea uniforme, variando desde el 4% hasta el 65%¹². Este hecho es consecuencia de la incapacidad de secluir la coronaria exactamente en el mismo punto, en todos los animales y de eventuales variaciones anatómicas entre ellos. Así, este modelo no es adecuado para la verificación de efecto reductor de tamaño del infarto mediante diferentes intervenciones, ya que eventuales diferencias en el tamaño del infarto pueden ser inherentes a la variabilidad del método. En consecuencia, se recomienda primero el análisis del área de riesgo comprometida por la unión de la arteria coronaria en determinado punto, por medio de la inyección de colorantes. Posteriormente, partiendo desde el área de riesgo, se puede verificar el tamaño del área infartada final^{15,16}.

Otro factor a tenerse en cuenta es el local de oclusión de la arteria coronaria. Cuando ocurre oclusión muy próxima al origen, hay el compromiso de la arteria septal y el tamaño del infarto puede ser mayor que el 65%. En ese caso, sin embargo, la mortalidad de los animales es del 100%^{12,14}.

Otra característica relevante es que, en este modelo de IAM experimental, el porcentaje del infarto en el ápice es mayor que en la base del ventrículo izquierdo. Por este motivo, el método más empleado para la determinación del tamaño del infarto es el que utiliza diversos cortes transversales. El promedio de todos los cortes determina el tamaño del infarto. Distintos autores, sin embargo, observaron que el corte transversal medial del ventrículo izquierdo, entre 5 y 6 mm desde el ápice, refleja el tamaño del infarto de todo el ventrículo izquierdo^{17,18}. Así, la utilización solamente de esta región simplificaría la determinación del tamaño del infarto.

Respecto a los métodos utilizados para la determinación del tamaño del infarto, esta variable viene siendo evaluada, preferencialmente, mediante 4 diferentes métodos:

- 1) determinación del área infartada en cuanto al área del ventrículo izquierdo, determinada por histología o por planimetría;
- 2) histología con la determinación del perímetro interno de la región infartada con relación al perímetro total de la cavidad;
- 3) histología con la determinación de las circunferencias epicárdicas y endocárdicas de los segmentos infartados y no infartados y
- 4) ecocardiograma con la determinación del perímetro interno de la región infartada en cuanto al perímetro total de la cavidad.

El método más recomendado para que se determine el

tamaño del infarto es la determinación de las circunferencias epicárdicas y endocárdicas de los segmentos infartados y no infartados (Figura 2)^{12,14,19}. La limitación potencial al empleo de diferentes técnicas es que, como ya se ha mencionado, el tamaño del infarto puede variar dependiendo del método utilizado.

En cuanto a la determinación del tamaño del infarto por el área, debemos tener en cuenta que, tras el infarto ocurren alteraciones dinámicas tanto en el segmento infartado como en la región no infartada. En la región infartada, el tejido fibroso de cicatrización sustituye el tejido necrótico. En las fases más tardías del proceso de cicatrización, ocurre contracción del área fibrótica⁸. Por otra parte, en el área no infartada del ventrículo izquierdo ocurren diferentes grados de hipertrofia cardiaca, como la adaptación a la pérdida de los dos miocitos. A causa de estas alteraciones, la determinación del tamaño del infarto por volumen o área puede resultar en error, ya que la reabsorción y la retracción del área infartada, más la hipertrofia del área no infartada, pueden resultar en subestimación del tamaño del infarto en relación con el área infartada original^{12,14,20}.

Otro método utilizado para la determinación del tamaño del infarto es la medida del perímetro interno del segmento infartado, con relación al perímetro total de la cavidad ventricular. Este análisis se puede llevar a cabo a través de dos métodos: el ecocardiograma y la histología. Sin embargo, a ejemplo de la estimación por área, estos métodos pueden presentar importantes limitaciones. Simultáneamente a la necrosis de las miofibrillas, hay desintegración del colágeno interfibrilar por la activación de enzimas proteolíticas. Ese hecho ocasiona pérdida del tejido de sustentación, lo que convierte la región en algo más distensible y, consecuentemente, más susceptible a las deformaciones. Así, puede ocurrir deslizamiento de áreas musculares necróticas, con realineamiento de los miocitos en la pared infartada. Como resultado, hay medición de la región y dilatación del segmento infartado. Esta dilatación aguda, caracterizada por adelgazamiento y distensión de la región infartada se denomina expansión del infarto²¹⁻²³. Por lo tanto, como consecuencia de la expansión, la determinación del tamaño del infarto por los perímetros internos puede superestimar el tamaño del IAM²⁰.

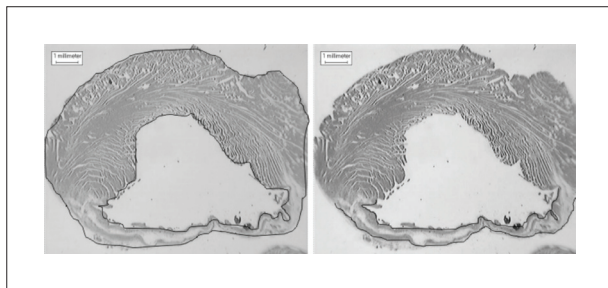


Figura 2- Evaluación del tamaño del infarto por medio de la determinación de las circunferencias epicárdicas y endocárdicas de los segmentos infartados (derecha) en relación con las circunferencias epicárdicas y endocárdicas totales del ventrículo izquierdo (izquierda).

Características morfológicas

En cuanto a las características anatómicas del corazón del ratón, la arteria coronaria izquierda se origina entre el borde del atrio izquierdo y el surco de la arteria pulmonar. Adicionalmente, se pudo verificar que la arteria coronaria izquierda en su porción proximal, es usualmente intramiocárdica, retornando a la superficie epicárdica a aproximadamente 3 a 4 mm de su origen⁴. El ratón no tiene arteria circunfleja verdadera⁶. La porción proximal de la arteria coronaria izquierda, prácticamente en el ostio, origina la rama septal y, más abajo, la rama correspondiente a la circunfleja¹⁷. Esta característica anatómica asegura que la rama septal tenga origen arriba del local donde se realiza la oclusión coronaria. Así, este modelo se caracteriza por presentar infarto de la pared libre del ventrículo izquierdo, sin el compromiso del septo interventricular. Consecuentemente, se utiliza esta región como control para estudios morfológicos y bioquímicos¹⁷.

Otra característica anatómica de este modelo es que el ratón tiene escasa circulación colateral, a ejemplo del humano. La oclusión coronaria ocasiona, de esta forma, infartos invariablemente transmurales, volviendo los infartos subendocárdicos evento raro, rondando el 3%²⁴.

Otro aspecto pertinente de este modelo está relacionado con el compromiso del papilar. A diferencia del modelo del perro, en el que la oclusión coronaria conlleva la necrosis del músculo papilar en el 85% de los casos, el modelo de infarto en el ratón se caracteriza por la preservación del músculo papilar posterior. El análisis histológico reveló que, en el ratón, la oclusión coronaria no resultó en compromiso, o lleva el compromiso mínimo, de este músculo. La explicación para este fenómeno es que la irrigación del músculo papilar posterior se hace por la rama septal de la arteria coronaria izquierda que, como discutido anteriormente, no se afecta por la oclusión coronaria¹⁷.

Respecto a las características de la cicatrización tras la oclusión coronaria, el modelo del ratón también revela peculiaridades²⁵⁻³¹. La activación de metaloproteasas (MMP), enzimas proteolíticas responsables de la degradación del colágeno, se identificó tras 1 hora de la oclusión coronaria²⁸. Inicialmente, la MMP-1 degrada el colágeno fibrilar y posteriormente, las MMP-2, MMP-3 y MMP-9 degradan estos fragmentos²⁶. Un estudio previo sugiere que, 3 horas después de la oclusión coronaria, cerca de un 50% del colágeno ya haya sido degradado²⁸. Esta actividad proteolítica se detiene tras una semana del infarto²⁷. Concomitantemente a la actividad proteolítica, otras alteraciones se identificaron. Con 24 horas, la necrosis muscular se vuelve evidente, seguida inicialmente por infiltración neutrofílica y, posteriormente, por infiltrado linfocítico y monocítico³⁰. Tras de 3 a 4 días de la oclusión coronaria, se inicia la acumulación de células semejantes a los fibroblastos, y con actina en su composición, los miofibroblastos. Se acepta que los miofibroblastos sean fibroblastos modificados por el TGF- β secretado por los monocitos y responsables de la síntesis de colágeno I e III, que empieza a acumularse en la región periférica del infarto en el tercer día y se convierte en algo bien organizado tras

14 días del IAM. El proceso de cicatrización estaría completo tras 21 días de la oclusión coronaria²⁵⁻³¹.

Otro aspecto que se debe tener en cuenta es que, en animales con grandes infartos, las áreas no infartadas del ventrículo izquierdo y del ventrículo derecho exhiben aumento de la expresión de mRNA para precolágeno tipo I e III, iniciándose entre los días 4 y 7 tras el IAM pudiendo resultar en acumulación de colágeno progresiva. De este modo, grandes infartos frecuentemente se siguieron de diferentes grados de fibrosis en las áreas no infartadas²⁶.

Una de las principales características del infarto de miocardio está relacionada al hecho de que la pérdida de tejido contráctil desencadena un proceso adaptativo de crecimiento celular del tejido no infartado³²⁻³⁷. En el modelo del ratón, la hipertrofia del ventrículo izquierdo se caracteriza por ser de estándar excéntrico, es evento precoz y se puede detectar en el tercer día tras la oclusión coronaria. Después de tres a cuatro semanas, el grado de hipertrofia aumenta entre el 30% y el 60%. En el ventrículo derecho, también puede ocurrir hipertrofia característicamente de estándar concéntrico y correlacionada a elevaciones de la presión diastólica final del ventrículo izquierdo y de la presión sistólica ventricular derecha¹². Sin embargo, de forma semejante al que ocurre en el ventrículo infartado, la hipertrofia del ventrículo derecho está presente en el tercer día y alcanza el porcentaje del 30%, al final de un mes^{38,39}.

Finalmente, a ejemplo de lo que ocurre en la región infartada, la región no infartada, principalmente la que separa el tejido infartado del tejido no comprometido, también pueden ser blanco de la activación de las MMP. Como consecuencia, haces de miocitos viables pueden sufrir proceso de desplazamiento y realineamiento muscular (*side-to-side slipage*)⁴⁰.

Así, consecuentemente al proceso de expansión, de hipertrofia ventricular (de característica excéntrica) y del desplazamiento celular en la región limitrofe con el infarto, la cavidad infartada puede aumentar de diámetro y perder su geometría elíptica normal, asumiendo una configuración esférica. Dichos cambios en el tamaño, masa y geometría ventricular caracterizan, clínicamente, el proceso de remodelación cardíaca tras el infarto⁴¹⁻⁴⁷.

Características funcionales

Las consecuencias hemodinámicas resultantes de la oclusión coronaria en el ratón ya están bien documentadas. En diferentes estudios, se verificó que el infarto ocasiona baja de diversas variables funcionales como: volumen sistólico, gasto cardíaco, presión sistólica del ventrículo izquierdo, primera derivada positiva de presión y derivada negativa de presión. Paralelamente, ocurre aumento de la presión diastólica final del ventrículo izquierdo y de la constante de tiempo de descenso de la presión isovolumétrica. El infarto viene acompañado, por lo tanto, de disfunción tanto sistólica como diastólica, que ya se identifican 3 horas tras la oclusión coronaria^{12,48-51}.

En cuanto a los mecanismos implicados en la disfunción ventricular, hay evidencias de que hasta las primeras tres semanas tras grandes infartos, la función del músculo no infartado es normal, pese a que está deprimida la función

de la cámara³⁷. Por otro lado, con seis semanas, la función muscular está deprimida⁵². Así, estas evidencias sugieren que, inicialmente, la disfunción ventricular es consecuencia de la pérdida de tejido contráctil, secundaria al infarto. Crónicamente, sin embargo, el músculo remaneciente se vuelve disfuncional, probablemente en consecuencia del proceso de remodelación postinfarto.

Una de las principales características de este modelo es que las alteraciones funcionales guardan una estrecha relación con el tamaño del infarto. De esa manera, los ratones con infartos menores que el 30% no presentaron anomalías hemodinámicas. Animales con infartos moderados (31-46%) tuvieron valores hemodinámicos basales normales, y reducida capacidad de generar presión. Por otra parte, los ratones con infartos grandes (>46%) presentaron insuficiencia cardíaca, con elevadas presiones de llenado y reducción del débito cardíaco¹². Por lo tanto, ese modelo propicia el estudio de diferentes grados de disfunción ventricular.

Finalmente, el modelo de infarto experimental en el ratón también permite la evaluación de la función ventricular derecha. Así, en estudio previo, en el que se utilizó una preparación de corazón aislado, perfundido por solución nutriente, se identificó disminución de la presión sistólica, que se correlacionaba, de forma lineal, al aumento de la masa ventricular derecha⁵³.

Evaluación morfológica, funcional y clínica de insuficiencia cardíaca

Para la evaluación de hipertrofia, en distintos modelos de agresión cardíaca, comúnmente se utiliza la relación entre el peso del ventrículo izquierdo ajustado por el peso corporal del animal o por la tibia. En el modelo del infarto, sin embargo, la compleja interacción de eventos tales como la reabsorción del tejido necrótico y la cantidad de colágeno de la cicatriz puede interferir con el peso del ventrículo infartado de modo a no reflejar real crecimiento celular. De este modo, la utilización del diámetro transversal del miocito es preferible para la evaluación del grado de hipertrofia del ventrículo izquierdo, en este modelo⁵⁴. Por otro lado, para la determinación de la hipertrofia del ventrículo derecho, relaciones con el peso corporal se pueden utilizar⁵⁵.

Para la evaluación de la cantidad de colágeno del tejido no infartado, los métodos más usualmente utilizados son: determinación de la hidroxiprolina⁵⁶, fracción de colágeno intersticial⁵⁷ y detección de colágeno I e III²⁶, por medio del análisis del RNA o de anticuerpos anti colágeno I e III. Un dato importante es que a pesar de que sea un método indirecto, se pudo verificar una estrecha correlación entre el método bioquímico y la cantidad de colágeno analizada por morfometría^{58,59}.

Para la evaluación funcional, diversos métodos están disponibles: análisis mediante músculo papilar⁶⁰, corazón aislado^{61,62} y evaluación hemodinámica invasiva^{12,63}. En los últimos años, además, el ecocardiograma viene ganando espacio en la evaluación morfológica y funcional de ratones infartados. Hay innumerables variables funcionales que se pueden utilizar, y las más frecuentes son: fracción de variación

de área, fracción de acortamiento, gasto cardiaco, scores de movimiento de la pared infartada, flujo transmitral e índice de performance miocárdico^{51,64-67}.

Hay diversas variables clínicas que se pueden utilizar para el diagnóstico de insuficiencia cardiaca en este modelo, de ellas se puede destacar: apariencia general de lentitud de movimientos, alteraciones en el pelaje, retardo de crecimiento, peso corporal y disnea. Estas variables, sin embargo, pueden ser poco sensibles para el diagnóstico de congestión o de bajo débito cardiaco¹². Los trabajos pioneros para la detección clínica de los signos de insuficiencia cardiaca en ratones se llevaron a cabo por Bing et al, que estudiaron ratones espontáneamente hipertensos con disfunción cardiaca⁶⁸⁻⁷⁰. Los datos sobre la incidencia de insuficiencia cardiaca postinfarto y la posibilidad de su reconocimiento clínico en ratones, no obstante, son escasos. Recientemente, al emplear el modelo de ratones con infartos moderados y grandes, se pudo verificar que la prevalencia de señales clínicas y anátomo-patológicas de insuficiencia cardiaca fue: taquinea el 46%, congestión hepática el 21%, trombo en atrio izquierdo el 21%, ascitis el 25%, derramen pleuropericárdico el 71% y presencia de hipertrofia del ventrículo derecho el 100%⁷¹.

Implicaciones

La primera implicación de este modelo está relacionada al hecho de que, por resultar frecuentemente en grandes infartos transmurales, ubicados en la pared anterior, el modelo de infarto en el ratón es ideal para el estudio de la fisiopatología de la remodelación postinfarto, ya que estas variables son las grandes determinantes de la presencia e intensidad del proceso de remodelación⁴¹⁻⁴⁷.

Otra implicación es la similitud con las alteraciones fisiopatológicas que ocurren tras el infarto, en humanos⁵². Por esta razón, este modelo es ideal para el estudio de intervenciones terapéuticas para minimizar las alteraciones morfológicas y funcionales que pueden ocurrir tras el infarto. Así, muchas de las intervenciones utilizadas en pacientes con infarto se analizaron inicialmente en el modelo del ratón como, por ejemplo: inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina^{14,41}, antagonistas de los receptores de la angiotensina II⁷², antagonistas de la aldosterona⁷³ y betabloqueantes⁷⁴.

Teniendo en cuenta lo expuesto, el modelo del infarto experimental en ratones viene siendo muy utilizado para el estudio de las repercusiones que ocurren tras la oclusión coronaria. Debido a las particularidades inherentes al animal, nos parece que la discusión de los principales aspectos de este modelo sea extremadamente útil para aquellos que se dedican al estudio del infarto agudo de miocardio.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

Vinculación Académica

No hay vinculación de este estudio a programas de postgrado.

Referencias

1. Braunwald E. Evolution of the management of acute myocardial infarction: a 20th century saga. *Lancet*. 1998; 352: 1771-4.
2. Antman EM, Hand M, Armstrong PW, Bates ER, Creen LA, Halasyamani LK, et al. 2007 focused update of the ACC/AHA 2004 guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circulation*. 2008; 117: 296-329.
3. Heimbürger RF. Injection into pericardial sac and ligation of coronary artery of the rat. *Arch Surg*. 1946; 52: 677-89.
4. Johns TNP, Olson BJ. Experimental myocardial infarction: I. Method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg*. 1954; 140: 675-82.
5. Kaufman N, Gavan TL, Hill RW. Experimental myocardial infarction in the rat. *Arch Pathol Lab Med*. 1959; 67: 482-8.
6. Selye H, Bajusz E, Grassos S, Mendell P. Simple techniques for the surgery occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology*. 1960; 11: 398-407.
7. Spadaro J, Hashimoto LM, Franco RSS, Bregagnollo EA, Tucci PJF. Efeitos da administração prévia de amiodarona na incidência precoce de fibrilação ventricular durante isquemia miocárdica experimental. *Arq Bras Cardiol*. 1984; 42: 25-9.
8. Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat. *Am J Pathol*. 1978; 90: 57-70.
9. Klocke R, Tian W, Kuhlmann MT, Nikol S. Surgical animal models of heart failure related to coronary heart disease. *Cardiovasc Res*. 2007; 74: 29-38.
10. Litwin SE. The rat model of postinfarction heart failure. *Heart Fail*. 1995; 11: 182-95.
11. Jain M, Liao R, Podesser BK, Ngoy S, Apstein CS, Eberli FR. Influence of gender on the response to hemodynamic overload after myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002; 283: H2544-50.
12. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res*. 1979; 44:503-12.
13. Opitz CF, Mitchell GF, Pfeffer MA, Pfeffer JM. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat: continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats. *Circulation*. 1995; 92: 253-61.
14. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steimberg BS, Finn P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation*. 1985; 72: 406-12.
15. Li Y, Kloner RA. Is there a gender difference in infarct size and arrhythmias following experimental coronary occlusion and reperfusion? *J Thromb Thrombolysis*. 1995; 2: 221-5.
16. Moens AL, Champion HC, Claeys MJ, Tavazzi B, Kaminski P, Wolin M, et al. High-dose folic acid pretreatment blunts cardiac dysfunction during ischemia coupled to maintenance of high-energy phosphates and reduces postreperfusion injury. *Circulation*. 2008; 117: 1810-9.

17. Spadaro J, Fishbein MC, Hare C, Pfeffer MA, Maroko PR. Characterization of myocardial infarcts in the rat. *Arch Pathol Lab Med.* 1980; 104: 179-83.
18. Oh B-H, Ono S, Rockman HR, Ross J Jr. Myocardial hypertrophy in the ischemic zone induced by exercise in rats after coronary reperfusion. *Circulation.* 1993; 87: 598-607.
19. Maclean D, Fishbein MC, Maroko PR, Braunwals E. Hyaluronidase-induced reduction in myocardial infarction size. *Science.* 1976; 194: 199-200.
20. Minicucci MF, Azevedo OS, Duarte DR, Matsubara BB, Matsubara AO, Campana AO, et al. Comparison of different methods to measure experimental chronic infarction size in the rat model. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 89: 83-7.
21. Hockman JS, Bulkley BH. Expansion of acute myocardial infarction: an experimental study. *Circulation.* 1982; 65: 1446-50.
22. Matsubara BB, Zornoff LAM. Matriz colágena intersticial e sua relação com a expansão miocárdica no infarto agudo. *Arq Bras Cardiol.* 1995; 64: 559-63.
23. Hutchins GM, Bulkley BH. Infarction expansion vs extension: two different complications of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 1978; 73: 843-9.
24. Cooper CJ, Pfeffer JM, Finn PV, Pfeffer MA. Characteristics of a model of myocardial infarction produced by coronary artery ligation in the rat. *Cardiovasc Pathol.* 1995; 4: 189-94.
25. Ertl G, Frantz S. Healing after myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2005; 66: 22-32.
26. Sun Y, Weber KT. Infarct scar: a dynamic process. *Cardiovasc Res.* 2000; 46: 250-6.
27. Sun Y, Kiani MF, Postlethwaite AE, Weber KT. Infarct scar as living tissue. *Bas Res Cardiol.* 2002; 97: 343-7.
28. Holmes JW, Borg TK, Cowell JW. Structure and mechanics of healing myocardial infarction. *Ann Rev Biomed Eng.* 2005; 7: 223-53.
29. Whittaker P. Unravelling the mysteries of collagen and cicatriz after myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 1995; 29: 758-62.
30. Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. The histopathologic evolution of myocardial infarction. *Chest.* 1978; 73: 843-9.
31. Jugdutt BI. Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix: when is enough enough? *Circulation.* 2003; 108: 1395-403.
32. Olivetti G, Capasso JM, Meggs LG, Sonnenblich EH, Anversa P. Cellular basis of chronic ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Circ Res.* 1991; 68: 856-69.
33. Rubin SA, Fishbein MC, Swan HJC. Compensatory hypertrophy in the heart after myocardial infarction in the rat. *J Am Coll Cardiol.* 1983; 6: 1435-41.
34. Capasso JM, Li Peng, Zhang X, Anversa P. Heterogeneity of ventricular remodeling after acute myocardial infarction in rats. *Am J Physiol.* 1992; 262: H486-95.
35. Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G. Left ventricular failure induced by myocardial infarction. I. Myocyte hypertrophy. *Am J Physiol.* 1985; 248: H876-82.
36. Anversa P, Olivetti G, Capasso JM. Cellular basis of ventricular remodeling after myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 1991; 68: D7-16.
37. Bing OH, Brooks WW, Conrad CH, Weinstein KB, Spadaro J, Radvany P. Myocardial mechanics of infarcted and hypertrophied non-infarcted myocardium following experimental coronary artery occlusion. *International Erwin Riesch Symposium. Tuebingen, Germany. Stein-Kopf Darmstadt.* 1983. p. 235-44.
38. Spadaro J, Cicogna AC, Tucci PJF, Cury PR, Montenegro MR. Morphometric evaluation of the time course of right ventricular hypertrophy after left coronary artery ligation in rats. *Braz J Med Biol Res.* 1989; 22: 517-22.
39. Anversa P, Sonnenblich EH. Isquemic cardiomyopathy: pathophysiologic mechanisms. *Prog Cardiovasc Dis.* 1990; 33: 49-70.
40. Olivetti G, Capasso JM, Sonnenblich EH, Anversa P. Side-to-side slippage of myocytes participates in ventricular wall remodeling acutely after myocardial infarction in rats. *Circ Res.* 1990; 67: 23-34.
41. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res.* 1985; 57: 84-95.
42. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation.* 1990; 81: 1161-72.
43. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 35: 569-82.
44. Zornoff LAM, Spadaro J. Remodelação ventricular após infarto agudo do miocárdio: conceitos, fisiopatologia e abordagem terapêutica. *Arq Bras Cardiol.* 1997; 68: 453-60.
45. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev.* 1999; 79: 215-62.
46. Udelson JE, Patten RD, Konstam MA. New concepts in post-infarction ventricular remodeling. *Rev Cardiovasc Med.* 2003; 4 (Suppl 3): S3-12.
47. Tiyyagura SR, Pinney S. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: past, present, and future. *Mt Sinai J Med.* 2006; 73: 840-51.
48. Fletcher PJ, Pfeffer JA, Pfeffer MA, Braunwald E. Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction: effects on systolic function. *Circ Res.* 1981; 49: 618-26.
49. Raya TE, Gay RG, Lancaster L, Aguirre M, Moffett C, Goldman S. Serial changes in left ventricular relaxation and chamber stiffness after large myocardial infarction in rats. *Circulation.* 1988; 77: 1424-31.
50. Litwin SE, Raya TE, Anderson PG, Litwin CM, Bressler R, Goldman S. Induction of myocardial hypertrophy after coronary ligation in rats decreases ventricular dilation and improves systolic function. *Circulation.* 1991; 84: 1819-27.
51. Litwin SE, Katz SE, Morgan JP, Douglas FS. Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. *Circulation.* 1994; 89: 345-54.
52. Goldman S, Raya TE. Rat infarct model of myocardial infarction and heart failure. *J Card Fail.* 1995; 1: 169-77.
53. Stefanon I, Martins MA, Vassallo DV, Mill JG. Analysis of right and left ventricular performance of the rat heart with chronic myocardial infarction. *Braz J Med Biol Res.* 1994; 27: 2667-79.
54. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS, Campana AO, et al. Cigarette smoke exposure intensifies ventricular remodeling process following myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol.* 2006; 86: 276-82.
55. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Paiva SAR, Spadaro J. Early rather than delayed administration of lisinopril protects the heart after myocardial infarction in rats. *Basic Res Cardiol.* 2000; 95: 208-14.
56. Mill JG, Milanez MC, Busatto VC, Moraes AC, Gomes MG. Ativação da enzima conversora da angiotensina no coração após infarto do miocárdio e suas repercussões no remodelamento ventricular. *Arq Bras Cardiol.* 1997; 69: 101-10.
57. Zornoff LAM, Duarte DR, Minicucci MF, Azevedo PS, Matsubara BB, Matsubara LS, et al. Effects of beta-carotene and smoking on heart remodeling after myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 89: 135-41.
58. Nicoletti A, Heudes D, Hinglais N, Appay MD, Philippe M, Sassy-Prigent C, et al. Left ventricular fibrosis in renovascular hypertensive rats: effect of losartan and spironolactone. *Hypertension.* 1995; 26: 101-11.
59. Weber KT, Janicki JS, Shroff SG, Pick R, Chen RM, Bashey RI. Collagen remodeling of the pressure-overload, hypertrophied nonhuman primate myocardium. *Circ Res.* 1988; 62: 757-65.
60. Mill JG, Zornoff LAM, Okoshi MP, Okoshi K, Padovani CR, Sugizaki MM, et al. The early administration of growth hormone results in deleterious effects on ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol.* 2005; 84: 115-21.
61. Zornoff LA, Paiva SA, Matsubara BB, Matsubara LS, Spadaro J. Combination therapy with angiotensin converting enzyme inhibition and AT1 receptor

- inhibitor on ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2000; 5: 203-9.
62. Paiva SAR, Matsubara LS, Matsubara BB, Minicucci MF, Azevedo PS, Campana AO. **Retinoic acid supplementation attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction in rats.** *J Nutr.* 2005; 135: 2326-8.
63. deFelice A, Frering R, Horan P. Time course of hemodynamic changes in rats with healed severe myocardial infarction. *Am J Physiol.* 1989; 257: H289-96.
64. Solomon SD, Greaves SC, Ryan M, Finn P, Pfeffer MA, Pfeffer JM. Temporal dissociation of left ventricular function and remodeling following experimental myocardial infarction in rats. *J Card Fail.* 1999; 5: 213-23.
65. 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: H2049-53.
66. Staastad I, Sejersted OM, Ilebekk A, Bjornerheim R. Echocardiographic criteria for detecting of postinfarction congestive heart failure in rats. *J Appl Physiol.* 2000; 89: 1445-54.
67. Saraiva RM, Kanashiro-Takeuchi RM, Antonio EL, Campos O, Tucci PJ, Moisés VA. Rats with high left ventricular end-diastolic pressure can be identified by Doppler echocardiography one week after myocardial infarction. *Braz J Med Biol Res.* 2007; 40: 1557-65.
68. Bing OHL, Brooks WW, Robinson KG, Slawsky MT, Hayes JA, Litwin SE, et al. The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. *J Mol Cell Cardiol.* 1995; 27: 383-96.
69. Conrad CH, Brooks WW, Hayes JA, Sen S, Robinson KG, Bing OHL. Myocardial fibrosis and stiffness with hypertrophy and heart failure in the spontaneously hypertensive rat. *Circulation.* 1995; 91: 161-70.
70. Brooks WW, Bing OHL, Robinson KG, Slawsky MT, Chaletsky DM, Conrad CH. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on myocardial fibrosis and function in hypertrophied and failing myocardium from the spontaneously hypertensive rat. *Circulation.* 1997; 96: 4002-10.
71. Martinez PF, Zornoff LAM, Campos DHS, Oliveira Jr AS, Damato RL, Gosuen G, et al. Caracterização clínica e anátomo-patológica da insuficiência cardíaca induzida por infarto do miocárdio em ratos. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 88 (supl): 14.
72. Zornoff LAM, Matsubara LS, Matsubara BB, Paiva SAR, Spadaro J. Effects of losartan on ventricular remodeling in experimental infarction in rats. *Arq Bras Cardiol.* 2000; 75: 459-70.
73. Mill JG, Milanez MC, Resende MM, Gomes MG, Leite CM. Spironolactone prevents cardiac collagen proliferation after myocardial infarction in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2003; 30: 739-44.
74. Fishbein MC, Li-Quan L, Rubin S. Long-term propranolol administration alters myocyte and ventricular geometry in rat hearts with and without infarction. *Circulation.* 1988; 78: 369-75.