

A Ecocardiografia no Laboratório Cardiovascular: Um Guia para a Pesquisa com Animais

The Echocardiography in the Cardiovascular Laboratory: A Guide to Research with Animals

Maria Cristina Donadio Abduch, Renato Samy Assad, Wilson Mathias Jr., Vera Demarchi Aiello

Instituto do Coração, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP - Brasil

Resumo

A exequibilidade e o potencial para investigar o coração, sob o ponto de vista morfológico e hemodinâmico, vêm aumentando a aplicação da ecocardiografia na pesquisa. Além disso, o desenvolvimento de novas tecnologias, tais como a ecocardiografia tridimensional em tempo real e o speckle tracking, requerem validação por meio de estudos experimentais antes de serem instituídas no cenário clínico.

O presente artigo objetiva fornecer informações acerca das particularidades do estudo ecocardiográfico nos mamíferos quadrúpedes, com vistas à pesquisa experimental.

Introdução

Devido ao baixo custo, à característica não invasiva, à portabilidade e ao potencial para investigar o coração sob o ponto de vista morfológico e hemodinâmico, a ecocardiografia vem ocupando um papel importante na pesquisa experimental e clínica¹.

O médico sueco Inge Edler, considerado o “Pai da Ecocardiografia”, foi o primeiro a utilizar esse método em pesquisa experimental. No início dos anos 1950, Edler demonstrou, em corações de bezerros, que os sinais ecocardiográficos que se acreditava serem provenientes da parede anterior do Átrio Esquerdo (AE) eram, na verdade, oriundos da cúspide anterior da Valva Mitral (VM)². Desde então, um número crescente de estudos experimentais envolvendo a ecocardiografia vem sendo publicados.

Recentemente, a Ecocardiografia 3D em Tempo Real (E3DTR), o Doppler Tecidual (TDI) e o Speckle Tracking (STE) representam ferramentas tecnológicas inovadoras no diagnóstico precoce de dissincronia e de disfunção cardíaca

Palavras-chave

Ecocardiografia/diagnóstico; Ecocardiografia/tendências; Experimentação Animal; Coração/fisiopatologia.

Correspondência: Maria Cristina Donadio Abduch •
Praça Guido Cagnacci, 05, Vila Madalena. CEP 05444-060, São Paulo, SP - Brasil
E-mail: cristinaabduch@cardiol.br, abduchmc@gmail.com
Artigo recebido em 02/04/13; revisado em 24/07/13; aceito em 29/07/13.

DOI: 10.5935/abc.20130239

diastólica e sistólica, trazendo à luz do conhecimento científico novas aplicações clínicas^{3,4}. Apesar de a ressonância magnética cardíaca ser atualmente considerada o método de referência para o cálculo dos volumes e da fração de ejeção ventricular, inúmeros parâmetros ecocardiográficos podem fornecer, na rotina clínica, informações acuradas das dimensões e dos volumes ventriculares, além da função miocárdica.

O presente artigo tem por objetivo fazer uma revisão dos aspectos técnicos da ecocardiografia no laboratório experimental, considerando suas vantagens e suas limitações, de acordo com a espécie animal.

Planos da ecocardiografia transtorácica e modelo animal

Atualmente, a investigação pela Ecocardiografia Transtorácica (ETT) nos animais empregados em pesquisa experimental é favorecida pelo desenvolvimento tecnológico dos equipamentos; entretanto, são essenciais a escolha do transdutor com frequência adequada e o conhecimento das particularidades dos mamíferos quadrúpedes.

De acordo com os princípios físicos, transdutores com baixa frequência (2,0 a 3,5 MHz) apresentam menor resolução da imagem. No entanto, a penetração do feixe de eco é maior, o que permite seu uso em animais com superfície corpórea elevada⁵. Inversamente, sondas com alta frequência (4,0 a 8,0 MHz) não têm grande penetração, porém fornecem imagem com maior resolução, sendo mais apropriadas para o uso em animais menores e/ou mais jovens⁶⁻⁸. Considerando coelhos e pequenos roedores (ratos, camundongos e cobaias), para se obter resolução satisfatória da imagem é necessário o uso de transdutores com frequências maiores (10,0 a 15,0 MHz), em razão do tamanho reduzido desses animais^{9,10}. Assim, uma vez que a frequência do transdutor é inversamente proporcional à penetração do feixe de ultrassom, quanto menor o mamífero, maior a frequência da sonda.

Os mamíferos quadrúpedes apresentam o coração localizado na porção média da caixa torácica, com o ápice voltado para a esquerda; o tórax geralmente apresenta formato em quilha, o que permite a obtenção de imagens a partir de ambos os hemitórax – esquerdo e direito – conforme mostrado abaixo.

Com o intuito de adquirir imagens com ótima qualidade técnica, o animal deve ter o tórax tricotomizado, evitando a presença de ar entre o transdutor e a superfície corpórea, já que isso representa uma barreira para a penetração do feixe de eco. Além disso, a sedação ou a anestesia são cruciais para a acurácia do exame; a eleição da droga apropriada, na dose correta para



Figura 1 - Maca customizada para animais com tórax aquilhado, permitindo a obtenção dos planos ecocardiográficos.

cada espécie, e o conhecimento de possíveis alterações no sistema cardiovascular também devem ser considerados¹¹.

O posicionamento varia de acordo com o modelo animal: para cães e porcos, é indicado o decúbito lateral esquerdo; coelhos e pequenos roedores devem ser mantidos em decúbito dorsal; enquanto que os ruminantes necessitam de uma maca customizada, pois apresentam o tórax extremamente aquilhado (Figura 1).

Geralmente, as aquisições das imagens ecocardiográficas são as mesmas que para os humanos, à exceção dos ruminantes, que não apresentam abordagem apical. Por ocupar uma posição medial no tórax, ter o ápice apontando para a esquerda e para o diafragma, o coração dos mamíferos quadrúpedes apresenta algumas peculiaridades. Uma delas é, de fato, uma desvantagem: a impossibilidade da aquisição de imagens de boa qualidade pela janela subcostal, uma vez que o ângulo de incidência não é perpendicular ao coração (entre os ruminantes, isso é exacerbado pela presença dos

pré-estômagos). A outra é a capacidade de se obterem imagens de ambos os lados do tórax.

Segue-se uma descrição das particularidades da abordagem ecocardiográfica, de acordo com o modelo animal. A Tabela 1 oferece um guia resumido relacionado a cada um deles e a Figura 2 mostra a posição do transdutor em relação ao tórax do animal. É importante salientar que, com relação aos valores normais das estruturas cardíacas (diâmetros e volumes), as mesmas variam de acordo com o tamanho e a espécie. No entanto, o ecocardiograma basal é focado na análise da função miocárdica e da performance valvar antes do procedimento experimental, com a finalidade de atestar que o coração dos animais pode ser considerado saudável.

Janela paraesternal esquerda

Possível de ser obtida em cães, porcos, coelhos e pequenos roedores, no terceiro espaço intercostal:

- plano paraesternal longitudinal (Figura 3A): permite visualização do Ventrículo Direito (VD), Ventrículo Esquerdo (VE), Via de Saída do Ventrículo Esquerdo (VSVE), Aorta (Ao) e Valva Aórtica (VAo), VM e AE.

- plano paraesternal transversal: no nível da base, podem-se observar a VAo ao centro, o VD, o Átrio Direito (AD), a Valva Tricúspide (VT) e o AE (Figura 3B). Direcionando a sonda para a cabeça do animal, é possível obter imagens da Via de Saída do Ventrículo Direito (VSVD), da Valva Pulmonar (VP) e do Tronco Pulmonar (TP), sendo que esse último se bifurca nos ramos direito e esquerdo (Figura 3C). O eixo curto, ao nível da VM e dos músculos papilares, geralmente não é bem visualizado nessa abordagem, devido ao posicionamento oblíquo do coração.

- plano longitudinal da via de entrada do VD (Figura 3D).

Janela paraesternal direita

Exequível em todos os modelos animais, no terceiro espaço intercostal. É importante notar que, nos ruminantes, esta é a única abordagem ecocardiográfica transtorácica acurada, proporcionando mensurações que não seriam possíveis pelas janelas convencionais, como no caso do cálculo da massa ventricular direita, segundo o qual o plano longitudinal da via de entrada do VD substitui o plano apical 4-câmaras¹².

Tabela 1 - Guia rápido para o exame ecocardiográfico em pesquisa cardiovascular com animais

Animal	Frequência do transdutor (MHz)	Posição do animal	Principais planos ecocardiográficos	Principais limitações
Roedores pequenos Coelhos	10,0 – 15,0	Decúbito lateral esquerdo	PLAX, eixo curto, apical	Frequência cardíaca elevada
Cabras/ovelhas	2,5 – 3,5 (adultos) 4,0 – 8,0 (jovens)	Decúbito lateral esquerdo Maca personalizada	PLAX, eixo curto	Formato do tórax
Cães	2,5 – 3,5 (adultos) 4,0 – 8,0 (jovens)	Decúbito lateral esquerdo	PLAX, eixo curto, apical	---
Porcos	2,5 – 3,5 (adultos) 4,0 – 8,0 (jovens)	Decúbito lateral esquerdo	PLAX, eixo curto, apical	---

PLAX: corte paraesternal eixo longo.

Artigo de Revisão

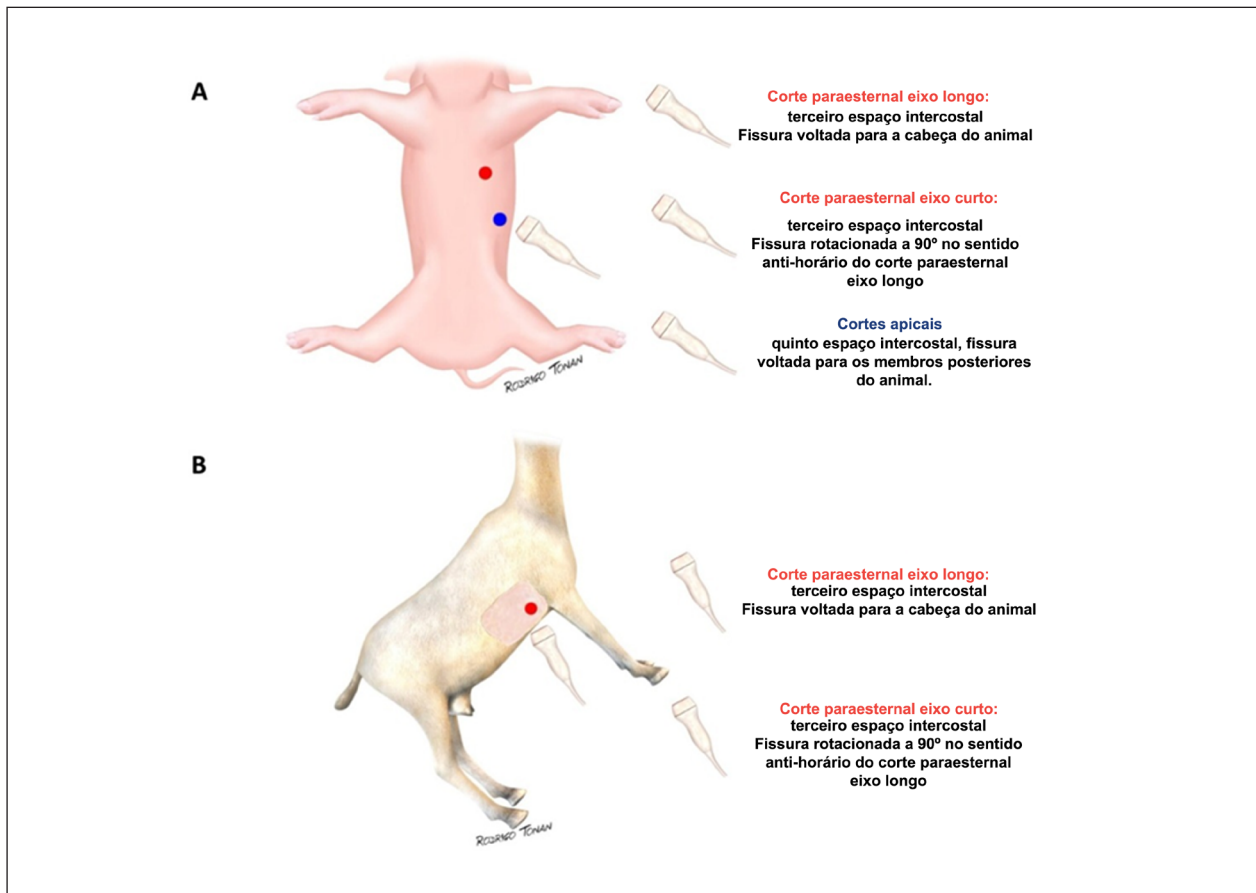


Figura 2 - Posição do transdutor em relação ao tórax do animal na abordagem pelo hemitórax esquerdo (A) e direito (B).

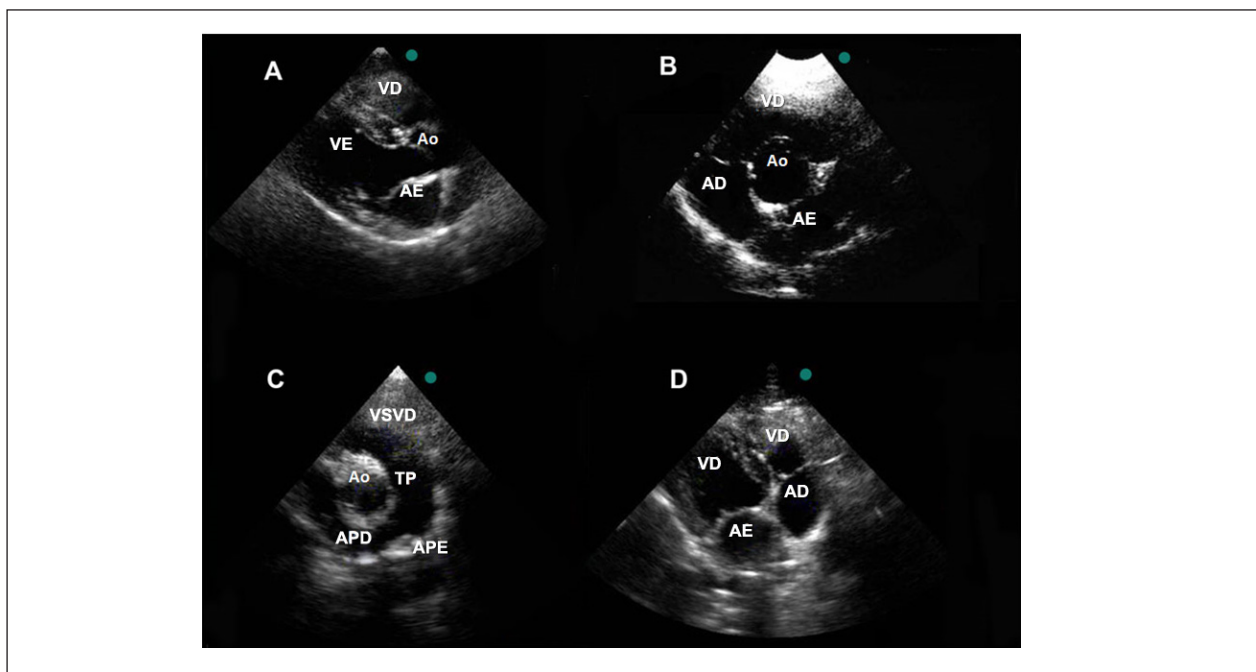


Figura 3 - Planos ecocardiográficos obtidos a partir da janela parasternal esquerda em cão. Plano paraesternal longitudinal(A). Plano parasternal transversal no nível da base (B e C). Plano longitudinal da via de entrada do ventrículo direito (D). VD: ventrículo direito; VE: ventrículo esquerdo; Ao: aorta; AE: átrio esquerdo; AD: átrio direito; TP: tronco pulmonar; APD: artéria pulmonar direita; APE: artéria pulmonar esquerda; VSVD: via de saída do ventrículo direito.

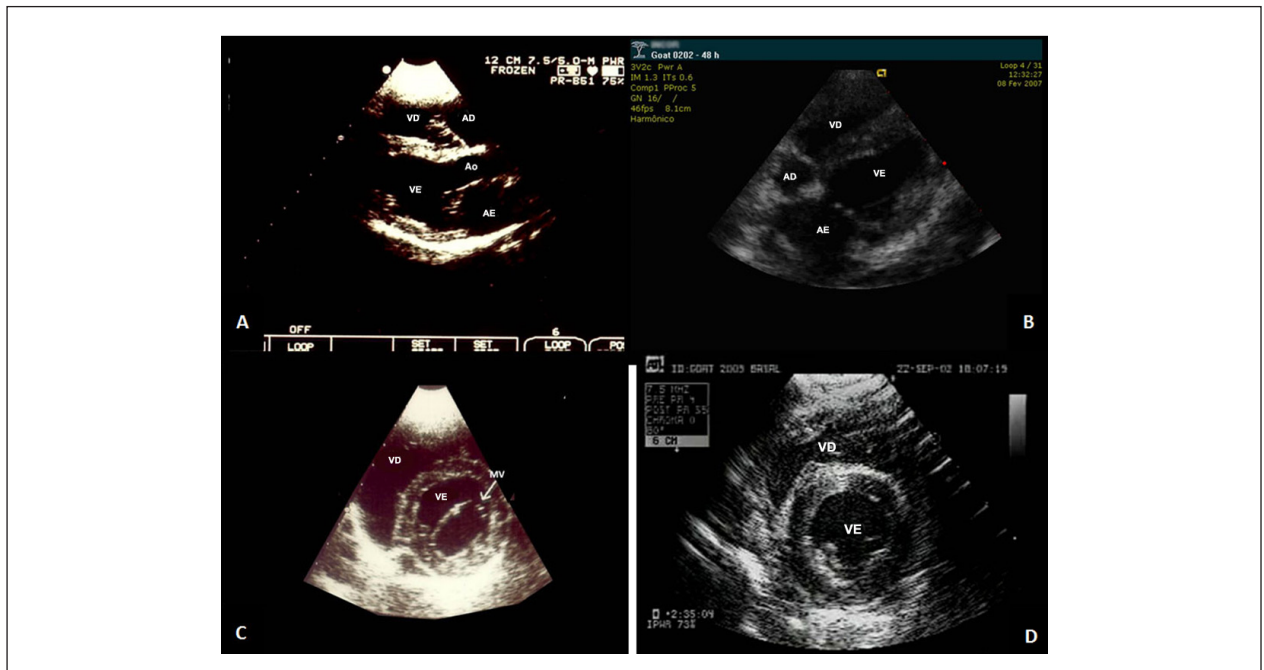


Figura 4 - Planos ecocardiográficos obtidos a partir da janela parasternal direita em cão (A e C) e cabra (B e D). Plano paraesternal longitudinal (A). Plano longitudinal da via de entrada dos ventrículos esquerdo e direito (B). Plano paraesternal transversal no nível da base (C) e dos músculos papilares (D). MV: valva mitral; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; Ao: aorta; AE: âtrio esquerdo; AD: âtrio direito.

No plano paraesternal longitudinal (Figura 4A), é possível visibilizar as mesmas estruturas abordadas no plano paraesternal longitudinal esquerdo (Ao, AE, VE e VD), além do AD.

O plano longitudinal da via de entrada dos ventrículos esquerdo e direito (Figura 4B) pode ser usado como substituto para o plano apical; entretanto, deve-se ter cuidado no que tange ao ápice verdadeiro, o qual não pode ser avaliado por essa abordagem.

O plano parasternal transversal é obtido nos níveis da base, VM (Figura 4C) e músculos papilares (Figura 4D), dirigindo o transdutor da posição mais anterior em relação ao coração (regiões basais, à semelhança do plano paraesternal transversal esquerdo, Figura 3B), passando pelo nível da VM, até chegar a uma posição mais posterior, na altura dos músculos papilares (com o transdutor voltado para os membros posteriores do animal).

Janela apical

Possível de ser obtida em cães, porcos, coelhos e pequenos roedores, no quinto espaço intercostal do hemitórax esquerdo, na região do *ictus cordis* (Figura 5). Esse plano é essencial para executar a análise pelo TDI, uma vez que a amostra do Doppler deve estar paralela à parede miocárdica¹³.

Ecocardiografia transesofágica

A Ecocardiografia Transesofágica (ETE) no laboratório experimental tem provado ser uma ferramenta acurada quando a ETT não é capaz de fornecer imagens adequadas, ou nos casos em que se faz necessário o estudo das estruturas cardíacas durante um procedimento cirúrgico¹⁴.

É exequível em grande parte dos modelos animais e, novamente, a droga utilizada na anestesia deve ser escolhida de acordo com a espécie¹⁴⁻¹⁹.

As imagens são muito semelhantes àsquelas obtidas de humanos, sendo originadas do plano transgástrico e de três planos adicionais dentro do esôfago: cranial, médio e caudal.

Transgástrico

Esse plano é bastante limitado, abordando apenas o VE no plano transversal.

Esôfago caudal

O plano transversal fornece imagens dos ventrículos direito e esquerdo na altura da VM. Movimentos suaves de anteflexão permitem a abordagem da base do coração, no nível da VAO, semelhantemente ao plano paraesternal transversal na ETT.

O plano longitudinal possibilita obter imagens do VE, VSVE e VM; rodando a sonda no sentido anti-horário, observa-se a via de entrada do VE, AD, septo interatrial e veias cavas.

Esôfago médio

- Plano 4-câmaras (Figura 6)
- Plano longitudinal: oferece imagens do AE, VE e Ao, como no plano apical longitudinal da ETT

Esôfago cranial

- Plano transversal: arco aórtico, VSVE e valva pulmonar.
- Plano longitudinal: o feixe centralizado permite a obtenção de imagens da Ao ascendente e da VSVE; a rotação do transdutor no sentido horário fornece imagens da VSVD e do TP.

Artigo de Revisão

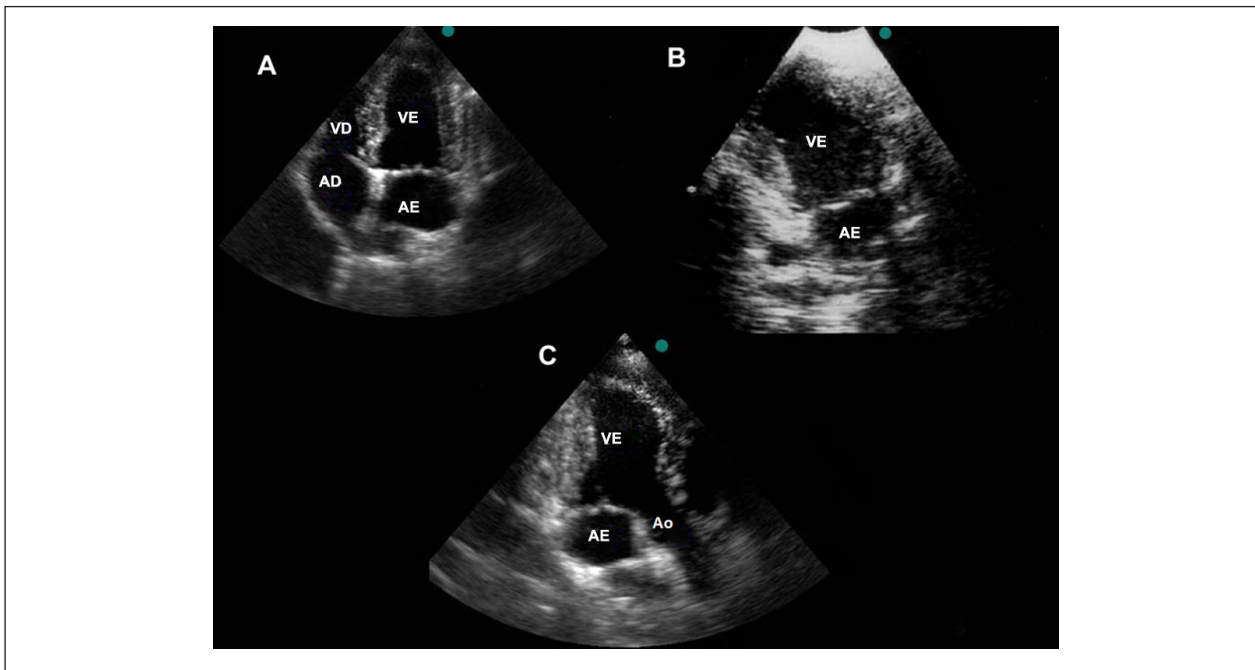


Figura 5 - Planos apicais adquiridos em cães. Plano apical 4-câmaras (A); plano apical 2-câmaras (B); plano apical longitudinal (C). VE: ventrículo esquerdo; Ao: aorta; AE: átrio esquerdo; AD: átrio direito; VD: ventrículo direito.



Figura 6 - Ecocardiografia transesofágica em cão. Note a bioprótese em posição mitral. VE: ventrículo esquerdo; AE: átrio esquerdo; AD: átrio direito; VD: ventrículo direito.

Tecnologias inovadoras

Nas últimas décadas, houve um desenvolvimento rápido e crescente de tecnologias inovadoras e, muitas vezes, essas ferramentas precisam ser testadas experimentalmente antes de serem introduzidas na prática clínica.

O contraste ecocardiográfico tem por finalidade aumentar a definição dos bordos endocárdicos e, em associação com a ecocardiografia sob estresse, pode ser empregado na pesquisa para a avaliação da perfusão miocárdica²⁰.

A ecocardiografia tridimensional em tempo real, e o STE bidimensional e tridimensional representam ferramentas

promissoras na avaliação e no diagnóstico precoce de doenças cardíacas²¹⁻²⁴. A validação experimental dessas técnicas foi muito importante para introduzi-las na prática clínica, principalmente considerando o STE, uma vez que não há um padrão-ouro verdadeiro que possa ser aplicado com essa finalidade em humanos: em relação à mecânica torsional, o elegante estudo de Helle Valle e cols.²⁵, assim como o de Langeland e cols.²⁶, Amundsen e cols.²⁷ e Seo e cols.²⁸, que se referem ao strain miocárdico bidimensional e tridimensional, a técnica foi validada em comparação à sonomicrometria, o que requer procedimento cirúrgico a céu aberto para a inserção de cristais no miocárdio. A Tabela 2 mostra a correlação e o coeficiente de concordância entre o padrão-ouro e o STE nesses ensaios. Porém, para que se obtenham dados acurados, é muito importante a utilização de anestesia inalatória, para que seja induzida apneia respiratória durante a aquisição das imagens, uma vez que, tanto a E3DTR quanto o STE têm sua acurácia afetada pelos movimentos respiratórios do tórax. Outra questão de grande relevância é o uso da configuração adequada do equipamento, já que a resolução temporal baixa, representada pela quantidade de quadros por segundo (*frame rate*), pode também interferir nos resultados²².

Considerações finais

De acordo com o conhecimento dos autores, os primeiros estudos sistemáticos que empregaram a ecocardiografia no laboratório experimental foram realizados nos anos 1960. Lategola, em 1966, por meio de um transdutor de ultrassom miniaturizado, colocado no interior da aorta de cães, avaliou de forma invasiva o débito cardíaco, num protótipo do que seria, alguns anos depois, aplicado clinicamente pela ETT com

o estudo Doppler de ondas contínuas²⁹. Dois anos depois, Christensen e Bonte mostraram, em cães, a acurácia da ecocardiografia na detecção de derrame pericárdico. Desde então, sua importância na investigação experimental, com vistas à aplicação clínica, só tem aumentado³⁰.

Informações relevantes, que não seriam tão facilmente adquiridas com outras tecnologias, como a ressonância nuclear magnética, podem ser obtidas por meio da abordagem ecocardiográfica. Segundo a experiência dos autores, o método é útil no seguimento da hipertrofia miocárdica e de insuficiência cardíaca^{12,31,32}.

O desenvolvimento de tecnologias inovadoras, como a biomicroscopia ultrassônica, que utiliza frequências da ordem de 30 a 100 MHz, permite a análise de estruturas minúsculas – como o coração fetal de camundongos no interior do útero materno³³⁻³⁵. Certamente isso será de extrema importância no estudo do sistema cardiovascular e no desenvolvimento de microcirurgias em pequenos animais. Isso representa uma opção muito atraente em pesquisa experimental, uma vez que tais animais são de fácil manipulação, apresentam melhor relação custo-benefício e podem ser mantidos em pequenas áreas, viabilizando o estudo de grandes amostras num curto período de tempo.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer ao Rodrigo Tonan, pela assistência técnica com as figuras.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Abduch MCD, Aiello VD; Obtenção de dados, Análise e interpretação dos dados e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual: Abduch MCD, Assad RS, Aiello VD; Redação do manuscrito: Abduch MCD, Assad RS, Mathias Jr. W, Aiello VD.

Potencial Conflito de Interesses

Declaramos não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Tabela 2 - Validação experimental do speckle tracking por meio da sonomicrometria

Tipo do estudo (Referência #)	Parâmetro	Correlação
2D STE (22)	Rotação apical	0,92
	Rotação basal	0,76
	Twist	0,94
2D STE (26)	Strain radial	0,72
	Strain longitudinal	0,80
2D STE (27)	Strain longitudinal	0,90
3D STE (28)	Strain de área	0,87

2D STE- speckle tracking 2D; 3D STE- speckle tracking 3D.

Referências

- Krishnamoorthy VK, Sengupta PP, Gentile F, Khanderia BK. History of echocardiography and its future applications in medicine. *Crit Care Med*. 2007;35(8 Suppl):S309-13.
- Singh S, Goyal A. The origin of echocardiography: a tribute to Inge Edler. *Tex Heart Inst J*. 2007;34(4):431-8.
- Parlakian A, Charvet C, Escoubet B, Mericskay M, Molkentin JD, Gary-Bobo G, et al. Temporally controlled onset of dilated cardiomyopathy through disruption of the SRF gene in adult heart. *Circulation*. 2005;112(19):2930-9.
- Popovic ZB, Benejam C, Bian J, Mal N, Drinko J, Lee K, et al. Speckle-

Artigo de Revisão

- tracking echocardiography correctly identifies segmental left ventricular dysfunction induced by scarring in a rat model of myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;292(6):H2809-16.
5. Zacà V, Brewer R, Khanal S, Imai M, Jiang A, Wang M, et al. Left atrial reverse remodeling in dogs with moderate and advanced heart failure treated with a passive mechanical containment device: an echocardiographic study. *J Card Fail.* 2007;13(4):312-7.
 6. Thomas WP. Two-dimensional, real-time echocardiography in the dog: technique and anatomic validation. *Veterinary Radiology.* 1984;25(2):50-64.
 7. Gwathmey JK, Nakao S, Come PC, Abelmann WH. Echocardiographic assessment of cardiac chamber size and functional performance in swine. *Am J Vet Res.* 1989;50(2):192-7.
 8. Dias CA, Assad RS, Caneo LF, Abduch MC, Aiello VD, Dias AR, et al. Reversible pulmonary trunk banding II: an experimental model for rapid pulmonary ventricular hypertrophy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002;124(5):999-1006.
 9. Hanton G, Eder V, Rochefort C, Bonner P, Hyvelin JM. Echocardiography, a non-invasive method for the assessment of cardiac function and morphology in preclinical drug toxicology and safety pharmacology. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008;4(6):681-96.
 10. Scherrer-Crosbie M, Thibault HB. Echocardiography in translational research: of mice and men. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;21(10):1083-92.
 11. Lichtenberger M, Ko J. Anesthesia and analgesia for small mammals and birds. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2007;10(2):293-315.
 12. Abduch MC, Assad RS, Rodriguez MQ, Valente AS, Andrade JL, Demarchi LM, et al. Reversible pulmonary trunk banding III: assessment of myocardial adaptive mechanisms - contribution of cell proliferation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;133(6):1510-6.
 13. Ng AC, Thomas L, Leung DY. Tissue Doppler echocardiography. *Minerva Cardioangiolog.* 2010;58(3):357-78.
 14. Ren JF, Schwartzman D, Lighty GW Jr, Menz VV, Michele JJ, Li KS, et al. Multiplane transesophageal and intracardiac echocardiography in large swine: imaging technique, normal values, and research applications. *Echocardiography.* 1997;14(2):135-48.
 15. Loyer C, Thomas WP. Biplane transesophageal echocardiography in the dog: technique, anatomy and imaging planes. *Veterinary Radiology & Ultrasound.* 1995;36(3):212-26.
 16. Lucas CM, Van der Veen FH, Cheriex EC, Lorusso R, Havenith M, Penn OC, et al. Long-term follow-up (12 to 35 weeks) after dynamic cardiomyoplasty. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22(3):758-67.
 17. Medeiros A, Rolim NP, Oliveira RS, Rosa KT, Mattos KC, Casarini DE, et al. Exercise training delays cardiac dysfunction and prevents calcium handling abnormalities in sympathetic hyperactivity-induced heart failure mice. *J Appl Physiol.* 2008;104(1):103-9.
 18. dos Santos L, Santos AA, Gonçalves GA, Krieger JE, Tucci PJ. Bone marrow cell therapy prevents infarct expansion and improves border zone remodeling after coronary occlusion in rats. *Int J Cardiol.* 2010;145(1):34-9.
 19. Soltysinska E, Olesen SP, Osadchii OE. Myocardial structural, contractile and electrophysiological changes in guinea-pig heart failure model induced by chronic sympathetic activation. *Exp Physiol.* 2011;96(7):647-63.
 20. Dourado PM, Tsutsui JM, Mathias W Jr, Andrade JL, da Luz PL, Chagas AC. Evaluation of stunned and infarcted canine myocardium by real time myocardial contrast echocardiography. *Braz J Med Biol Res.* 2003;36(11):1501-9.
 21. Mor-Avi V, Lang RM. The use of real-time dimensional echocardiography for the quantification of left ventricular volumes and function. *Curr Opin Cardiol.* 2009;24(5):402-9.
 22. Notomi Y, Lysyansky P, Setser RM, Shiota T, Popovic ZB, Martin-Miklovic MG, et al. Measurement of ventricular torsion by two-dimensional ultrasound speckle tracking imaging. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(12):2034-41.
 23. Reisner SA, Lysyansky P, Agmon Y, Mutlak D, Lessick J, Friedman Z. Global longitudinal strain: a novel index of left ventricular systolic function. *J Am Soc Echocardiogr.* 2004;17(6):630-3.
 24. Edvardsen T, Helle-Valle T, Smiseth OA. Systolic dysfunction in heart failure with normal ejection fraction: speckle tracking echocardiography. *Prog Cardiovasc Dis.* 2006;49(3):207-14.
 25. Helle-Valle T, Crosby J, Edvardsen T, Lyseggen E, Amundsen BH, Smith HJ, et al. New noninvasive method for assessment of left ventricular rotation. Speckle tracking echocardiography. *Circulation.* 2005;112(20):3149-56.
 26. Langeland S, D'Hooge J, Wouters PF, Leather HA, Claus P, Bijnen B, et al. Experimental validation of a new ultrasound method for the simultaneous assessment of radial and longitudinal myocardial deformation independent of insonation angle. *Circulation.* 2005;112(14):2157-62.
 27. Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, Torp H, Crosby J, Lyseggen E, et al. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(4):789-93.
 28. Seo Y, Ishizu T, Enomoto Y, Sugimori H, Anonuma K. Endocardial surface area tracking for assessment of regional LV wall deformation with 3D speckle tracking imaging. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2011;4(4):358-65.
 29. Lategola, MT. Ultrasonic echocardiography - a new vista. *J Okla State Med Assoc.* 1966;59(5):208-12.
 30. Christensen EE, Bonte FJ. The relative accuracy of echocardiography, intravenous CO2 studies, and blood-pool scanning in detecting pericardial effusions in dogs. *Radiology.* 1968;91(2):265-70.
 31. Miana LA, Assad RS, Abduch MC, Gomes GS, Nogueira AR, Oliveira FS, et al. Intermittent systolic overload promotes better myocardial performance in adult animals. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(3):364-72.
 32. Thomaz PG, Assad RS, Abduch MC, Marques E, Aiello VD, Stolf NA. Assessment of a new experimental model of isolated right ventricular failure. *Artif Organs.* 2009;33(3):258-65.
 33. Foster FS, Pavlin CJ, Harasiewicz KA, Christopher DA, Turnbull DH. Advances in ultrasound biomicroscopy. *Ultrasound Med Biol.* 2000;26(1):1-27.
 34. Turnbull DH, Bloomfield TS, Baldwin HS, Foster FS, Joyner AL. Ultrasound backscatter microscope analysis of early mouse embryonic brain development. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92(6):2239-43.
 35. McVeigh ER. Emerging imaging techniques. *Circ Res.* 2006;98(7):879-86.