



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE BIOTECNOLOGIA

CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

MARIA LUIZA COSTA LIMA

**AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS CIRÚRGICOS DE INDUÇÃO DE
INFARTO EM RATOS WISTAR**

JOÃO PESSOA – PB

2018

MARIA LUIZA COSTA LIMA

**AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS CIRÚRGICOS DE INDUÇÃO DE
INFARTO EM RATOS WISTAR**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Biotecnologia.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Enéas Ricardo de Moraes Gomes

JOÃO PESSOA – PB

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L732a Lima, Maria Luiza Costa.

Avaliação dos métodos cirúrgicos de indução de infarto em ratos wistar / Maria Luiza Costa Lima. - João Pessoa, 2018.

49 f. : il.

Orientação: Enéas Ricardo de Moraes Gomes.
Monografia (Graduação) - UFPB/CBiotec.

1. Doenças cardiovasculares. 2. Infarto. 3. Técnicas de indução do IM. I. Gomes, Enéas Ricardo de Moraes. II. Título.

UFPB/BC



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (UFPB)
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA (CBiotec)
CAMPUS I – JOÃO PESSOA/PB
Coordenação do Curso de Bacharelado em
Biotecnologia



ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos oito dias do mês de junho de 2018, às 08:00h, em sessão pública no auditório do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) deste Campus Universitário, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Professor Dr. Enéas Ricardo de Moraes Gomes e composta pelos avaliadores: 1. Profa. Dra. Aline Alves Lara Gomes (FAZER/João Pessoa/PB) 2. Profa. Dra. Andrezza Miná Barbosa (NUPECC/UFPB), a discente Maria Luiza Costa Lima, matrícula 11407181, apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: **Avaliação dos métodos cirúrgicos de indução de infarto em ratos adultos**, como requisito curricular indispensável para a integralização do Curso de Graduação em Biotecnologia. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela APROVAÇÃO do referido trabalho, divulgando o resultado formalmente a discente e demais presentes e eu, Enéas Ricardo de Moraes Gomes, na qualidade de Presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais avaliadores e pela discente.

Enéas Ricardo de Moraes Gomes Presidente da Banca Examinadora
Aline Alves Lara Gomes Avaliador 1

Maria Luiza Costa Lima Discente
Andrezza Miná Barbosa Avaliador 2

João Pessoa/PB, 08 de junho de 2018.

Dedico este trabalho aos meus pais e irmã, pois
eles são tudo, minha força, meu estímulo, meu
exemplo, minha paz.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por me conceder o dom da vida, por todos os ensinamentos, dificuldades e alegrias que me tornaram quem sou hoje, e por colocar em meu caminho pessoas iluminadas que me ajudaram nos mais diversos momentos da minha vida acadêmica e pessoal, e que para sempre guardarei em meu coração. Para essas pessoas ofereço o meu mais sincero agradecimento.

Mesmo sendo impossível resumir em poucas palavras o quão grata eu sou, gostaria de agradecer imensamente a minha família por todo o apoio e incentivo em todos os momentos, principalmente aos meus pais e minha irmã. A minha mãe, Maria do Carmo, gostaria de dizer que não há paz maior que no seu abraço e agradecer por todo o amor, zelo, carinho, risadas e acalento que recebo. Ao meu pai, Fernando Ricardo, gostaria de dizer que meu amor por você é maior que a soma das gotas do mar e que cada superação nossa e as renúncias feitas por você nunca serão esquecidas e jamais serei capaz de agradecer suficientemente. A minha irmã, Maria Cecília, agradeço unicamente por ser minha irmã, pois sem você em minha vida, sem suas palavras de incentivo e seu amor e carinho incondicionais, nada seria possível. Todo o amor, esforço e dedicação de vocês foi fundamental para formar o ser humano que sou hoje. Ver o sorriso de alegria de vocês a cada passo alcançado em minha vida e ter como retribuição o abraço mais caloroso, me faz perceber que estou no caminho certo e que toda a luta para alcançar meus objetivos vale a pena por vocês. Muito obrigada por me impulsionar todos os dias e não medir esforços para que os meus sonhos se tornem realidade e ainda mais, por estar ao meu lado a cada vitória e por me acalantar nos momentos difíceis. Eu amo vocês!

Gostaria de agradecer também a toda a minha turma por essa longa caminhada juntos e apesar de altos e baixos, esses quatro anos ao lado de vocês ficarão para sempre guardados em minha memória. Agradeço principalmente a Bruna, Ícaro e Paulo, três pessoas maravilhosas que surgiram na minha vida e que independente do destino de cada um, vocês infinitamente farão parte da minha história e terão um lugarzinho especial no meu coração. Agradeço por vocês fazerem parte do meu crescimento pessoal e profissional, por me fazer rir todos os dias e me aturarem com meus dramas e minha loucuras kkkk. Amo vocês! Amiga, jamais poderia deixar de agradecer todos os momentos que você esteve ao meu lado, todas as nossas loucuras e risadas e te dizer como sou feliz por ter sua amizade e de como é lindo ver o quão forte e sincera ela se tornou. Muito obrigada!

Agradeço também ao Prof. Dr. Enéas Gomes por toda a confiança e conduta como professor, pesquisador e orientador, abrindo as portas do seu grupo de pesquisa, possibilitando que eu enxergasse a ciência com um novo olhar ao passar da forma mais tranquila e descontraída sua vasta experiência científica. A tudo isso sou muito grata!

Ao meus queridos companheiros do NUPECC, Fagner, Matheus, Renata, Nicolas, Joseanne, Camila, Aline, Valério e Thais, gostaria de agradecer profundamente por toda a ajuda, troca de conhecimento, discussões, risadas e por tornar o ambiente de trabalho e estudo mais leve e agradável. Um agradecimento especial a Andrezza Miná, quem considero a melhor companheira de bancada, por me treinar e ensinar pacientemente tudo o que sei, e por se tornar uma grande parceira de laboratório.

Agradeço também ao Prof. Dr. Demétrius Araújo, por ceder o espaço laboratorial e equipamentos para a realização dos experimentos no Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular (LBCM), assim como todo o suporte e apoio de toda a equipe do LBCM.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a toda administração e ao corpo docente do curso de Biotecnologia por todo apoio e suporte no meu desenvolvimento acadêmico e profissional e a todos os funcionários e a instituição UFPB.

*“Comece fazendo o que é necessário, depois aquilo que é possível, e de repente
você estará fazendo o impossível.”*

São Francisco de Assis

RESUMO

As doenças cardiovasculares são caracterizadas como as principais causadoras de mortes ao redor do mundo, sendo responsáveis por 31% das mortes globais. Desse total, 12 milhões são vítimas fatais do infarto agudo do miocárdio, considerado a causa mais comum entre as doenças cardíacas e que corresponde a uma condição de necrose isquêmica do tecido cardíaco, resultando em perda aguda significativa de células miocárdicas. Essa patologia é estudada de forma ampla na busca por intervenções terapêuticas que previnam ou minimizem os malefícios decorrentes dessa doença, e para tal, modelos experimentais como a técnica de oclusão da artéria coronária, crioinjúria e ressecção cardíaca foram desenvolvidos para mimetizar o infarto agudo do miocárdio. Sabendo da importância do estudo e implementação dessas técnicas, o objetivo desse trabalho consiste em realizar uma comparação entre as diferentes técnicas de indução cirúrgica de infarto para verificar qual apresenta melhores resultados no estabelecimento da lesão cardíaca. Para atingir esses objetivos, ratos *Wistar* adultos foram submetidos aos procedimentos de ligação da artéria coronária na presença e ausência de respirador mecânico e indução do infarto por crioinjúria. Além disso, ratos *Wistar* neonatais foram submetidos à técnica de crioinjúria, seguida pela análise por ecocardiografia. Dessa forma, os seguintes resultados foram observados: 1) Os animais adultos submetidos a indução do infarto por ligação da artéria utilizando o respirador chegaram a óbito antes ou durante o procedimento devido a diversos fatores como: dificuldade de padronização da dose de anestésico a ser utilizada, instabilidade da frequência respiratória, além do grande comprometimento da função cardíaca; 2) Animais adultos submetidos a mesma técnica na ausência do respirador chegaram a óbito durante ou após procedimento devido a fatores como parada cardiorrespiratória e comprometimento de outros órgãos; 3) Os animais adultos submetidos a crioinjúria chegaram a óbito durante o procedimento por fatores como resistência ao anestésico, instabilidade da frequência respiratória, determinação do local e tempo de contato da haste metálica com a superfície do tecido cardíaco; 4) Nos ratos neonatais que sofreram crioinjúria, após a sobrevivência e análise dos parâmetros ecocardiográficos, observou-se que não houve alteração significativa no encurtamento fracional (relação entre os diâmetros transversais do ventrículo esquerdo, obtidos após cada diástole e sístole) entre os grupos controle e os grupos que sofreram crioinjúria, indicando que a lesão cardíaca não foi estabelecida adequadamente. Dessa forma, observa-se que existem muitas dificuldades a serem superadas em relação a implementação das técnicas de indução de infarto em ratos adulto devido a fatores de grande sensibilidade ou de resistência relacionadas a dose de anestésico, comprometimento de outros órgãos não relacionados ao procedimento cirúrgico, afetando a recuperação pós-operatória, além de dificuldades encontradas em manter o animal estável durante o procedimento cirúrgico.

Palavras-Chave: Doenças cardiovasculares; Infarto; Técnicas de indução do IM.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are characterized as the leading cause of death worldwide, accounting for 31% of global deaths. Of this total, 12 million are fatal victims of acute myocardial infarction, considered the most common cause among cardiac diseases that corresponds to a condition of ischemic necrosis of cardiac tissue resulting in a significant acute loss of myocardial cells. This pathology is studied extensively in the search for therapeutic interventions that prevent or minimize the harm caused by this disease. To this end, experimental models such as coronary artery occlusion, cryoinjury and cardiac resection have been developed to mimic acute myocardial infarction. Knowing the importance of the study and implementation of these techniques, the objective of this work is to compare the different techniques of surgical induction of infarction to verify which would present better results in the establishment of the cardiac lesion. To achieve these goals, adult Wistar rats underwent coronary artery ligation procedures in the presence and absence of mechanical ventilator and induction of infarction by cryoinjury. In addition, neonatal Wistar rats were submitted to cryoinjury technique, followed by echocardiographic analysis. Thus, the following results were observed: 1) Adult animals submitted to infarction induction by artery ligation using the respirator died before or during the procedure due to several factors such as: difficulty in standardizing the dose of anesthetic to be used, instability of respiratory rate, and major impairment of cardiac function; 2) Adult animals submitted to the same technique in the absence of respirators died during or after procedure due to factors such as cardiorespiratory arrest and impairment of other organs; 3) Adult animals submitted to cryoinjury died during the procedure by factors such as resistance to anesthetics, instability of respiratory rate, determination of the location and time of contact of the metal rod with the surface of the cardiac tissue; 4) In neonatal rats that suffered cryoinjury, after survival and analysis of echocardiographic parameters, it was observed that there was no significant change in the fractional shortening (relationship between left ventricular transversal diameters obtained after each diastole and systole) between the control groups and cryoinjury groups, indicating that cardiac injury was not adequately established. Thus, it is observed that there are many difficulties to overcome related to the implementation of the techniques of induction of infarction in adult rats, due to factors of great sensitivity or resistance related to dose of anesthetic, impairment of other organs not related to the surgical procedure, affecting the postoperative recovery, besides difficulties encountered in keeping the animal stable during the surgical procedure.

Keywords: Cardiovascular diseases; Infarction; IM Induction techniques.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura anatômica do coração	20
Figura 2. Representação da fisiopatologia do infarto agudo do miocárdio	23
Figura 3. Número de mortes por doenças cardiovasculares no Brasil	24
Figura 4. Representação esquemática da técnica de oclusão da artéria coronária descendente esquerda.....	25
Figura 5. Representação esquemática do procedimento de ressecção cardíaca	26
Figura 6. Descrição do procedimento de crioinjúria em rato neonato.	27
Figura 7. Representação esquemática da técnica de oclusão da artéria coronária descendente esquerda.	32
Figura 8. Representação esquemática da técnica de crioinjúria	33
Figura 9. Representativo dos modos M e bidimensional em ecocardiografia.	35
Figura 10. Gráfico representativo do encurtamento fracional entre grupos controle e com crioinjúria indicando que não houve diferença significativa.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados das técnicas utilizadas para indução de infarto.....	37
--	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DCVs – Doenças cardiovasculares

IAM – Infarto agudo do miocárdio

PCI – Intervenção coronária percutânea

SUS – Sistema único de saúde

AVCs – Acidente vascular cerebral

LVED – Dimensão diastólica final do ventrículo esquerdo

LVES – Dimensão sistólica final do ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1. Sistema cardiovascular	19
2.2. Doenças cardiovasculares	20
2.3. Infarto agudo do miocárdio.....	21
2.4. Fisiopatologia do infarto agudo do miocárdio	22
2.5. Epidemiologia das doenças cardiovasculares	23
2.6. Modelos experimentais de indução de infarto agudo no miocárdio	24
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo geral	29
3.2. Objetivos específicos	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1. Considerações éticas.....	31
4.2. Procedimentos pré-cirúrgicos	31
4.3. Indução do infarto por ligação da artéria coronária.....	31
4.4. Indução do infarto por crioinjúria	33
4.5. Indução do infarto por crioinjúria em animais neonatais	34
4.6. Ecocardiografia	34
5. RESULTADOS	37
5.1. Crioinjúria	37
5.2. Crioinjúria em neonatos.....	37
5.3. Ligação da artéria descendente esquerda com utilização do respirador mecânico	38
5.4. Ligação da artéria descendente esquerda sem utilização do respirador mecânico	38
6. DISCUSSÃO	41
7. CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	47

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O sistema cardiovascular possui a importante função de conferir a manutenção da homeostase no organismo durante toda a vida (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2012). Esse sistema é composto por estruturas que garantem o fluxo contínuo e ordenado de sangue pelos tecidos, sendo o coração o principal órgão desse sistema (LACCHINI; IRIGOYEN, 2012). Em relação a estrutura do coração, o mesmo possui sua base formada pelos átrios direito e esquerdo e sua região apical formada pelos ventrículos direito e esquerdo, sendo essas quatro câmaras separadas por válvulas atrioventriculares e na saída de cada um dos ventrículos encontram-se as válvulas pulmonar e aórtica que alteram o seu estado de abertura e fechamento durante a sístole e diástole, garantido assim o fluxo sanguíneo adequado durante o ciclo cardíaco. O coração ainda é formado principalmente pelos cardiomiócitos, sendo essas, células musculares estriadas cardíacas fundamentais para a estrutura e função contrátil do coração. (LACCHINI; IRIGOYEN, 2012; ANDERSON et al., 2013). Qualquer alteração na maquinaria desse sistema pode acarretar no funcionamento inadequado do coração, levando ao desenvolvimento das doenças cardiovasculares e insuficiência cardíaca.

As doenças cardiovasculares (DCVs) consistem em doenças do coração (cardiomiopatia, disfunção isquêmica do coração, insuficiência cardíaca congestiva) e dos vasos sanguíneos (doença arterial coronariana, hipertensão e aterosclerose) (SIMÃO et al., 2013). O infarto agudo do miocárdio é considerado a causa mais comum de doenças cardíacas e corresponde a um processo de necrose isquêmica, resultando em perda aguda significativa de células miocárdicas (ANDERSON; MORROW, 2017). A fim de encontrar soluções terapêuticas que busquem prevenir e minimizar os malefícios decorrentes dessas doenças cardiovasculares como o infarto do miocárdio, diversas técnicas laboratoriais buscam mimetizar essa patologia, dentre elas estão a técnica de oclusão da coronária, crioinjúria e ressecção cardíaca (HEIMBURGUER, 1946).

Dessa forma, considerando que as técnicas cirúrgicas de indução de infarto são fundamentais para o desenvolvimento de modelos experimentais, a fim de realizar uma melhor análise de alterações funcionais e estruturais em situações fisiopatológicas, realizamos um estudo comparativo entre diferentes técnicas de

indução de infarto do miocárdio para verificar qual apresentaria melhores resultados no estabelecimento da lesão cardíaca.

REFERENCIAL TEÓRICO

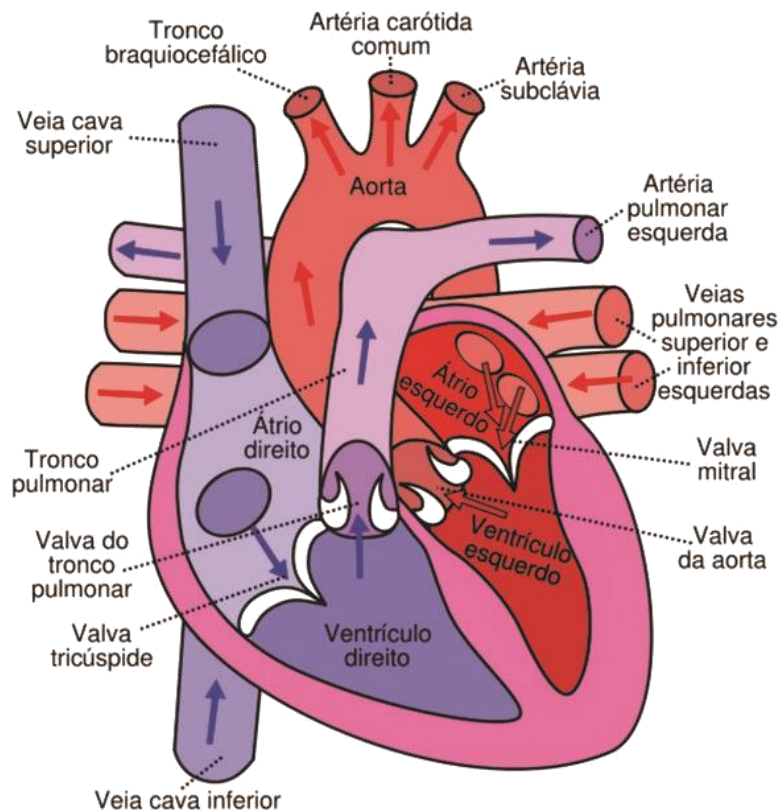
2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Sistema Cardiovascular

Durante o desenvolvimento embrionário o principal sistema que é ativado e que possui a importante função de conferir a manutenção da homeostase no organismo durante toda a vida é o sistema cardiovascular através de mecanismos de mecanismos de regulação de pressão arterial, volume, temperatura, pH, osmolaridade e secreção de hormônios, como o peptídeo atrial natriurético (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2012). Esse sistema é composto por estruturas que garantem o fluxo contínuo e ordenado de sangue pelos tecidos, sendo o coração o principal órgão desse sistema. O coração é responsável por bombear o sangue por todo o corpo, as artérias distribuem o sangue pelo organismo, as veias promovem o retorno venoso, enquanto os pequenos e grandes capilares permitem a troca rápida de substâncias entre tecidos e vasos, retirando assim metabólitos indesejados e fornecendo compostos vitais para o bom funcionamento do organismo (LACCHINI; IRIGOYEN, 2012).

Em relação a estrutura do coração, o mesmo possui sua base formada pelos átrios direito e esquerdo e sua região apical formada pelos ventrículos direito e esquerdo. Essas quatro câmaras são separadas por válvulas, duas entre os átrios e os ventrículos, denominadas atrioventriculares, e duas na saída dos ventrículos, denominadas pulmonar e aórtica que alteram o seu estado de abertura e fechamento durante a sístole e diástole, garantido assim o fluxo sanguíneo adequado durante o ciclo cardíaco. O coração ainda é formado principalmente por cardiomiócitos, células musculares estriadas cardíacas consideradas fundamentais para a estrutura e função contrátil do coração. Essas apresentam-se diferentemente distribuídas nas câmaras atriais e ventriculares, sendo mais abundante no ventrículo esquerdo que exerce elevada pressão para direcionar o fluxo para a circulação sistêmica (Figura 1) (LACCHINI; IRIGOYEN, 2012; ANDERSON et al., 2013).

Figura 1. Estrutura anatômica do coração



Fonte: <http://fisiologiafarmacia.blogspot.com/2016/05/musicas-em-fisiologia.html>

2.2. Doenças cardiovasculares

As doenças do coração (cardiomiopatia, disfunção isquêmica do coração, insuficiência cardíaca congestiva) e dos vasos sanguíneos (doença arterial coronariana, hipertensão e aterosclerose) compreendem um grupo de doenças intitulado doenças cardiovasculares (DCVs) (SIMÃO et al., 2013). Essas doenças são caracterizadas como as maiores causadoras de mortes ao redor do mundo e alguns fatores de risco como: elevada pressão arterial, tabagismo, obesidade, má alimentação, sedentarismo, taxas anormais de glicose, síndromes metabólicas, idade, fatores genéticos, etnia e consumo exagerado de bebidas alcoólicas, contribuem ativamente para o desenvolvimento de DCVs (GO et al., 2013). Dentre os principais fatores de risco para o desenvolvimento dessas doenças está a hipertensão arterial, considerada um grave problema de saúde pública (KUMRAL et al, 2016). Seu diagnóstico é muitas vezes dificultado, uma vez que a mesma apresenta multifatorialidade em sua origem. As consequências mais comuns e graves da

hipertensão são: infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular cerebral e insuficiência renal que podem culminar com a morte do indivíduo (JAMES et al., 2014).

Os fatores supracitados contribuem ativamente para o surgimento e manutenção de doenças cardiovasculares. Dos indivíduos que sofrem dessas doenças cardíacas, aproximadamente 12 milhões são vítimas fatais do IAM, patologia que apresenta altos números de morbidade e mortalidade sendo considerada um problema de saúde importante do ponto de vista clínico, psicológico e social. (DATASUS, 2015; ARAÚJO, et. al., 2016; SILVA et. al., 2015). Durante o infarto pode ocorrer a redução da perfusão sanguínea em decorrência da formação de trombos no interior das artérias, ruptura ou desestabilização das placas de aterosclerose no interior dos vasos, ou ainda ativação de fatores plaquetários e de coagulação (BOATENG; SANBOR, 2013).

2.3. Infarto agudo do miocárdio

O Infarto agudo do miocárdio (IAM) define-se como a obstrução de uma ou mais artérias coronarianas, causando a morte tecidual do músculo cardíaco (FONSECA et al., 2013). Durante o diagnóstico, para que um indivíduo seja enquadrado em um perfil clínico de infarto é necessário que o mesmo apresente no mínimo dois desses fatores: elevadas concentrações de creatina quinase-MB, alterações significativas no eletrocardiograma e/ou fortes dores no peito (GIANNITSIS; KATUS, 2013; DE LEMOS, 2013). Os pacientes geralmente apresentam uma forte dor no peito acima da região do esterno que migra em direção às extremidades superiores, incluindo a região dos ombros, costas, pescoço e maxila inferior. Mesmo quando os indivíduos não apresentam esses sintomas, ainda correm o risco de desenvolvimento de um primeiro ataque cardíaco caso haja predisposição genética, hábitos de tabagismo, hábitos alimentares não saudáveis ou sedentarismo (BOATENG; SANBOR, 2013).

O infarto agudo do miocárdio pode ser classificado em cinco níveis de acordo com as causas que levam à sua gênese. O infarto do tipo 1 ou infarto espontâneo, ocorre como consequência de condições arteriais patológicas (ex: erosão, fissura ou ruptura de placas ateroscleróticas) que levam a formação de trombos intraluminais. O infarto do tipo 2 ou Infarto secundário a um desequilíbrio isquêmico, ocorre em decorrência do aumento de demanda de oxigênio ou diminuição de suprimento do

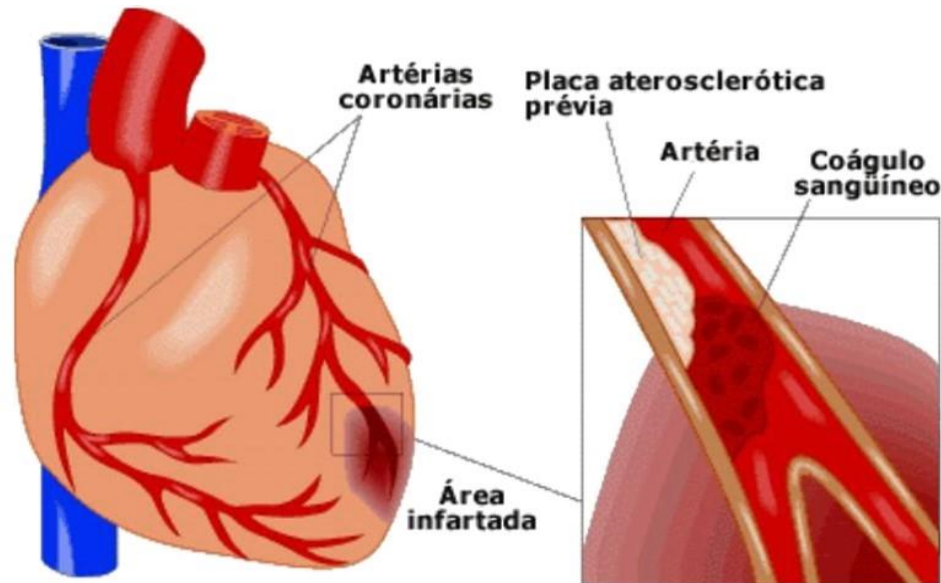
mesmo (ex: disfunção do endotélio coronariano, espasmos da artéria coronária, embolia arterial, anemia, hipertensão e hipotensão). Já o infarto do tipo 3, resulta em morte súbita antes mesmo que moléculas biomarcadoras possam ser detectadas e quantificadas em amostras sanguíneas. Os infartos do tipo 4a e tipo 4b são relacionados ao processo de Intervenção coronária percutânea (PCI) e trombose, respectivamente. Por último o infarto classificado como do tipo 5, está relacionado à cirurgia de revascularização miocárdica (IBRAHIM et al., 2009).

2.4. Fisiopatologia do infarto agudo do miocárdio

O infarto agudo do miocárdio corresponde a um processo de isquemia prolongada, caracterizado pelo evento de necrose do miocárdio (ANDERSON; MORROW, 2017) e é considerado a causa mais comum de lesões cardíacas, resultando em perda aguda e significativa de células miocárdicas (GONZÁLEZ-ROSA et al., 2011). Inicialmente, quando os vasos apresentam pequenos depósitos de gordura em seu interior a área de secção transversal do lúmen permanece inalterada, uma vez que as artérias coronárias conseguem sofrer um processo de remodelação compensatória externa em relação à área da placa, fazendo com que a doença assumira um caráter assintomático durante alguns anos. Entretanto, ao longo do tempo, ocorre uma maior deposição de placas de gordura e consequente diminuição da secção transversal do lúmen do vaso, fazendo com que as primeiras consequências e sintomas já possam ser observados (BOERSMA; 2003). Esse agravamento ocorre por redução da perfusão sanguínea no miocárdio em decorrência da formação de trombos no interior das artérias, que se inicia com a ruptura ou desestabilização das placas de aterosclerose no interior dos vasos, expondo assim o sangue a lipídeos trombogênicos e ocorrendo o processo de ativação fatores plaquetários e de coagulação (BOATENG; SANBOR, 2013). A partir disso, se uma oclusão coronariana persistir por mais de 30 min, pode ocorrer um dano irreversível ao miocárdio, ou seja, infarto do miocárdio, enquanto que a longo prazo a oclusão coronária resulta em um aumento progressivo do tamanho da área infartada. Após cerca de 6h de oclusão contínua, toda a área comprometida torna-se necrótica e o tecido lesado estimula uma cascata inflamatória responsável por promover infiltração leucocitária e eliminação de células mortas da matriz extracelular, substituindo esse tecido lesionado por tecido cicatricial fibroso. Esse processo fibrótico acarreta em

remodelamento ventricular reduzindo a função do ventrículo esquerdo, afetando assim a qualidade de vida do paciente e podendo ocasionar um processo de insuficiência cardíaca (Figura 2) (BOERSMA; 2003; GONZÁLEZ-ROSA et al., 2011).

Figura 2. Representação da fisiopatologia do infarto agudo do miocárdio



Fonte: <http://conheciweb.blogspot.com/2014/11/sae-no-infarto-agudo-do-miocardio-i-m.html>

2.5. Epidemiologia das doenças cardiovasculares

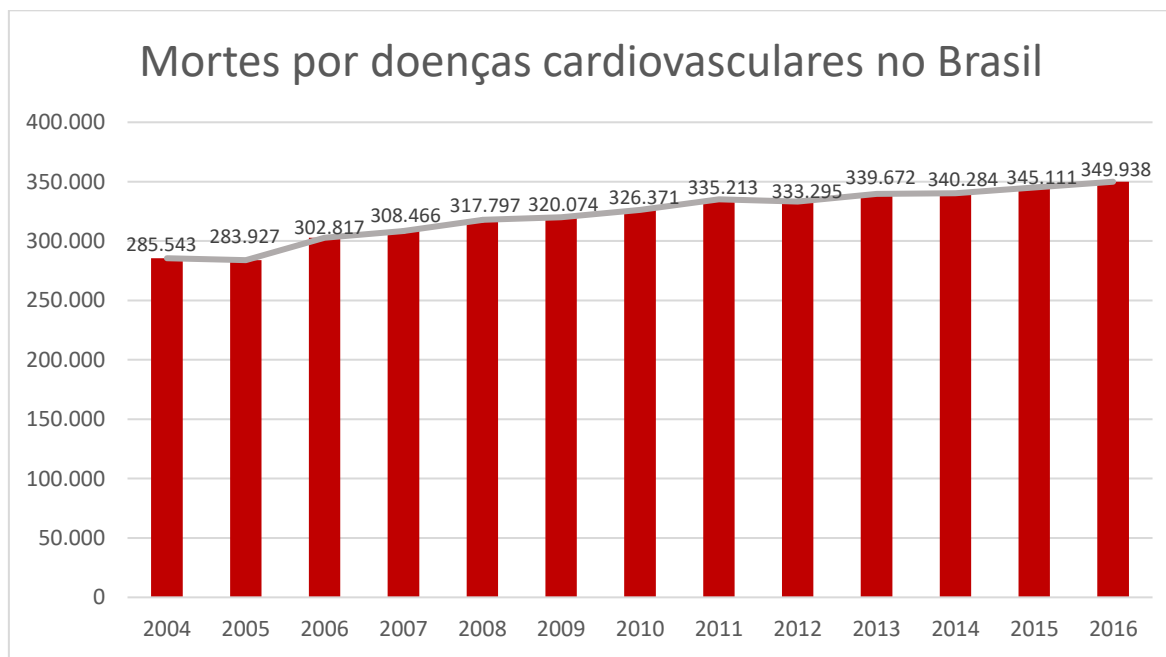
As doenças cardiovasculares, no Brasil, correspondem à primeira causa de óbito em todas as regiões do país, em ambos os sexos, e por 10% das internações no sistema único de saúde (SUS). Esse percentual elevado pode ser relacionado à multifatorialidade que envolve o desenvolvimento dessas patologias. Estima-se que até 2040, no Brasil, a incidência de novos casos de doenças cardiovasculares aumentarão em 250% (WHO, 2017; ARAÚJO, et. al., 2016; SILVA et. al., 2015).

As doenças cardiovasculares, desde 1950, estão associadas à principal causa de morbidade e mortalidade em países industrializados ocidentais (SANCHIS-GOMAR et al., 2016). A incidência dessas doenças leva em consideração o perfil da sociedade atual, estilo de vida, globalização, urbanização, idade da sociedade e o aumento de doenças crônicas (HORTON, 2015; DANAELI et al.; 2013). As DCVs promovem um elevado impacto sobre os custos em assistência médica e sobre a qualidade de vida do paciente, o que vem estimulando o surgimento e implantação de

políticas públicas de conscientização da população para os principais fatores de risco das doenças cardiovasculares (MASCENA et al.; 2012).

De acordo com a sociedade brasileira de cardiologia, cerca de 4.188.508 casos de mortes por doenças cardiovasculares ocorreram no Brasil de 2004 a 2016 (SBC, 2018) (Figura 3). Estima-se que 17,7 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares em 2015, representando 31% de todas as mortes em nível global. Desses óbitos, estima-se que cerca de 7,4 milhões ocorreram devido às doenças cardiovasculares e 6,7 milhões devido a acidentes vasculares cerebrais (AVCs). Mais de três quartos das mortes por doenças cardiovasculares ocorrem em países de baixa e média renda (PAHO, 2017). Isso demonstra o alto impacto gerado por essas doenças na atualidade.

Figura 3. Número de mortes por doenças cardiovasculares no Brasil



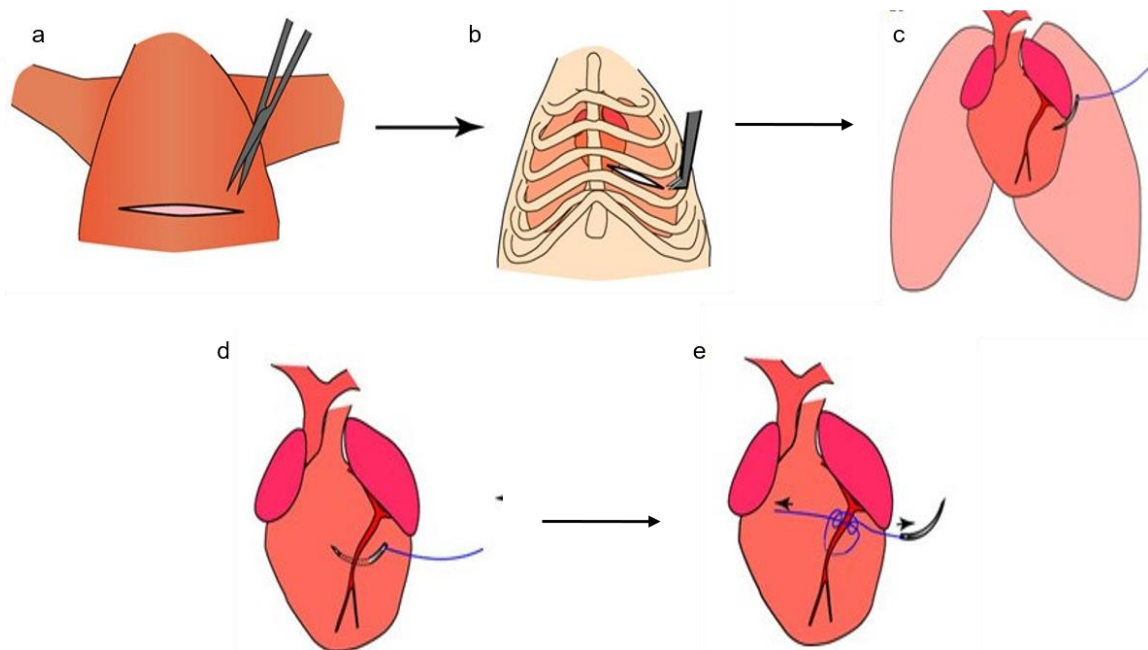
Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia 2018 (Adaptado).

2.6. Modelos experimentais de indução de infarto agudo no miocárdio

Diversas técnicas são aplicadas na busca do desenvolvimento de modelos de infarto agudo no miocárdio (IAM). Dentre elas estão a técnica de oclusão da artéria coronária, crioinjúria e ressecção cardíaca. O modelo de IAM experimental em ratos através da oclusão da artéria coronária esquerda foi primeiramente descrito por Heimburger em

1946 em modelos caninos (HEIMBURGUER, 1946). Progressivamente, a técnica foi modificada por Johns e Olson (JOHNS et al., 1954), sendo adaptada a modelos murinos, e aprimorada por Kaufman (KAUFMAN e GAVAN, 1959) e Selye (SELYE et al., 1960). A técnica consiste em uma toracotomia esquerda, entre o 3º e o 4º espaços intercostais. O coração é exteriorizado por compressão lateral do tórax e a artéria coronária esquerda é ligada com fio de sutura 5-0 a, aproximadamente, 2 mm da origem, entre a borda do átrio esquerdo e o sulco da artéria pulmonar (Figura 4). Em seguida, o coração é rapidamente recolocado na cavidade torácica, os pulmões expandidos com ventilação positiva com oxigênio a 100% e o tórax é então fechado (ZORNOFF et al., 2009).

Figura 4. Representação esquemática da técnica de oclusão da artéria coronária descendente esquerda. (a) Incisão na pele; (b) Toracotomia lateral no quarto espaço intercostal e abertura da caixa torácica; (c) Localização da artéria coronária descendente esquerda; (d-e) Oclusão da artéria coronária;



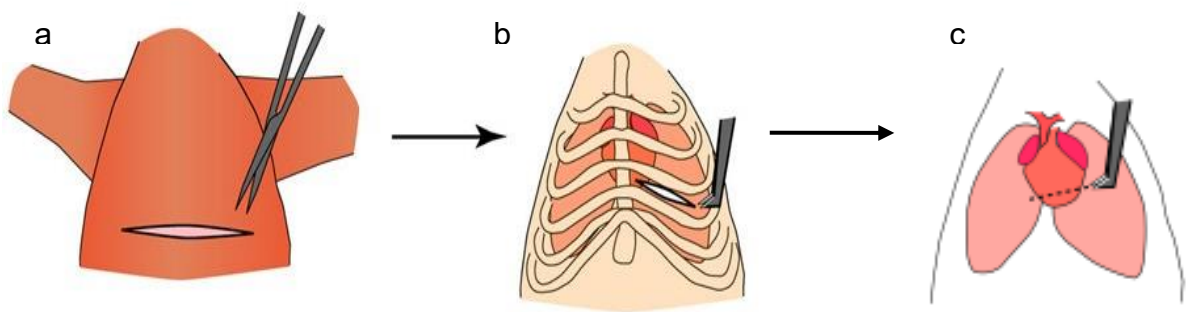
Fonte: MAHMOUD et al., 2014 (Adaptado)

O método supracitado possui várias vantagens. Em primeiro lugar, os animais podem ser criados especificamente para os protocolos e com custo mais baixo que animais maiores. Em segundo lugar, a cirurgia é extremamente rápida, com duração variando de 2 a 5 minutos. Outro aspecto é que devido às características do metabolismo, as etapas envolvidas na evolução do infarto como, por exemplo,

necrose, cicatrização e remodelamento ocorrem rapidamente, diminuindo o tempo de observação dos estudos e então mimetizando as alterações morfológicas e funcionais decorrentes do infarto de forma semelhante às aquelas encontradas em humanos (FISHBEIN et al., 1978 e KLOCKE et al., 2007).

Estudos relacionados ao infarto agudo do miocárdio também podem ser realizados através do método da ressecção do tecido cardíaco. Esse método consiste na retirada de até 15% do ápice do coração através de uma incisão realizada com cautela, a fim de evitar a perfuração da câmara ventricular. Entretanto, através dessa metodologia não é possível mimetizar as modificações que ocorrem em decorrência do infarto agudo do miocárdio. (PORELLO et al., 2011) (Figura 5).

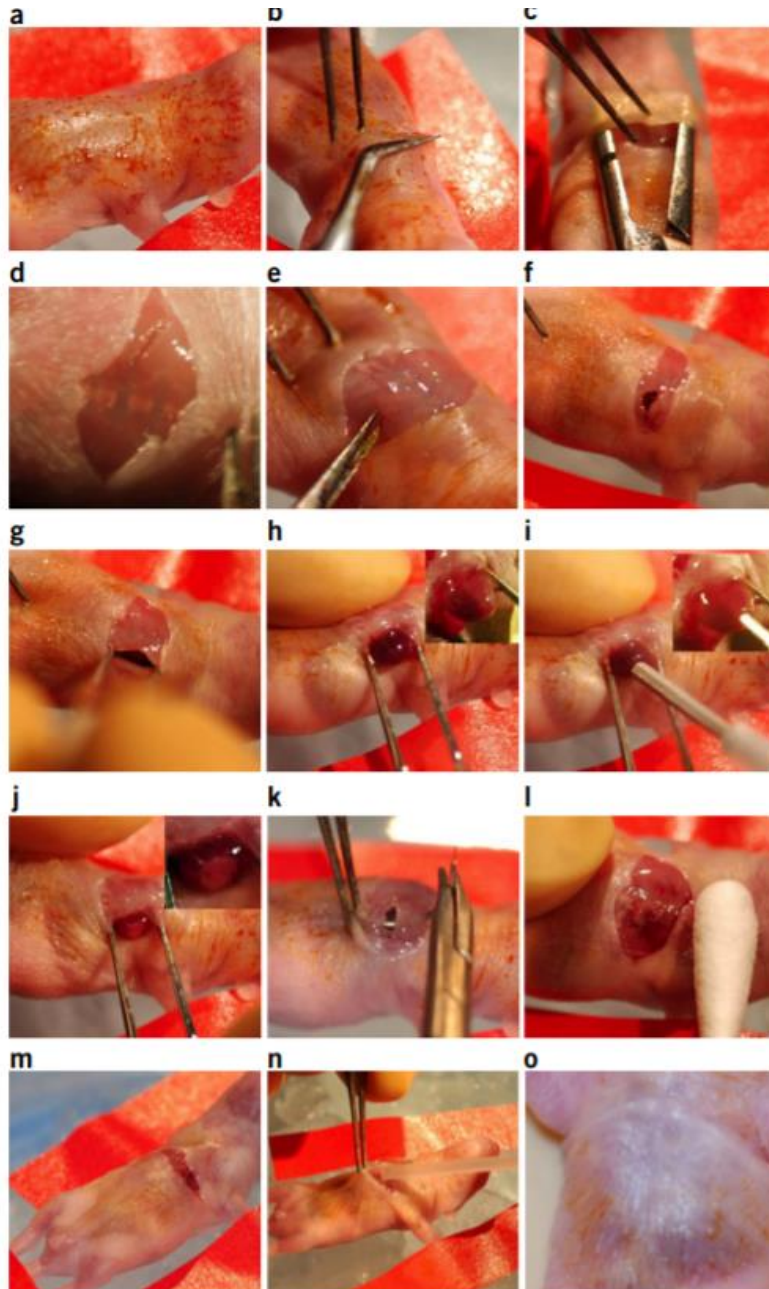
Figura 5. Representação esquemática do procedimento de ressecção cardíaca. (a) Incisão na pele; (b) Toracotomia lateral no quarto espaço intercostal e abertura da caixa torácica; (c) Ressecção



Fonte: MAHMOUD et al., 2014 (Adaptado)

Outro método utilizado para realização do infarto agudo do miocárdio é a técnica de crioinjúria, a qual consiste na exposição do coração e utilização de uma haste metálica previamente resfriada em nitrogênio líquido a uma temperatura de -196°C , para realização da lesão. Essa metodologia auxilia em pesquisas relacionadas à regeneração cardíaca em mamíferos, apresentando várias aplicações, como pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de protetores e regeneradores cardíacos e possui a vantagem do curto período de procedimento, apesar de não mimetizar a fisiopatologia do infarto por não promover oclusão de artérias no local da lesão (POLIZZOTTI et al., 2016) (Figura 6).

Figura 6. Descrição do procedimento de crioinjúria em rato neonato. (a) Assepsia da área (b) Incisão na pele (c) Separação da pele e do músculo (d) Visualização do local da toracotomia (e) Toracotomia lateral no quarto espaço intercostal (f) Abertura da caixa torácica (g) Separação dos músculos intercostais (h) Exteriorização do coração (i) Aplicação da haste resfriada na superfície do ventrículo esquerdo (j) Visualização da lesão pós-injúria (k) Sutura da costela e musculatura (l) Checagem da sutura (m) Preparação da pele para utilização de cola biocompatível (n) A pele é fechada com cola biocompatível (o) A área é lavada para remover sangue e cola residual.



Fonte: POLIZZOTTI et al., 2016

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3. 1. Objetivo geral

Comparar técnicas cirúrgicas de indução de infarto em ratos *Wistar* adultos e neonatais.

3.2. Objetivos específicos

- Padronizar e implementar a técnica de indução de infarto por ligação da artéria coronária;
- Padronizar e implementar a técnica de indução de infarto pelo método de crioinjúria;
- Realizar ecocardiografia para análise da função cardíaca;
- Comparar a eficiência das técnicas no estabelecimento do IAM

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Considerações éticas

Os animais utilizados durante esse estudo foram ratos Wistar adultos, sem distinção de sexo, com peso entre 250-300g, e ratos neonatais com 5 dias de vida provenientes do Biotério Prof. Thomas George (Cbiotec – UFPB) e com permissão concedida pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, pelo protocolo CEUA nº 0204/13.

4.2. Procedimentos pré-cirúrgicos

Antes de iniciar o procedimento cirúrgico todos os animais foram pesados e anestesiados. Para a anestesia, foi preparada uma solução contendo 0,75ml de Cetamina 10%, 0,5ml de Xilazina 2% e 0,75ml de salina, chegando a um volume final de 2,0ml. Dessa solução final, foi estabelecido uma proporção de 200µl para cada 150g de animal.

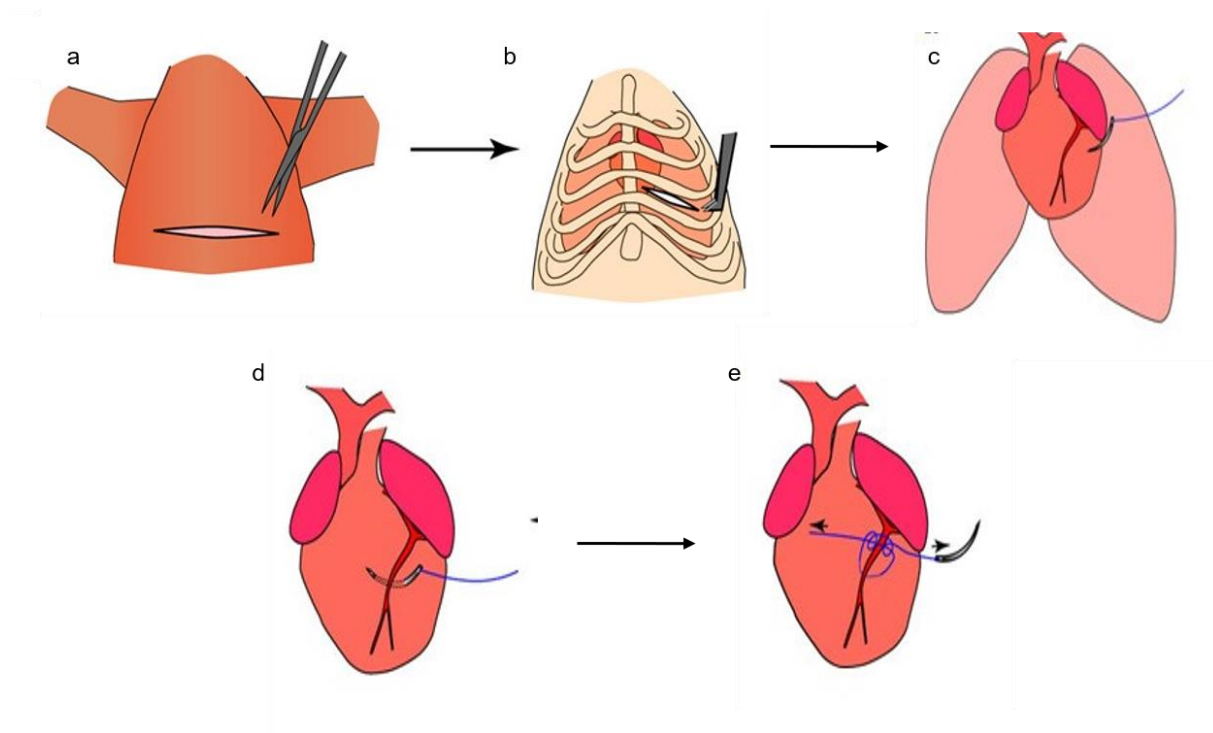
Os animais foram colocados na posição de decúbito dorsal e a dose correspondente ao peso foi injetada na região intraperitoneal. Em seguida, na região peitoral e do pescoço foi aplicado um creme depilatório com auxílio de uma haste flexível para a retirada dos pelos, e então a região foi limpa com água, sabão e álcool iodado para evitar infecções durante o procedimento.

4.3. Indução do infarto por ligação da artéria coronária

Com o animal na posição de decúbito dorsal, foi realizada a toracotomia através de uma incisão um pouco acima do esterno e no espaço intercostal entre a terceira e quarta costela do lado esquerdo. Em seguida, toda a camada muscular foi divulsionada como auxílio de uma pinça de ponta curvada até ser possível visualizar as costelas. Após a visualização, foi realizado um pequeno corte entre essas costelas e com o auxílio de um separador foi possível visualizar o interior da caixa torácica, bem como o coração. O passo seguinte consistiu no rompimento da camada de pericárdio e exposição do coração, para que fosse possível expor o mesmo, localizar

a artéria coronária descendente esquerda na região posterior do coração e então realizar a ligação antes da bifurcação da artéria coronária descendente esquerda, causando assim um processo de isquemia e infarto de grande porção na região ventricular esquerda (Figura 7).

Figura 7. Representação esquemática da técnica de oclusão da artéria coronária descendente esquerda. (a) Incisão na pele; (b) Toracotomia lateral no quarto espaço intercostal e abertura da caixa torácica; (c) Localização da artéria coronária descendente esquerda



Fonte: MAHMOUD et al., 2014 (Adaptado)

Por fim, o coração foi devolvido ao interior da caixa torácica e teve início o processo de sutura das costelas, musculatura e pele. Em seguida, foi borrifado álcool iodado nas regiões de sutura para evitar processos infecciosos e o animal foi levado para recuperação em condições normais temperatura.

Os animais que foram condicionados a técnica de indução do infarto por ligação da artéria coronária descendente esquerda com a utilização de respirador mecânico passaram pelo procedimento de traqueostomia, sendo entubados com uma cânula de porte médio conectada a um aparelho de respiração artificial com frequência adequada para que o animal permanecesse estável durante a indução do infarto. Com o animal estável, teve início o procedimento para indução do infarto. Após o

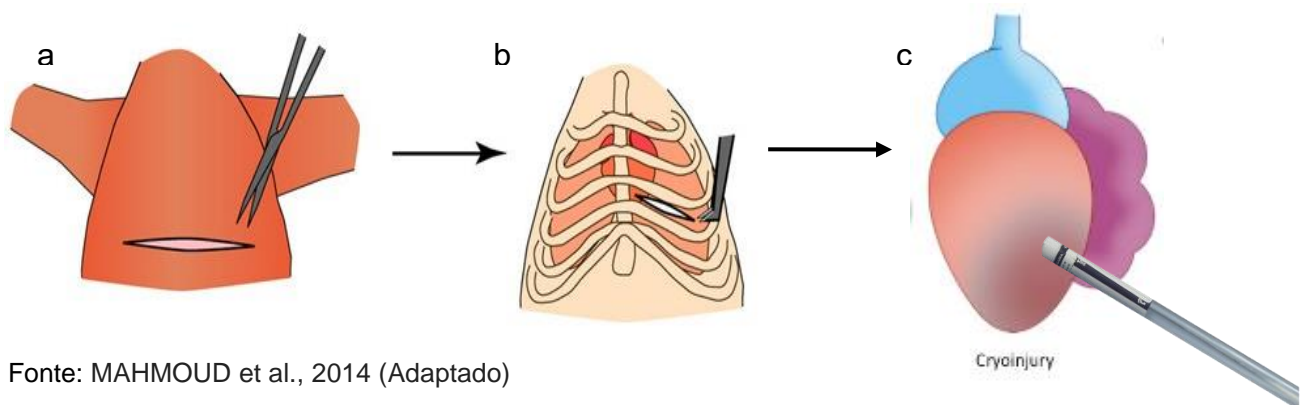
procedimento, houve a retirada da cânula da traqueia e sutura dos anéis e da musculatura e pele do pescoço.

4.4. Indução do infarto por crioinjúria

A técnica de crioinjúria corresponde a outra forma de mimetizar e induzir o infarto do miocárdio em ratos adultos. Todo o passo a passo referente esse método foi semelhante ao que ocorreu na indução do infarto por ligação da artéria coronária descendente esquerda. Após a toracotomia, o passo seguinte consistiu no rompimento da camada de pericárdio e exposição do coração, para que fosse possível realizar a crioinjúria propriamente dita, causando assim um processo de isquemia e infarto na região ventricular esquerda.

Esse método consiste na utilização de uma haste metálica com cerca de 5mm imersa em nitrogênio líquido por 30 minutos antes do início do procedimento. Com o coração exposto e a haste já refrigerada, foram realizados testes onde a haste foi colocada em contato direto com a região apical do ventrículo esquerdo por 5 segundos na primeira situação, criando assim uma lesão semi-transmural que se assemelha ao infarto, devido ao comprometimento da parede ventricular e função mecânica do coração, enquanto que na segunda situação a haste foi colocada pelo mesmo período de tempo em contato com a região anterior a bifurcação da artéria coronária descendente esquerda (Figura 8).

Figura 8. Representação esquemática da técnica de crioinjúria. (a) Incisão na pele; (b) Toracotomia lateral no quarto espaço intercostal e abertura da caixa torácica; (c) crioinjúria.



Fonte: MAHMOUD et al., 2014 (Adaptado)

Por fim, o coração foi devolvido ao interior da caixa torácica e teve início o processo de sutura das costelas, musculatura e pele, utilizando, bem como a retirada da cânula da traqueia e sutura dos anéis e da musculatura e pele do pescoço. Em seguida, foi borrifado mais um pouco de álcool iodado nas regiões de sutura para evitar processos infecciosos e o animal foi levado para recuperação em condições normais.

4.5. Indução do infarto por crioinjúria em animais neonatais

Antes de iniciar o procedimento cirúrgico os animais foram anestesiados em baixas temperaturas em um processo denominado hibernação. Os animais foram envoltos em gaze para que não houvesse nenhum tipo de lesão superficial devido ao contato direto com o gelo, e em seguida foram introduzidos em uma caixa térmica com gelo por 10 minutos. Ao fim desse período, os animais foram retirados do gelo e realizada a assepsia com álcool 70°GL antes de iniciar o procedimento cirúrgico.

Para iniciar o procedimento, os animais foram imobilizados em posição de decúbito dorsal e foi realizada a toracotomia através de uma incisão no espaço intercostal entre a terceira e quarta costela do lado esquerdo. Em seguida, toda a camada muscular foi divulsionada como auxílio de uma pinça de ponta curvada até ser possível visualizar as costelas. Após a visualização, foi realizado um pequeno corte entre essas costelas e com o auxílio de uma separador foi possível visualizar o interior da caixa torácica, bem como o coração. O passo seguinte consistiu no rompimento da camada de pericárdio e exposição do coração, para que fosse possível expor o mesmo e realizar a crioinjúria propriamente dita na região apical pelo período de 5 segundos, causando assim um processo de isquemia e infarto na região ventricular esquerda (Figura 8).

4.6. Ecocardiografia

Após os procedimentos de indução do infarto nos animais neonatais, ao 35º dia de vida, foi realizada a técnica de ecocardiografia para verificar a função cardíaca dos animais, sendo avaliado os diâmetros sistólicos e diastólicos em cada grupo e assim

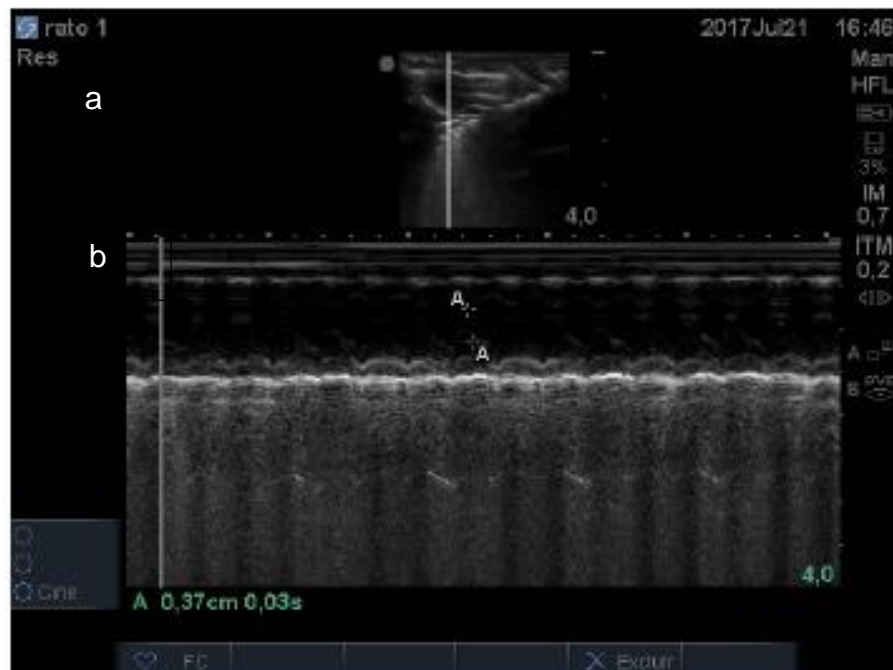
analisar se houve alteração significativa dos padrões através da fração de encurtamento, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Fração de encurtamento} = \frac{LVED - LVES \times 100\%}{LVED}$$

Para realizar a ecocardiografia, todos os animais foram pesados e anestesiados na região intraperitoneal utilizando a dose padrão correspondente ao peso do animal. Em seguida, na região peitoral foi aplicado um creme depilatório com auxílio de uma haste flexível para a retirada dos pelos, e então a região foi higienizada.

Para analisar os parâmetros de diâmetro diastólico e sistólico, foi aplicado um gel condutor e as imagens nos modos bidimensional e modo M foram obtidas a partir do equipamento de ecocardiografia portátil FUJIFILM SonoSite, modelo M-Turbo Ultrasound System B (Figura 9).

Figura 9. Representativo dos modos M e bidimensional em ecocardiografia.(a) Modo M; (b) Modo bidimensional.



Fonte: Autoria própria

RESULTADOS

5. RESULTADOS

Durante as tentativas de padronizar e implementar a indução de infarto por técnicas cirúrgicas foram utilizados um total de 85 animais subdivididos nos grupos de crioinjúria, crioinjúria de neonatos e ligação da artéria descendente esquerda com e sem respiração artificial (Tabela 1).

Tabela 1: Resultados das técnicas utilizadas para indução de infarto

RESULTADOS DAS TÉCNICAS UTILIZADAS		
TÉCNICA	QUANTIDADE DE ANIMAIS	PROBLEMA
Ligação da artéria coronária com respirador	15 ratos adultos	Óbito durante o procedimento
Ligação da artéria coronária sem respirador	13 ratos adultos	Resultados não satisfatórios
Crioinjúria	40 ratos adultos	Óbito durante o procedimento
Crioinjúria	17 ratos neonatais	Não houve lesão significativa

5.1. Crioinjúria

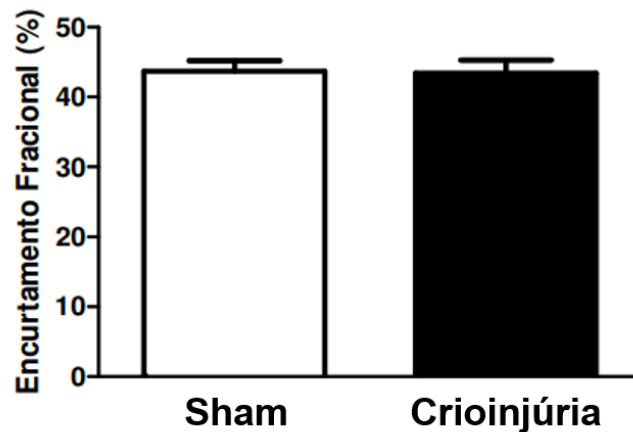
Para esse procedimento foram utilizados 40 animais. 25 deles foram submetidos a crioinjúria na região do ápice e os outros 15 submetidos a crioinjúria na região anterior a bifurcação da artéria coronária descendente esquerda. Independente do método utilizado, os animais submetidos as cirurgias não puderam passar pela técnica de ecocardiografia para analisar padrões diastólicos e sistólicos, pois os mesmos chegaram a óbito durante o procedimento por fatores como resistência ao anestésico, instabilidade da frequência respiratória, determinação do local e tempo de contato da haste metálica com a superfície do tecido cardíaco.

5.2. Crioinjúria em neonatos

Para esse procedimento foram utilizados 17 animais, sendo 9 animais submetidos a crioinjúria na região apical e os outros 8 submetidos apenas a abertura da caixa torácica, caracterizando um animal sham. A crioinjúria foi realizada ao 5º dia de vida e após 30 dias os animais foram submetidos a ecocardiografia para analisar se houve alguma alteração significativa quando comparado ao grupo sham. Os resultados obtidos após as análises demonstraram que não houve alteração

significativa no encurtamento fracional entre o grupo sham e o grupo que sofreu crioinjúria, indicando que a lesão cardíaca não foi estabelecida adequadamente (Figura 10).

Figura 10. Gráfico representativo do encurtamento fracional entre grupos controle e com crioinjúria, indicando que não houve diferença significativa.



5.3. Ligação da artéria descendente esquerda com utilização do respirador mecânico

Para esse procedimento foram utilizados um total de 15 animais. Entretanto, os mesmos não passaram pela técnica de ecocardiografia para analisar padrões diastólicos e sistólicos, pois os mesmos chegaram a óbito antes ou durante o procedimento devido a diversos fatores como: dificuldade de padronização da dose de anestésico a ser utilizada, instabilidade da frequência respiratória, além do grande comprometimento da função cardíaca. Assim sendo, desse total de animais, dois chegaram ao óbito devido à grande sensibilidade ao anestésico, enquanto o restante devido a complicações durante o procedimento, chegaram ao óbito durante a cirurgia.

5.4. Ligação da artéria descendente esquerda sem utilização do respirador mecânico

Como alternativa para as dificuldades na padronização das cirurgias de indução de infarto com a utilização do respirador, foram utilizados 13 animais para a indução do infarto sem utilização do respirador, onde desse total, apenas 4 animais conseguiram sobreviver ao pós-cirúrgico. Entretanto, durante o período de recuperação metade desse grupo sofreu parada cardiorrespiratória e chegaram ao óbito. Um dos animais sobreviventes foi sacrificado devido a complicações em outros

órgãos não relacionados com o procedimento cirúrgico como processos inflamatórios no tecido pulmonar, além de problemas inflamatório no ouvido esquerdo. Um único animal permaneceu vivo após a recuperação da anestesia e procedimento cirúrgico, sendo mantido sobre observação por mais uma semana.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Para a implementação das técnicas de indução do infarto inicialmente houve a dificuldade relacionada a ausência de material adequado para realizar a ventilação artificial dos animais, que é de extrema importância para que os mesmos permaneçam estáveis e sem nenhum incômodo durante o procedimento cirúrgico no coração. Após a aquisição do equipamento, foi possível realizar a indução de infarto através da ligação da artéria coronária descendente esquerda, método mais aceito na literatura científica. Durante a tentativa de padronização da técnica outros problemas foram enfrentados limitando a obtenção de resultados positivos. O primeiro deles consiste na dificuldade de padronização de doses efetivas de anestésicos, uma vez que alguns animais apresentavam grande sensibilidade a dose padrão estabelecida na metodologia, enquanto outros apresentavam resistência a mesma dose. Aqueles que apresentavam grande sensibilidade morreram 5 minutos após a administração do anestésico. Para os animais que apresentavam resistência a dose antes ou durante o procedimento cirúrgico, fez-se necessário aplicar uma dose de 1/3 da dose total para aprofundar o efeito. Nesses animais restantes, ao realizar a ligação da artéria coronária nos animais foi constatado que durante o procedimento não apenas a artéria sofria a lesão, mas também uma parte considerável da câmara ventricular, causando assim uma lesão indesejável e que ocasionava grande debilidade e perda da função cardíaca que não estava dentro do perfil esperado, chegando ao óbito durante o procedimento cirúrgico.

Partindo dessas dificuldades encontradas antes e durante o procedimento, optou-se por aderir a um método alternativo de indução do infarto, sendo esse por meio da técnica de crioinjúria. A técnica de crioinjúria consiste no contato direto de uma haste metálica resfriada anteriormente em nitrogênio líquido com a superfície do coração dos animais, seja ela em contato com a região apical ou com a região anterior a bifurcação da artéria coronária esquerda descendente, causando assim uma lesão no local. Antes do procedimento, alguns animais também apresentaram uma certa resistência a dose do anestésico, adiando o início do procedimento, sendo necessário aplicar uma dose de 1/3 da dose total para aprofundar o efeito. Em seguida, durante o procedimento algumas variações não bem definidas mas que podem estar precocemente relacionadas a não estabilização adequada da frequência respiratória

ou da pressão intratorácica, ou ainda o tempo e o local inadequado de contato da haste com a superfície, fizeram com que os animais que foram submetidos a essa técnica chegassem a óbito após o procedimento. Os animais que sofreram crioinjúria na região anterior a bifurcação chegaram ao óbito logo após ao contato direto da haste com a região, isso pode ser justificado pelo fato de que a área de comprometimento e de lesão seria muito mais significativa, comprometendo a artéria, o local de contato da haste, bem como toda a região posterior a área lesionada devido a interrupção do fluxo sanguíneo. Já os animais que sofreram lesão apenas na região apical chegaram ao óbito durante o procedimento após a lesão devido à instabilidade da frequência respiratória.

Tomando como base esses resultados negativos e resultados positivos obtidos anteriormente por nosso grupo de estudo, optou-se por realizar a crioinjúria na região apical de animais neonatos com 5 dias, uma vez que já se sabe que esse procedimento é bem estabelecido e sucedido. Essa metodologia foi aderida na tentativa de obter resultados já na fase adulta do animal, para que então através da técnica de ecocardiografia fosse possível analisar alterações funcionais e estruturais nos corações infartados. Após realizar o procedimento e aguardar um período de 30 dias, os animais foram submetidos ao método de ecocardiografia para analisar possíveis alterações cardíacas e constatar alterações consideráveis no diâmetro sistólico e diastólico entre os grupos que sofreram a crioinjúria e aqueles que não sofreram. Os resultados obtidos após as análises demonstraram que não houve diferença significativa no encurtamento fracional entre o grupo sham e o grupo que sofreu crioinjúria. Essa alteração não significativa entre os grupos pode ser justificada pela relação massa do coração e tecido cicatricial formado após a lesão no local. Isso implica no fato de que, com o desenvolvimento do animal e o crescimento do órgão, a cicatriz decorrente da lesão se mantém em tamanho desproporcional ao tamanho do coração, sendo a área considerada pequena e insuficiente para causar debilidade e disfunção no tecido cardíaco que mimetize o infarto agudo do miocárdio. Entretanto, ao utilizar essa técnica não foram encontradas maiores dificuldades relacionadas a anestesia ou a ventilação artificial, uma vez que animais neonatos hibernam no gelo como anestesia antes de procedimentos cirúrgico, não necessitando de doses de anestésico ou traqueostomia para manter a estabilidade respiratória durante o procedimento.

A fim de retomar ao método mais aceito na literatura científica para a indução cirúrgica de infarto agudo do miocárdio, optou-se por realizar novamente a ligação da artéria coronária esquerda descendente, desta vez sem a utilização do respirador mecânico, buscando eliminar assim uma das limitações enfrentadas inicialmente para implementar essa técnica. Entretanto, nesta técnica também foram enfrentados problemas relacionados a resistência dos animais a dose de anestésico utilizada, sendo necessário antes do procedimento aplicar novamente uma dose de 1/3 da dose total para aprofundar o efeito. Dos 13 animais utilizados para a indução do infarto sem o respirador, apenas 4 animais conseguiram sobreviver ao pós-cirúrgico. Isso deve-se ao fato de que com a ausência do respirador, todo o processo de abertura da caixa torácica, ligação da artéria e sutura da caixa torácica deve ser realizado da forma mais ágil, e então culminar em resultados possivelmente positivos. Entretanto, durante o período de recuperação, dois animais desse grupo sofreram parada cardiorrespiratória e chegaram ao óbito, mesmo com tentativas de ventilação manual e massagem cardíaca. Um dos animais restantes foi sacrificado devido a complicações em outros órgãos não relacionados com o procedimento cirúrgico, como processos inflamatórios no tecido pulmonar, comprometendo a capacidade respiratória e recuperação da anestesia e do procedimento cirúrgico, além de problemas inflamatório no ouvido esquerdo. O único animal capaz de sobreviver após o procedimento cirúrgico permaneceu sobre observação por mais uma semana para analisar a capacidade de recuperação. A sobrevivência desse animal abre portas para maiores esforços na tentativa de implementar efetivamente essa técnica.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Quanto a comparação entre as técnicas, não foi possível uma análise comparativa adequada devido a problemas na sobrevivência dos animais, sendo assim, destacamos que ainda existem muitas dificuldades a serem superadas em relação a implementação das técnicas de indução de infarto em ratos adultos, uma vez que a execução das atividades determinantes para a conclusão da padronização e implementação foram dificultadas devido a fatores de grande sensibilidade ou de resistência relacionadas a dose de anestésico utilizado, comprometimento de outros órgãos não relacionados ao procedimento cirúrgico, afetando a recuperação pós-operatória, além de dificuldades encontradas em manter o animal estável durante o procedimento cirúrgico. Entretanto, os experimentos realizados com animais sem a utilização do respirador parecem promissores, sendo necessário empregar maiores esforços para obter sua implementação. Apesar das dificuldades encontradas, alguns esforços já estão sendo realizados para evitar essas variáveis indesejadas e conseguir alcançar os resultados esperados para realizar novos estudos a partir da implementação dessas técnicas de indução de infarto em animais adultos.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ANDERSON, R. H. et al. **Anatomy of the cardiac chambers**. In: ANDERSON, R. H. et al. *Wilcox's Surgical Anatomy of the Heart*. 4. ed. Cambridge University: Cambridge, 2013. Cap. 2. p. 13-50.

ANDERSON, Jeffrey L.; MORROW, David A. Acute myocardial infarction. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 21, p. 2053-2064, 2017.

ARAÚJO, Isabella Félix Meira et al. Perfil da população acometida por infarto agudo do miocárdio. **Revista de enfermagem UFPE**, v. 10, n. 7, p. 2302-2309, 2016.

BOATENG, Stephen; SANBORN, Timothy. Acute myocardial infarction. **Disease-a-Month**, v. 59, n. 3, p. 83-96, 2013.

BOERSMA, Eric et al. Acute myocardial infarction. **The Lancet**, v. 361, n. 9360, p. 847-858, 2003.

DANAEI, Goodarz et al. The global cardiovascular risk transition: associations of four metabolic risk factors with macroeconomic variables in 1980 and 2008. **Circulation**, 2013.

DE LEMOS J. Increasingly sensitive assays for cardiac troponins: a review. **Jama**, v. 309, n. 21, p. 2262-2269, 2013.

DEPARTAMENTO DE INFORMÁTICA DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (DATASUS). Sistema de Informações sobre Mortalidade. **Óbitos por residência por ano do óbito segundo capítulo CID-10** [cited 2015 Nov. 2].

FISHBEIN, M. C.; MACLEAN, D.; MAROKO, P. R. Experimental myocardial infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. **The American journal of pathology**, v. 90, n. 1, p. 57, 1978.

FONSECA, A.M. et al. Infarto agudo do miocárdio: Levantamento de sua ocorrência em homens atendidos de 2008-2012 em um serviço de urgência e emergência de Passos (MG). **Ciência et Praxis**, v. 6, n. 12, p. 29-34, 2013.

GIANNITSIS E., KATUS H. Cardiac troponin level elevations not related to acute coronary syndromes. **Nat Rev Cardiol**, v. 10, n. 11, p. 623 – 634, 2013.

GO, A.S. et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2013 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v.127, n. 1, p. 143-152, 2013.

GONZÁLEZ-ROSA, Juan Manuel et al. Extensive scar formation and regression during heart regeneration after cryoinjury in zebrafish. **Development**, v. 138, n. 9, p. 1663-1674, 2011.

HEIMBURGER, ROBERT F. Injection into pericardial sac and ligation of coronary artery of the rat. **Archives of Surgery**, v. 52, n. 6, p. 677-689, 1946.

HORTON R. Chronic diseases—the social justice issue of our time. **Lancet**, v.386, n. 10011, p. 2378, 2015.

IBRAHIM, Tareq et al. Acute myocardial infarction: serial cardiac MR imaging shows a decrease in delayed enhancement of the myocardium during the 1st week after reperfusion. **Radiology**, v. 254, n. 1, p. 88-97, 2009.

JAMES, Paul A. et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **Jama**, v. 311, n. 5, p. 507-520, 2014.

JOHNS, Thomas NP; OLSON, Byron J. Experimental myocardial infarction: I. A method of coronary occlusion in small animals. **Annals of surgery**, v. 140, n. 5, p. 675, 1954.

KAUFMAN, N.; GAVAN, T. L.; HILL, R. W. Experimental myocardial infarction in the rat. **AMA archives of pathology**, v. 67, n. 5, p. 482, 1959.

KLOCKE, Rainer et al. Surgical animal models of heart failure related to coronary heart disease. **Cardiovascular research**, v. 74, n. 1, p. 29-38, 2007.

KUMRAL, Z. N. et al. Regular exercise alleviates renovascular hypertension-induced cardiac/endothelial dysfunction and oxidative injury in rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 67, n. 1, p. 45-55, 2016.

LACCHINI, S.; IRIGOYEN, M. C.. **Estrutura e Função do Sistema Cardiovascular**. In: ARIES, Margaria de Mello. Fisiologia. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. Cap. 27. p. 280-386.

MAHMOUD, Ahmed I; PORELLO, Enzo R; KIMURA, Wataru; OLSON, Eric N; SADEK, Hesham A. Surgical models for cardiac regeneration in neonatal mice. **Nature protocols**, v.9, n.2, p. 305-311, 2014.

MASCENA, Guilherme Veras et al. Fatores de risco cardiovascular em estudantes da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 45, n. 3, p. 322-328, 2012.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T.v.n.; TORCHIA, Mark G.. **Desenvolvimento inicial do coração e dos vasos sanguíneos**. In: MOORE, Keith L.; PERSAUD, T.v.n.. Em Mark G. Torchiabriologia clínica. 9ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. Cap. 13. p. 289-295.

NASCIMENTO, Evania. Infarto agudo do miocárdio: levantamento de sua ocorrência em homens atendidos de 2008-2012 em um serviço de urgência e emergência de Passos (MG). **Ciência et Praxis**, v. 6, n. 12, p. 29-34, 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - PAHO. Doenças cardiovasculares. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839>. Acesso em: 30 mai. 2018.

POLIZZOTTI, Brian D. et al. A cryoinjury model in neonatal mice for cardiac translational and regeneration research. **Nature protocols**, v. 11, n. 3, p. 542, 2016.

PORRELLO, E. R. et al. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. **Science**. v. 331, p. 1078-80, 2011.

SANCHIS-GOMAR, Fabian et al. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. **Annals of translational medicine**, v. 4, n. 13, 2016.

SELYE, H. et al. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. **Angiology**, v. 11, n. 5, p. 398-407, 1960.

SILVA, Paulo Rafael Fonseca et al. Avaliação do retardo pré-hospitalar no cuidado ao infarto agudo do miocárdio no Centro Oeste de Minas Gerais, Brasil. *Rev Med Minas Gerais*, v. 25, n. 3, p.353-362, 2015.

SIMÃO, Antônio Felipe et al. I Diretriz Brasileira de Prevenção Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol**, v. 101, n. 6, p. 1-63, 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA - SBC. Cardiômetro. Disponível em: <<http://www.cardiometro.com.br/antiores.asp>>. Acesso em: 30 mai. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Global status report on noncommunicable disease 2017. Geneva; 2017.

ZORNOFF, Leonardo Antônio Mamede et al. Infarto do miocárdio experimental em ratos: análise do modelo. **Arq Bras Cardiol**, v. 93, n. 3, p. 434-440, 2009.