

**Efeitos da Terapia Ultrassônica de Baixa
Intensidade Sobre o Infarto Agudo do Miocárdio
em Ratos**

Edineuza Aparecida de Freitas

Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas
(Fisiologia Cardiovascular)

Mestrado em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, agosto de 2010

Efeitos da Terapia Ultrassônica de Baixa Intensidade Sobre o Infarto Agudo do Miocárdio em Ratos

Edineuza Aparecida de Freitas

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Aprovada em: 20/08/2010

Prof. Dr^a. Glauca Rodrigues Abreu – Orientadora, UFES

Prof. Dr^a. Sônia Alves Gouvêa - UFES

Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira - NDI

UNIVERSIDA FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Vitória, agosto de 2010

Com a mente livre de ilusões disponho-me a seguir a vontade de Deus. Peço a Deus que me revele a sua vontade”.

(Masaharu Taniguchi)

Agradecimentos

À Deus por ter me concedido a graça de persistir e ultrapassar muitos embaraços que aconteceram.

Aos meus pais, principalmente a minha mãe, que sempre acreditou em mim, mesmo quando parecia tudo impossível. À minha irmã que também incentivou-me.

Ao meu esposo pela paciência, incentivo, carinho e dedicação.

À professora Glaucia Rodrigues Abreu que não cerrou às portas para meu ingresso no mestrado. Obrigada professora pela oportunidade que me concedeu, obrigada pela paciência.

À professora Sônia Gouvêa, que tão sabiamente foi uma luz na minha vida, neste período. Sônia muito, muito obrigada.

Ao professor Fausto Edmundo que pacientemente se dispôs a me ajudar na confecção das lâminas. Obrigada professor pelos ensinamentos, pelas sugestões.

Ao Washington Luiz pela idéia inicial do projeto, pelos ensinamentos, pelo incentivo.

À minha grande amiga Nágila Sueli Rabelo que vem me acompanhando e me incentivando.

À minha grande amiga do tempo da faculdade Rosilane Gomes F.Ferraz que desde aquela época me incentivava.

À minha grande amiga Elina Silveira que também acreditou em mim.

À minha grande amiga Rubia Mara Pevidor pelo apoio nos momentos difíceis, pelos momentos compartilhados, por tantas semelhanças que nos aproximam e faz com que nossa amizade seja sempre sólida.

Aos amigos do laboratório, Patrick Wander, Mariana Veronez, Cíntia Helena, Walkíria Romero e Andressa Bolsoni, pelos momentos compartilhados, pelos ensinamentos, muito obrigada.

Ao Enildo Broeto pela disponibilidade em sempre me ajudar, realizando o procedimento cirúrgico do infarto, preparando soluções. Obrigada pelos ensinamentos, pelas conversas.

À minha amiga Juliere pelo auxílio prestado em muitos momentos.

Ao Rafael Oliozi que muito me ajudou na avaliação das lâminas.

Aos funcionários, professores e colegas do programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFES.

Resumo

Introdução. O infarto agudo do miocárdio (IAM) é considerado importante causa de morbidade e mortalidade no mundo e no Brasil. Novas intervenções terapêuticas estão sendo testadas isoladas ou em associação com as já existentes com o intuito de impedir a progressão ou atenuar o remodelamento no coração infartado. Dentre elas destaca-se a aplicação do Ultra-som (US) conjunto com agentes trombolíticos. Entretanto, na aplicação da energia ultrassônica como terapêutica pós-infarto é avaliado somente o seu possível efeito como agente trombolítico, não sendo investigado a sua possível implicação no processo de cicatrização da área infartada e parâmetros funcionais cardíacos. **Objetivos.** Diante dessas informações, nós objetivamos avaliar os efeitos da terapia ultrassônica transtorácica não-invasiva de baixa intensidade (NITUS) sobre a morfologia e função do músculo cardíaco de ratos infartados cirurgicamente após o 5° e 30° dia. **Metodologia.** Ratos machos Wistar (200-250g) foram pesados e divididos aleatoriamente em oito grupos com oito animais em cada grupo. Quatro grupos de animais foram submetidos à indução do IAM através da oclusão permanente da artéria coronária descendente anterior esquerda, sendo que dois destes grupos foram sacrificados no 5° dia após o IAM e as cinco aplicações da terapia ultrassônica e os outros dois grupos foram sacrificados no 30° dia após o IAM e as 5 aplicações da terapia ultrassônica. Quatro grupos de animais foram submetidos à cirurgia fictícia (Sham), sendo que dois destes grupos foram sacrificados no 5° dia após a cirurgia fictícia e as 5 aplicações da terapia ultrassônica e os outros dois grupos foram sacrificados no 30° dia após a cirurgia fictícia e as 5 aplicações da terapia ultrassônica. Os parâmetros da terapia ultrassônica foram frequência de 1MHz, potência de $1\text{W}/\text{cm}^2$, modo pulsado e tempo de aplicação de 5 minutos. Para avaliação dos parâmetros funcionais foi realizado registros hemodinâmicos de todos os grupos e após a coleta dos registros os corações foram retirados para análise morfométrica a fim de avaliar a área da cicatriz do infarto. Os corações foram cortados em 4 fatias sendo retirados 3 cortes com espessura de 8 micrômetros da terceira fatia do ápice para a base, e estes foram corados com picrossírius. Foi utilizada uma câmera de vídeo para capturar uma área que contivesse todo o corte. A imagem era capturada com a

utilização do programa AMCap e após a captura, esta era arquivada. A imagem arquivada era transferida para o programa ImageJ 1.42q/java no qual era marcada a área da cicatriz. De modo semelhante, era marcada toda a área da parede ventricular, para se obter a relação entre a área da cicatriz e a área total da parede ventricular. **Resultados.** No que concerne aos parâmetros hemodinâmicos, observamos que 30 dias após o IAM houve redução na pressão diastólica final (PDF) (mmHg) do grupo IAM+US quando comparado com grupo IAM (15 ± 1.9 e 26 ± 1.4 ; $p < 0.01$ respectivamente). Não houve diferença significativa na área da cicatriz do infarto entre os grupos IAM e IAM+US no 5º. dia após infarto ($31.6\% \pm 3.1\%$ e $34.5\% \pm 1.6$, respectivamente). Houve redução da área da cicatriz do infarto no grupo IAM+US quando comparado ao grupo IAM ($21.5\% \pm 1.4\%$ e $26.2\% \pm 1.7\%$; $p < 0.05$, respectivamente) no 30º dia após IAM. **Conclusão.** A terapia com US dentro dos parâmetros estabelecidos, reduziu a área da cicatriz do infarto no grupo IAM+US (30 dias) bem como manteve a PDF dentro de valores fisiológicos, provavelmente por exercer influência nas fases inflamatória, proliferativa e de remodelamento, o que favorece um aumento na velocidade da resposta inflamatória por meio da mobilização de células inflamatórias como neutrófilos, macrófagos, ao mesmo tempo em que estimulou à degranulação dos mastócitos, bem como interferiu na mobilização leucocitária.

Palavras-chaves: Ultra-som, Infarto do Miocárdio, Remodelamento

Abstract

Background. The acute myocardial infarction is important cause of the mortality and morbidity in the world and Brazil. New therapeutic interventions are being tested isolated or in association with the already existing with the goal of preventing the progression or attenuate the remodeling in the heart infarcted. Among which-if the application of ultrasound (US) together with thrombolytic agents. However, in application of the energy ultrasonics as therapeutics post-infarction is evaluated only its possible effect as the agent thrombolytic, not being investigated to its possible involvement in the process of cicatrization of the area infarctada cardiac and functional parameters. **Aims.** In the face of such information, we aimed evaluate the effects of therapy ultrasonics transthoracic non-invasive of low intensity (NITUS) on the morphology and function of cardiac muscle of rats infarcted myocardial surgically after the 5th and 30th day. **Methods.** Male Wistar rats (200-250g) were weighed and randomly divided into eight groups with eight animals in each group. Four groups of animals were submitted to the induction of myocardium infarction through the occlusion permanent of the coronary artery descending left anterior, being two of these groups were sacrificed on the 5th day after the infarction and the five applications of therapy ultrasonics and the other two groups were sacrificed on the 30th day after the infarction and 5 applications of therapy ultrasonics. Four groups of animals were submitted to false-surgery (Sham), and two of these groups were sacrificed on the 5th day after false-surgery and the 5 applications of therapy ultrasonics and the other two groups were sacrificed on the 30th day after false-surgery and the 5 applications of therapy ultrasonics. The parameters of therapy ultrasonics were frequency of 1MHz, power $1\text{W}/\text{cm}^2$, pulsed and time of application of 5 minutes. For the assessment of functional parameters was performed hemodynamic measurements of all the groups and after measurements the hearts were removed for morphometric analysis in order to assess the area of the scar of infarction. Hearts were cut in 4 slices being removed 3 cuts with a thickness of 8 micrometers of the third slice apical to base, and these were stained with picosirius. Was used a video camera to catch an area which contained all the cuts. The image was caught with the use of the program AMCap and after the catch, this was filed. The stored image was

transferred to the program ImageJ 1.42q /java which was marked the area of the scar. Similarly, was marked throughout the area of ventricular wall, in order to obtain the relationship between the area of the scar and the total area of ventricular wall. **Results.** As regards the hemodynamic parameters, we observed that 30 days after the infarction there was a reduction in end diastolic pressure (PDE) (mmHg) of the group infarction + US when compared with group infarction (15 ± 1.9 and 26 ± 1.4 , $p < 0.01$, respectively). No significant difference in the area of the scar infarction between groups infarction and infarction+US in 5. day after acute myocardial infarction ($31.6\% \pm 3.1\%$ and $34.5\% \pm 1.6$, respectively). There was reduction in the area of the scar infarction in the group infarction+US when compared to group infarction ($21.5\% \pm 1.4\%$ and $26.2\% \pm 1.7\%$; $p < 0.05$, respectively) on the 30th day after acute myocardial infarction. **Conclusions.** The therapy with US inside the established parameters, reduced the area of the scar of the infarction the group infarction+US in the 30th days as well as it maintained the PDE inside physiologic values, probably because of influence in the phases inflammatory, proliferativa and of remodeling, which favors an increase in the speed of the inflammatory answer through the mobilization of inflammatory cells like neutrophils, macrophage, at the same time in which it stimulated to the degranulação of the mastocitos, which interfered in the mobilization of the leucocytos.

Key words: Ultrasound, Myocardial infarction, Remodelling

Lista de Abreviaturas

IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
MMPs	Metaloproteinases
TIMPs	Inibidores teciduais das metaloproteinases
TGF- beta 1	Fator de Crescimento Transformante - beta 1
ERO	Espécie reativa de oxigênio
TNF-alfa	Fator de necrose tumoral – alfa
AngII	Angiotensina–II
ECA	Enzima conversora de angiotensinogênio
US	Ultra-som
NO	Óxido nítrico
NITUS	Terapia ultrassônica não-invasiva
VE	Ventrículo esquerdo
PDF	Pressão diastólica final
PSVE	Pressão sistólica do ventrículo esquerdo
PDVE	Pressão diastólica do ventrículo esquerdo
dP/dt +	Derivada máxima de pressão
dP/dt -	Derivada mínima de pressão
PAM	Pressão arterial média
FC	Frequência Cardíaca

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO -----	12
2 OBJETIVOS -----	21
2.1 Objetivo Geral-----	21
2.2 Objetivos Específicos-----	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS -----	22
3.1 Animais de Experimentação-----	22
3.2 Grupos Experimentais-----	22
3.3 Protocolos Experimentais-----	23
3.4 Procedimentos Experimentais-----	24
3.4.1 Indução do IAM -----	24
3.4.2 Terapia ultrassônica não-invasiva-----	24
3.4.3 Registros hemodinâmicos-----	25
3.4.4 Preparo dos tecidos e análise morfométrica -----	26
3.5 Análise estatística-----	27
4 RESULTADOS -----	28
4.1 Parâmetros hemodinâmicos-----	28
4.2 Efeito da terapia ultrassônica sobre a área da cicatriz do infarto-----	30
5 DISCUSSÃO -----	34
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	39

1. INTRODUÇÃO

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é considerado importante causa de morbidade e mortalidade no mundo (Srinivas et al., 2009) e no Brasil (DATASUS, 2005). Frequentemente está associado a fatores como hipertensão arterial, tabagismo, dislipidemia, diabetes, obesidade abdominal e etilismo que se correlacionam para o seu desenvolvimento (Lanas et al., 2007; Anand et al., 2008).

Após o IAM, é instalado um processo denominado remodelamento ventricular, que pode acometer tanto miocárdio infartado quanto miocárdio sadio também denominado “viável” (Yarbrough et al., 2003; Mill et al., 1990).

O remodelamento ventricular é mediado por mudanças estruturais progressivas nos miócitos e na matriz extracelular, levando a um quadro de dilatação ventricular progressiva, hipertrofia de miócitos, com conseqüente alteração na forma do coração (de elíptico para esférico) (Zornoff e Spadaro, 1997) e expansão do infarto bem como prejuízo na função contrátil (Sutton et al., 2003; Zornoff et al., 1997; Pfeffer et al., 1990).

O início do processo de remodelamento é demarcado pelo surgimento de um quadro inflamatório na região infartada, caracterizado pelo infiltrado de células inflamatórias e ativação de enzimas latentes do miocárdio (Yang et al., 2002).

Inicialmente ocorre a ativação de endoproteinases presentes no miocárdio, as metaloproteinases (MMPs), que degradam a matriz extracelular e a vasculatura coronariana, resultando em um adelgaçamento e dilatação ventricular, o que leva a um aumento do estresse na parede ventricular durante a sístole e diástole (Pfeffer e Braunwald, 1990). O aumento do estresse na parede ventricular é um potente estímulo para a hipertrofia mediada por mecanoreceptores, com sinalização local e sistêmica, via Angiotensina II (AngII) (Martin et al., 2000). A atividade proteolítica das MMPs declina no final da primeira semana, que coincide com o aumento da expressão dos inibidores teciduais das MMPs (TIMPs) (Sun, 2009; Pfeffer, 1995).

O número de neutrófilos aumenta significativamente na borda do infarto e no miocárdio infartado nos quatro primeiros dias e a partir da segunda semana o seu número declina (Yang et al., 2002). Os macrófagos por sua vez,

chegam ao local no segundo dia e sua infiltração tende a diminuir depois de quatro dias, permanecendo elevada até o décimo quarto dia. A infiltração linfocitária tem o seu pico após uma semana e então, reduz gradualmente até o vigésimo primeiro dia após a oclusão. A infiltração destas células inflamatórias para dentro da área infartada é facilitada pela atividade das MMPs (Yang et al., 2002; Frangogiannis et al., 2002).

O componente fibrogênico por sua vez, que irá substituir o tecido perdido, começa a ser formado a partir do terceiro dia. As células responsáveis pela formação do tecido fibrótico no local do infarto, consiste principalmente de fibroblastos fenotipicamente transformados, ou seja, os miofibroblastos, que são encontrados no local do infarto logo após a chegada das células inflamatórias. Existem fatores que facilitam a diferenciação de alguns tipos celulares como os fibroblastos intersticiais, monócitos circulantes e fibrócitos, em miofibroblastos na região infartada. Evidências suportam o papel preponderante desempenhado pelo Fator de Crescimento Transformante (TGF- β 1) produzido pelos macrófagos neste processo de diferenciação. Estas células rapidamente se proliferam formando a cicatriz via expressão de colágeno fibrilar tipo I e tipo III. Os miofibroblastos apresentam microfilamentos de músculo liso o que permite que estas células se contraíam e desse modo favoreça a contração da cicatriz (Sun, 2009; Sun, 2000).

Os fibroblastos intersticiais, por sua vez, são responsáveis pela fibrose intersticial e perivascular na área remota do infarto nos estágios mais tardios, não havendo evidências da participação dos miofibroblastos neste processo. Fibras colágenas são morfologicamente evidentes na primeira semana pós-infarto ao passo que o tecido cicatricial organizado é evidente na segunda semana (Sun, 2009; Frantz et al., 2009).

Múltiplos fatores podem interferir no remodelamento ventricular nos diferentes estágios pós-infarto, seja reduzindo a sua extensão ou potencializando, uma vez que é um processo dinâmico e que envolve todos os três componentes do miocárdio: miócitos, matriz extracelular e microcirculação (Sutton et al., 2003; Sutton e Sharpe, 2000; Olivetti et al., 1991).

Várias evidências experimentais demonstram que o estresse oxidativo desempenha um papel relevante durante o remodelamento que ocorre quando a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) é aumentada ou quando os

agentes antioxidantes têm sua ação suprimida (Sun, 2007). Após o infarto, tanto a região infartada quanto a não infartada desenvolve estresse oxidativo, uma vez que uma das enzimas (NADPH oxidase) responsáveis pela formação das ERO tem sua expressão aumentada, já que células da resposta inflamatória que expressam essa enzima, como os neutrófilos e macrófagos, encontram-se em números elevados no miocárdio infartado (Horj e Nishida, 2009). Alguns estudos apontam para o prejuízo na capacidade antioxidante, como por exemplo a redução na superóxido dismutase e catalase, como sendo o responsável pelo estresse oxidativo no miocárdio infartado e nas áreas viáveis (Lu L et al., 2004).

Os efeitos do estresse oxidativo sobre o processo de remodelamento são vários, podendo ser destacado a ativação de um fator de transcrição, fator Kappa pelas EROS, que estimula a resposta inflamatória, potencializando a infiltração leucocitária, por meio do aumento da expressão de moléculas de adesão vascular e intersticial no miocárdio infartado e aumento na expressão de citocinas como o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- alfa), no local do infarto ou áreas remotas (Sun, 2009; Sun et al., 2004). O estresse oxidativo também estimula a apoptose de cardiomiócitos, hipertrofia miocárdica, aumento na expressão do TGF- β (mediador da fibrogênese) e aumento na atividade das MMPs (Zhao et al., 2009; Lu L et al., 2004; Nichols, 2004).

A Ang II é um outro fator que pode interferir nos estágios do remodelamento. Estudo mostra que no local do infarto há um aumento na concentração da Ang II e que macrófagos e miofibroblastos da região infartada expressam renina além de receptores AT₁ e enzima conversora de angiotensinogênio (ECA) (Mill et al., 1997). Sabe-se que a Ang II derivada dos macrófagos, estimula a expressão da NADPH oxidase, e esta por sua vez estimula a produção de ERO, o que contribui para iniciar a resposta inflamatória. Estudos demonstram também que a Ang II estimula a expressão do TGF- β 1 na região infartada, logo, favorece o desenvolvimento da fibrose cardíaca (Sun 2009; Sun et al., 2006; Sun et al., 1996), além da hipertrofia dos cardiomiócitos (Martin et al., 2000).

Respostas adaptativas são evocadas para manter a homeostasia cardiovascular dentro de limites de normalidade apesar da perda de massa contrátil. Dentre estas respostas destaca-se a elevação do tônus simpático na

fase aguda do evento, visando manter os parâmetros hemodinâmicos (Mill et al., 2001). Contudo, a persistência dessa ativação, pode acarretar prejuízos, uma vez que elevação da descarga simpática aumenta a frequência cardíaca (FC) e o consumo de oxigênio pelo miocárdio podendo deprimir as reservas de substratos de alta energia e dificultar a perfusão do subendocárdio e diminuir o limiar de fibrilação, facilitando assim o aparecimento de taquiarritmias (Zornoff et al., 2002).

Todas as alterações que ocorrem durante o remodelamento, sejam metabólicas, estruturais e moleculares, corroboram para um quadro de disfunção hemodinâmica, a qual está correlacionada à mortalidade. Observa-se aumento na pressão diastólica final a qual está implicada à extensão do infarto. O débito cardíaco por sua vez, tende a reduzir, juntamente à perda da função contrátil do ventrículo esquerdo. Evidencia-se, portanto, que todas as modificações na função ventricular esquerda conduzem a um aumento na complacência pulmonar com um comprometimento na função ventricular direita (Zimmer et al., 1990) e associação com um aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo levando à hipertrofia do ventrículo direito (Pfeffer et al., 1985).

Clinicamente, o remodelamento ventricular pode potencializar o desenvolvimento de arritmias ventriculares e insuficiência cardíaca (Hudson et al., 2006). Quanto maior a extensão do remodelamento ventricular maior é o risco para fatalidades cardiovasculares, principalmente por arritmias, insuficiência cardíaca congestiva e ruptura miocárdica (Sutton et al., 2003; Creemers et al., 2001).

Nos últimos anos, uma gama de agentes terapêuticos tem sido desenvolvidos com o intuito de impedir a progressão ou atenuar o remodelamento no coração infartado. Uma das principais terapias é a de utilização de agentes trombolíticos e intervenção mecânica para a recuperação rápida e precoce do fluxo na artéria acometida. Agentes farmacológicos com ação no sistema-renina-angiotensina (Pfeffer et al., 2003), os bloqueadores do receptores beta-adrenérgicos e nitroglicerina são também utilizados (Fonarow et al., 2007).

Novas intervenções terapêuticas estão sendo testadas isoladas ou em associação com as já existentes. Dentre elas destaca-se a aplicação de ondas

ultrassônicas em conjunto com agentes trombolíticos. Resultados promissores foram obtidos a partir desta associação. Cohen et al., (2003), demonstrou que o ultra-som (US) potencializa a terapia trombolítica. Estudos *in vitro*, demonstram que o US acelera a penetração de fluidos através da rede de fibrina de um trombo, por induzir uma alteração estrutural na rede de fibrina. Este efeito, portanto, aumenta a penetração do agente trombolítico para dentro do trombo, potencializando assim a dissolução do mesmo, conduzindo desse modo a uma melhora na perfusão tecidual (Kornowski et al., 1994).

Entretanto, na aplicação da energia ultrassônica como terapêutica pós-infarto é avaliado somente o seu possível efeito como agente trombolítico, não sendo investigado a sua possível implicação no processo de cicatrização da área infartada e parâmetros funcionais cardíacos, já que o US é um recurso amplamente utilizado nos processos cicatriciais cutâneo e músculo-esquelético (Watson, 2009).

O equipamento de ultra-som consiste de um gerador de corrente elétrica de alta frequência, conectado a uma cerâmica piezoelétrica sintética, que se deforma na presença de um campo elétrico. O ultra-som é uma onda mecânica longitudinal, não audível, com frequência acima de 20 KHz, sendo a energia transmitida pelas vibrações das moléculas do meio pelo qual a onda está se propagando. O meio irradiado oscila ritmicamente com a frequência do gerador ultra-sônico ao comprimir e expandir a matéria. Há, portanto, conversão de energia elétrica em energia mecânica (Speed, 2001; Guirro et al., 1995).

A velocidade da onda ultrassônica é inversamente proporcional à compressibilidade de seu meio de propagação, ou seja, em um meio mais compressível a transmissão é mais lenta. Por outro lado, líquidos e sólidos são menos compressíveis, logo apresentam velocidade de propagação maior (Baker et al., 2005; Guirro et al., 1995).

As ondas ultra-sônicas que atingem determinada região dependem de uma série de fatores, os quais devem ser considerados: intensidade, frequência, regime de pulso, tempo de aplicação e agente de acoplamento (Feril e Kondo, 2004)

A intensidade é definida como a quantidade de energia que passa pela unidade de área na unidade de tempo, sendo wat/ cm^2 . Sabe-se que a energia ultra-sônica sofre atenuação à medida que o feixe sonoro se propaga,

decorrente da divergência do feixe, bem como da sua absorção (Nesser et al., 2002). Estudos demonstram que a absorção ultra-sônica ocorre primariamente nas proteínas teciduais (Watson, 2009).

Os valores de intensidade que pode ser empregada são variados, por exemplo intensidades abaixo de 1 W/cm^2 promovem um efeito significativo na regeneração de tecidos lesionados, seja estimulando a angiogênese ou a síntese de colágeno. Valores de intensidade de $0,5 \text{ W/cm}^2$ são utilizados para que sejam atingidas as maiores velocidades de cicatrização em tecidos como pele, tendões e ossos (Ferreira et al., 2008; Mendonça et al., 2006).

A frequência também determina a profundidade que o feixe pode atingir, uma vez que o coeficiente de atenuação geralmente aumenta com a frequência. Portanto, quanto mais alta a frequência maior é a atenuação do feixe quando este passa pelos tecidos. Logo, a baixa frequência é mais efetiva para estruturas localizadas mais profundamente, enquanto que frequências maiores são preferencialmente utilizadas para o tratamento de tecidos superficiais. Faz-se saber, que a profundidade de penetração da energia ultra-sônica nos tecidos biológicos varia de modo inverso à sua frequência. A absorção do feixe sonoro pelos tecidos é dependente da quantidade de proteína apresentada pelo tecido, ou seja, tecidos ricos em gordura apresentam baixa absorção do feixe sonoro ao passo que tecidos ricos em proteína apresentam maior absorção. (Guirro et al., 1995).

As ondas ultra-sônicas podem se aplicadas por dois métodos conhecidos como contínuo e pulsado, sendo que a diferença entre os modos está na interrupção da propagação das ondas. No contínuo, a voltagem do transdutor do US deve ser aplicada continuamente, durante o período de aplicação. No pulsado, a voltagem é aplicada em rajadas (Baker et al., 2001).

Concernente ao tempo de aplicação é conhecida a existência de uma íntima relação entre o tempo de aplicação e a intensidade do feixe sonoro, os quais são inversamente proporcionais. Os trabalhos científicos evidenciam que não há um consenso literário quanto ao melhor intervalo de tempo para alcançar os efeitos terapêuticos. Os estudos demonstram efeitos com variados tempo de aplicação desde 4 minutos, 10, 15 e 30 minutos (Speed, 2001).

A fim de igualar as impedâncias acústicas de dois meios, utiliza-se um meio de acoplamento entre o transdutor do aparelho e a pele, uma vez que as

ondas não se propagam no ar. O material com maior eficiência é o gel hidrossolúvel, porém outras substâncias podem ser utilizadas como água gaseificada e glicerina (Young e Dyson, 1990).

O efeitos terapêuticos do US podem ser atribuídos aos efeitos térmicos e não térmicos como a cavitação, pressão acústica e o microfluxo acústico. É conhecido que ambos os efeitos não são separados, ou seja, mesmo que prevaleça o efeito não térmico quando é aplicado no modo pulsado, há também um efeito térmico característico do modo contínuo, porém, de menor magnitude (Baker et al., 2001).

Ao efeito térmico do US é atribuído o aumento no metabolismo celular e fluxo sanguíneo, estímulo à angiogênese, analgesia e aumento na extensibilidade de estruturas colágenas como tendão, ligamento e cápsula articular (Kitchen e Partridge, 1990).

A cavitação, um dos efeitos não térmicos, é a formação de cavidades ou bolhas no meio líquido contendo quantidades variáveis de gás ou vapor. Pode ser estável ou instável. A cavitação instável ocorre quando há uma violenta implosão de bolhas em detrimento de mudanças na pressão e temperatura no local o que pode induzir a formação de radicais livres e lesão tecidual. Para minimizar a formação de cavitação o transdutor deve ser movido constantemente. Já a cavitação estável está associada com a vibração dos gases que oscilam dentro de um mesmo equilíbrio segundo as variações de pressão no campo. A alteração da permeabilidade celular é atribuída ao efeito cavitacional (Feril e Kondor, 2004; Baker et al., 2001).

A pressão acústica consiste em uma pressão de radiação na membrana celular que pode contribuir para difusão de eletrólitos através da mesma. Essa pressão pode alterar a permeabilidade da membrana celular, alterar o fluxo sanguíneo e aumentar o metabolismo celular.

O microfluxo acústico por sua vez é resultado da pressão de radiação exercida pela onda ultrassônica quando se desloca através de um meio compressível como os tecidos biológicos. É apregoado que alteração da permeabilidade também pode ter como causa o microfluxo por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos (Jonhs, 2002).

O US tem um largo campo de aplicação clínico, seja em desordens músculo-esqueléticas como cicatrização de lesão muscular, cutânea e óssea,

espasmos musculares, analgesia ou como coadjuvante na penetração de substâncias através da pele, técnica denominada de mesoterapia ou fonoforese que tem grande utilização dentro do campo de alterações dermatológicas como a lipodistrofia ginóide (Matheus et al., 2007; Mendonça et al., 2006; Cunha et al., 2001).

Após uma lesão seja muscular, cutânea ou óssea é necessário ocorrer um processo de reparação tecidual, ou seja, cicatrização, que tem por finalidade restaurar a integridade anatômica e funcional do tecido. Muitos eventos bioquímicos e celulares, dos quais depende a qualidade da cicatriz formada, estão envolvidos neste processo. O processo de reparação tecidual pode ser dividido, de modo geral em três fases, de limites não muito distintos, mas sobrepostas no tempo: inflamação, formação do tecido de granulação com deposição de matriz extracelular (proliferação) e remodelação (Mendonça et al., 2006).

No que se refere ao processo de reparação tecidual, estudos demonstram que o US de baixa intensidade e modo pulsado pode exercer influência em todas as três fases. Seja estimulando a mobilização de células como neutrófilos e macrófagos ou estimulando a degranulação de mastócitos (Watson, 2008).

Todavia, é crescente também as pesquisas com relação ao uso do US em algumas alterações do sistema cardiovascular, já que este sistema tem a peculiaridade de interagir com esse tipo de energia, pois apresenta partículas em movimento e vasomotricidade baseada em um controle neuro-humoral o que modifica a dissipação e absorção do feixe sonoro (Kornowski et al., 1994).

Iida et al., (2006) verificou o efeito vasodilatador do US de baixa frequência (20KHz) e baixa potência (1,4 W/cm²) modo pulsado, aplicado sobre artéria braquial em diferentes intervalos de tempo, sendo 1, 2, 3 e 5 minutos. Os autores creditam às vibrações locais desenvolvidas pelas ondas ultra-sônicas o efeito vasodilatador, ou seja, o US promoveu um shear stress na parede vascular e que conseqüentemente houve aumento na produção local do NO.

Corroborando com esses dados, Myamoto et al., (2003), demonstrou que o US de 27KHz e 1,4W/cm² modo pulsado aplicado por 1, 2, 3, 4 e 5 minutos exerceu um efeito vasodilatador na artéria coronariana de cães. Também

é creditado ao shear stress desenvolvido pela irradiação o mecanismo vasodilatador.

Em um outro estudo, Siegel et al., (2004), demonstrou que o US de 27KHz e $1,4\text{W}/\text{cm}^2$ modo pulsado, aplicado por 30 minutos e 60 minutos melhorou a perfusão tecidual do miocárdio de cães e porcos, após 60 minutos de oclusão da artéria coronária descendente anterior esquerda.

Além desses efeitos no tônus vascular e de atuar como agente trombolítico, que melhora a perfusão do local isquêmico, tem sido investigado seus efeitos sobre a performance cardíaca. Como foi demonstrado por um estudo conduzido por Kuma et al., (2006), que o US contribuiu de forma significativa para a melhora na pressão sistólica do ventrículo esquerdo, bem como reduziu a pressão diastólica final. Portanto, o US exerce efeitos tanto na resolução de lesões como demanda benefícios também no sistema cardiovascular.

Face ao exposto, se faz necessário estudos que avaliem o efeito da terapia ultrassônica sobre o coração infartado, condição marcada por significativa lesão tecidual, cuja resolução pode influir no processo do remodelamento diminuindo-o ou exarcebando-o.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da terapia ultrassônica não-invasiva (NITUS) de baixa intensidade sobre a morfologia e função do músculo cardíaco de ratos infartados cirurgicamente após o 5° e 30° dia.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos da NITUS sobre a área da cicatriz do infarto no 5° e 30° dias pós-infarto;
- Avaliar os efeitos da NITUS sobre pressão diastólica final (PDF) no 5° e 30° dias pós-infarto;
- Avaliar os efeitos da NITUS sobre pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE) e pressão diastólica do ventrículo esquerdo (PDVE) no 5° e 30° pós-infarto;
- Avaliar os efeitos da NITUS sobre a derivada máxima da pressão $dP/dt+$ e derivada mínima da pressão $dP/dt-$ desenvolvidas na sístole no 5° e 30° pós-infarto;
- Avaliar os efeitos da NITUS sobre a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) no 5° e 30° pós-infarto.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais de Experimentação

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com peso corporal de 200 a 250 gramas, provenientes do Biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Durante todo o período de estudo, os animais foram acondicionados em gaiolas individuais, ambiente ventilado, ciclo Dia/Noite, temperatura entre 25-28°C e tinham livre acesso a água e ração padrão para roedores. Todos os protocolos realizados seguiram o Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, publicado pelo United States National Institutes of Health.

3.2. Grupos Experimentais

Os animais foram pesados e divididos aleatoriamente em oito grupos com oito animais em cada grupo.

- **Grupo IAM (5 dias):** animais submetidos à cirurgia de ligação da artéria coronariana esquerda e à terapia ultra-sônica com aparelho desligado durante os 5 dias pós-procedimento cirúrgico e sacrificados no 5° dia.
- **Grupo IAM-US (5 dias):** animais submetidos à cirurgia de ligação da artéria coronariana esquerda e à terapia ultra-sônica durante os 5 dias pós-procedimento cirúrgico e sacrificados no 5° dia.
- **Grupo Sham (5 dias):** animais submetidos à cirurgia fictícia e à terapia ultra-sônica com aparelho desligado durante os 5 dias pós-procedimento cirúrgico e sacrificados no 5° dia.
- **Grupo Sham-US (5 dias):** animais submetidos à cirurgia fictícia e à terapia ultra-sônica durante os 5 dias pós-procedimento cirúrgico e sacrificados no 5° dia.

- **Grupo IAM (30 dias):** animais submetidos à cirurgia de ligação da artéria coronariana esquerda e à terapia ultra-sônica com aparelho desligado durante os 5 dias pós-procedimento cirúrgico e sacrificados no 30° dia.
- **Grupo IAM-US (30 dias):** animais submetidos à cirurgia de ligação da artéria coronariana esquerda e à terapia ultra-sônica durante os 5 dias pós-procedimento cirúrgico e sacrificados no 30° dia.
- **Grupo Sham (30 dias):** animais submetidos à cirurgia fictícia e à terapia ultra-sônica com aparelho desligado durante os 5 dias pós-procedimento cirúrgico e sacrificados no 30° dia.
- **Grupo Sham-US (30 dias):** animais submetidos à cirurgia fictícia e à terapia ultra-sônica durante os 5 dias pós-procedimento cirúrgico e sacrificados no 30° dia.

3.3. Protocolos Experimentais

Protocolo Experimental 1

Indução do IAM ou cirurgia fictícia (Sham)

NITUS com aparelho ligado ou desligado durante 5 dias nos diferentes grupos

Coleta dos registros hemodinâmicos no 5° dia

Preparo dos tecidos e análise morfométrica

Protocolo Experimental 2

Indução do IAM ou cirurgia fictícia (Sham)

NITUS com aparelho ligado ou desligado durante 5 dias nos diferentes grupos

Coleta dos registros hemodinâmicos no 30° dia

Preparo dos tecidos e análise morfométrica

3.4. Procedimentos Experimentais

3.4.1. Indução do IAM

O procedimento cirúrgico de indução do IAM foi realizado de acordo com a técnica padronizada no Laboratório de Fisiopatologia Cardiovascular do Centro de Ciências da Saúde da UFES (Mill et al., 1990) e que está descrita resumidamente abaixo.

Os animais foram anestesiados em câmara fechada com Halotano (Cristália), e atingido o padrão anestésico ideal, o animal foi colocado em posição supina em uma mesa cirúrgica com uma máscara contendo Éter etílico (Dinâmica) para a manutenção da anestesia. Foram então submetidos à toracotomia no 4º espaço intercostal esquerdo. O músculo peitoral foi separado e as costelas expostas. Através da abertura, o coração foi rapidamente exteriorizado e após a visualização da artéria coronária descendente anterior esquerda, logo abaixo da borda do átrio esquerdo, um fio de mononylon 6.0 (MEDLINE, BRASIL) montado em agulha não traumática enlaçava a artéria, fazendo uma oclusão permanente desta. O coração foi imediatamente reposicionado e o tórax fechado com sutura em bolsa previamente preparada. Os animais que não retomavam espontaneamente os movimentos respiratórios receberam ventilação mecânica por meio de uma máscara de borracha aplicada diretamente sobre os orifícios nasais, até o retorno da respiração. Os grupos que sofreram a cirurgia fictícia passaram pelas mesmas etapas descritas acima, com exceção da ligadura da artéria coronariana descendente anterior esquerda.

3.4.2. Terapia ultrassônica não invasiva (NITUS)

Todos os animais receberam cinco aplicações consecutivas da terapia ultra-sônica, diferindo na emissão ou não das ondas ultra-sônicas, ou seja, aparelho ligado ou desligado. A primeira aplicação da sonificação foi realizada 8 horas pós-procedimento cirúrgico. Para a realização da NITUS os animais inicialmente foram colocados em uma câmara fechada com Halotano (Cristália) e após a indução do padrão anestésico foram colocados em uma mesa

cirúrgica em posição supina com membros superiores e inferiores fixados. A fim de manter a anestesia, uma máscara contendo éter etílico era utilizada durante a sonificação.

Foi utilizado um equipamento gerador de ultra-som, (Sonopulse III, Saphire Line- Ibramed), disponível comercialmente, micro-processado com ciclos contínuo e pulsado. A potência empregada foi de $1,0\text{W}/\text{cm}^2$, com 1MHz de frequência durante 5 minutos no modo pulsátil (1:5) 16Hz. O transdutor foi mantido em posição perpendicular á região irradiada (região precordial). Com o objetivo de facilitar a passagem das ondas sonoras, um gel à base de água foi aplicado sobre a área a ser tratada. A forma de aplicação não permitiu formação de ondas estacionárias, pois o transdutor foi movido freqüentemente.

3.4.3. Registros Hemodinâmicos

Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com uma mistura contendo Quetamina (AGENER, UNIÃO, SÃO PAULO, BRASIL) na dose de 70 mg/Kg de peso corporal e Xilazina (BAYER, SÃO PAULO, BRASIL) na dose de 10 mg/Kg. Após constatação da perda dos reflexos, os animais foram colocados em posição supina em uma mesa cirúrgica com os membros levemente fixados. Foi realizado uma tricotomia no nível do pescoço, do lado direito do animal. Uma incisão de aproximadamente 1,5 cm foi realizada para localização e acesso ao vaso a ser cateterizado. Localizava-se portanto, a artéria carótida comum direita e uma dissecção era feita para retirar todo tecido conjuntivo ao redor do vaso. Um pequeno orifício foi feito com uma tesoura oftálmica, por onde era introduzido um catéter de polietileno (PE 50) previamente preenchido com solução salina heparinizada (HEPARINA SÓDICA, ARISTON, BRASIL) ligado a um transdutor de pressão (TRI 21, LETICA SCIENTIFIC INSTRUMENTS, ESPANHA) e este conectado a um sistema de aquisição de dados Power Lab (ADINSTRUMENTS INC, AUSTRÁLIA). Após registro da pressão arterial, com duração de 10 minutos, o catéter era introduzido até o ventrículo esquerdo para início do registro por um período de 10 minutos. Para fixação do catéter, uma linha de algodão foi utilizada para amarrar o vaso e o catéter, impedindo que este se movimentasse.

Os parâmetros avaliados pelo cateterismo cardíaco foram: pressão diastólica final (PDF), pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE), pressão diastólica do ventrículo esquerdo (PDVE), derivada máxima da pressão (+dP/dt), derivada mínima da pressão (-dP/dt), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). Os registros foram digitalizados para posterior análise usando o software Chart v. 5.5 (ADINSTRUMENTS INC, AUSTRÁLIA).

3.4.4. Preparo dos Tecidos e Análise Morfométrica

Após a coleta dos registros hemodinâmicos, os animais foram sacrificados por decapitação. Seguidamente foi retirado o coração e este foi lavado e perfundido com solução nutritora de Krebs, utilizando para isso um perfusor. Logo após, foram separados os átrios dos ventrículos e posteriormente separavam-se os ventrículos direito e esquerdo. Os ventrículos foram colocados em um recipiente contendo solução de formol tamponado (pH 7,4) por aproximadamente 72 horas. O ventrículo esquerdo foi cortado em 4 fatias do ápice para a base, de acordo com o proposto por Spadaro et al. (1981). A terceira fatia foi incluída em parafina, e desta foram obtidos 3 cortes com espessura de 8 micrômetros que foram corados pelo método picrossírius para a evidenciação do colágeno cicatricial.

Para a avaliação da área da cicatriz do infarto, foi utilizada uma câmera de vídeo (Web Cam HOME TECH COM, VC I 130-CD 25, 1.3 mega pixels), acoplada a um suporte de PVC, ajustada a uma distância da lâmina suficiente para capturar uma área que contivesse todo o corte. A lâmina era colocada sobre uma placa de acrílico leitosa, iluminada com uma lâmpada fluorescente. A imagem era capturada com a utilização do programa AMCap e após a captura, esta era arquivada para posterior análise morfométrica. A análise morfométrica, em pelo menos 3 cortes para cada lâmina, foi realizada com o auxílio do programa ImajeJ 1.42q/java. A imagem arquivada era transferida para o programa ImageJ 1.42q/java no qual era marcada a área da cicatriz, facilmente evidenciada pela coloração vermelha do colágeno. Essa área era avaliada em milímetros quadrados. De modo semelhante, era marcada toda a área da parede ventricular, para se obter a relação entre a área da cicatriz e a

área total da parede ventricular, utilizando a fórmula, de acordo com Takagawa et al. (2007):

$$\% \text{ de área de cicatriz do infarto} = \frac{\text{área do infarto}}{\text{área da parede ventricular}} \times 100$$

3.5. Análise Estatística

Para a avaliação da área da cicatriz do infarto entre os grupos foi utilizado o test *t* de *Student*

Para comparação dos demais parâmetros entre os grupos utilizou-se a análise de variância (ANOVA) uma via e Tukey como pós teste. Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (média \pm EPM) e níveis de significância estabelecidos em $P < 0.05$. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico GB-STAT v 65. Para a construção dos gráficos foi utilizado o software GraphPad Prism 5.

4. RESULTADOS

4.1. Parâmetros Hemodinâmicos

A tabela 1 expressa os parâmetros hemodinâmicos mensurados no 5º dia após o IAM e aplicação do US. Observamos alterações nos parâmetros hemodinâmicos dos grupos infartados na PDF, PDVE e derivadas máxima e mínima da pressão(+dP/dt e -dP/dt), quando comparamos os grupos Sham com grupo IAM. Não foram observadas diferenças entre o grupo Sham e Sham +US. O mesmo resultado foi obtido entre o grupo IAM e o que recebeu a terapia US.

Tabela 1. Parâmetros hemodinâmicos no 5º dia após IAM e aplicações da terapia US nos grupos Sham, Sham+US, IAM e IAM+US.

Parâmetros	Sham (N =8)	Sham+US (N =8)	IAM (N =8)	IAM+US (N =8)
PDF (mm Hg)	11±1.2	10±1.4	24±2.9	25±1.3
PSVE (mm Hg)	123±4.3	111±2.5	105±3.2	103±4.6
PDVE (mm Hg)	4±0.4	4±0.9	10±1.4	9±1.2
+dP/dt(VE)(mm Hg)	4135±191.7	3285±196.3	2267±156.2	2081±244.2
-dP/dt (VE)(mm Hg)	-3159±206.1	-2405±49.4	-2151±182.4	-1833±180.5
PAM(mmHg)	99±2.6	93±2.6	85±1	93±2.9
FC(BPM)	285±8	263±6	267±4	268±8

VE, ventrículo esquerdo; PDF, pressão diastólica final; PS, pressão sistólica; PD, pressão diastólica; dP/dt+, derivada máxima da pressão; dP/dt-, derivada mínima da pressão; PAM, pressão arterial média; FC, frequência cardíaca.

A avaliação dos parâmetros hemodinâmicos ao final de 30 dias nos grupos Sham e Sham+US demonstra que não há diferenças entre os dois grupos após cirurgia fictícia e a aplicação da terapia US por 5 dias. No que concerne aos parâmetros hemodinâmicos 30 dias após IAM pode ser observado na tabela 2 e na figura 1 que no grupo IAM+US houve redução na PDF (mmHg) (15 ± 1.9), quando comparado com grupo IAM (26 ± 1.4). Não foram identificadas diferenças entre os grupos IAM e IAM+US sobre os parâmetros PSVE, PDVE, +dP/dt, -dP/dt, PAM e FC.

Tabela 2. Parâmetros hemodinâmicos no 30º dia após IAM e aplicações da terapia US nos grupos Sham, Sham+US, IAM e IAM+US.

Parâmetros	Sham (N =8)	Sham+US (N =8)	IAM (N =8)	IAM+US (N =8)
PDF (mm Hg)	14 \pm 1.1	17 \pm 0.6	26 \pm 1.4	15 \pm 1.9**
PSVE (mm Hg)	121 \pm 2.2	117 \pm 1.9	115 \pm 4	98 \pm 7.4
PDVE (mm Hg)	4 \pm 0.4	5 \pm 0.8	8 \pm 1.9	6 \pm 1
+dP/dt(VE)(mm Hg)	3961 \pm 271	3833 \pm 219.9	2272 \pm 214	18545 \pm 171.2
-dP/dt(VE)(mm Hg)	-3412 \pm 301	-2994 \pm 174	-1923 \pm 195.6	-1756 \pm 179.9
PAM(mmHg)	105 \pm 3.2	101 \pm 1.6	84 \pm 4.7	86 \pm 2.5
FC(BPM)	255 \pm 5	264 \pm 7	281 \pm 11	255 \pm 6

VE, ventrículo esquerdo; PDF, pressão diastólica final; PS, pressão sistólica; PD, pressão diastólica; dP/dt+, derivada máxima da pressão; dP/dt-, derivada mínima da pressão; PAM, pressão arterial média; FC, frequência cardíaca.

**p \leq 0.01 vs.IAM

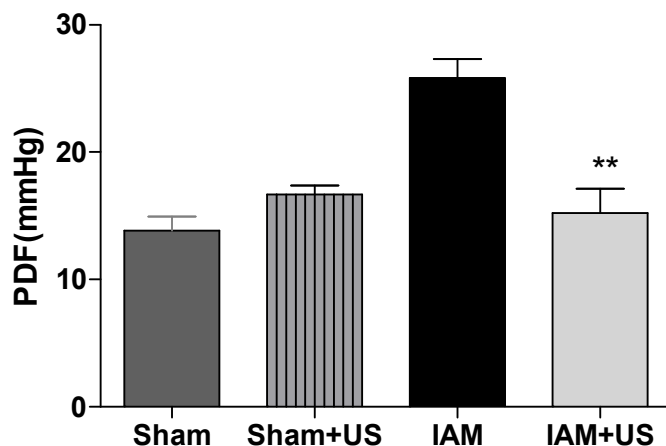


Figura 1. Valores da pressão diastólica final (PDF) no 30^o dia após IAM com aplicação da terapia US nos grupos Sham, Sham+US, IAM e IAM-US. ** $P < 0.01$ vs. IAM

4.2. Efeito da terapia ultrassônica sobre a área da cicatriz do infarto

A figura 2 demonstra que não houve diferença significativa na área da cicatriz do infarto entre os grupos IAM e IAM+US no 5^o. dia após infarto ($31.6\% \pm 3.1\%$ e $34.5\% \pm 1.6$, respectivamente). A figura 3 mostra a fotomicrografia do corte transversal após 5 dias do infarto nos grupos sem a terapia US Sham(A) e IAM (B) e com a terapia Sham+US (C) e IAM+US (D). Observamos que nos grupos infartados não há diferença na área da cicatriz entre os grupos sem terapia IAM e com a terapia IAM+US conforme destacado em vermelho na figura 3. Quanto aos grupos Sham não há área de cicatriz e nem alteração após o uso da terapia US.

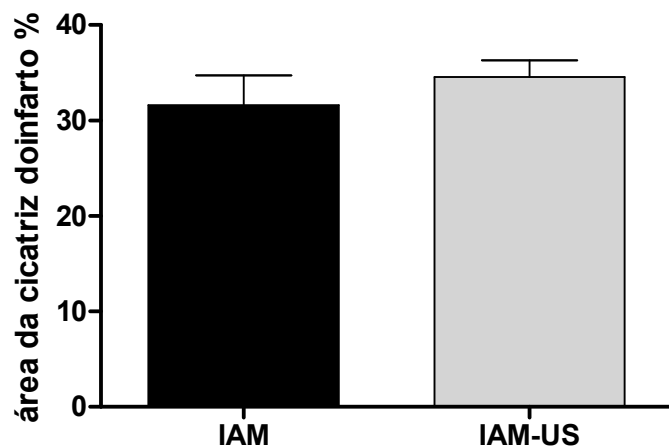


Figura 2. Área da cicatriz do infarto (%) nos grupos IAM e IAM+US no 5º dia após o infarto sem e com aplicação da terapia US.

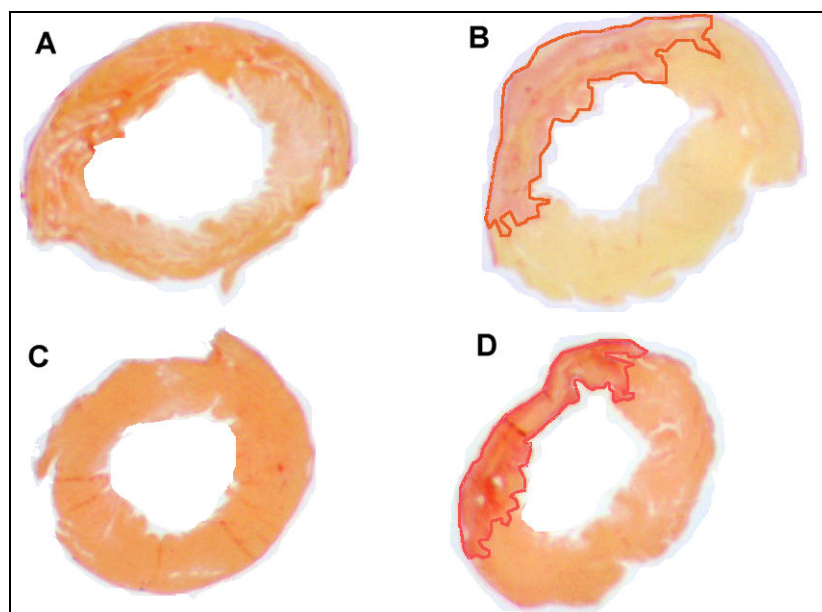


Figura 3. Fotomicrografia do corte transversal do ventrículo esquerdo corado com picrosírius para evidência do colágeno (área vermelha em destaque) após 5º dia do infarto nos grupos sem a terapia US Sham (A) e IAM (B) e com a terapia Sham+US (C) e IAM+US (D).

A figura 4 demonstra redução da área da cicatriz do infarto no grupo IAM+US quando comparado ao grupo IAM ($21.5\% \pm 1.4\%$, $26.2\% \pm 1.7\%$; $p < 0.05$, respectivamente) no 30º dia após IAM. A figura 5 mostra a fotomicrografia do corte transversal do ventrículo esquerdo após 30 dias do infarto nos grupos sem a terapia US Sham (A) e IAM (B) e com a terapia Sham+US (C) e IAM+US (D). Observamos que nos grupos infartados há diferença na área da cicatriz entre os grupos sem terapia IAM e com a terapia IAM+US conforme destacado em vermelho na figura 5. Quanto aos grupos Sham não há área de cicatriz e nem alteração após o uso da terapia US.

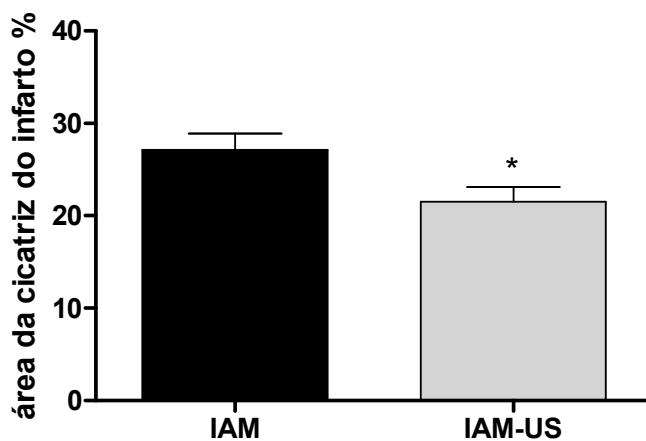


Figura 4. Área da cicatriz do infarto (%) nos grupos IAM e IAM+US no 30º dia após o infarto sem e com aplicação da terapia US.

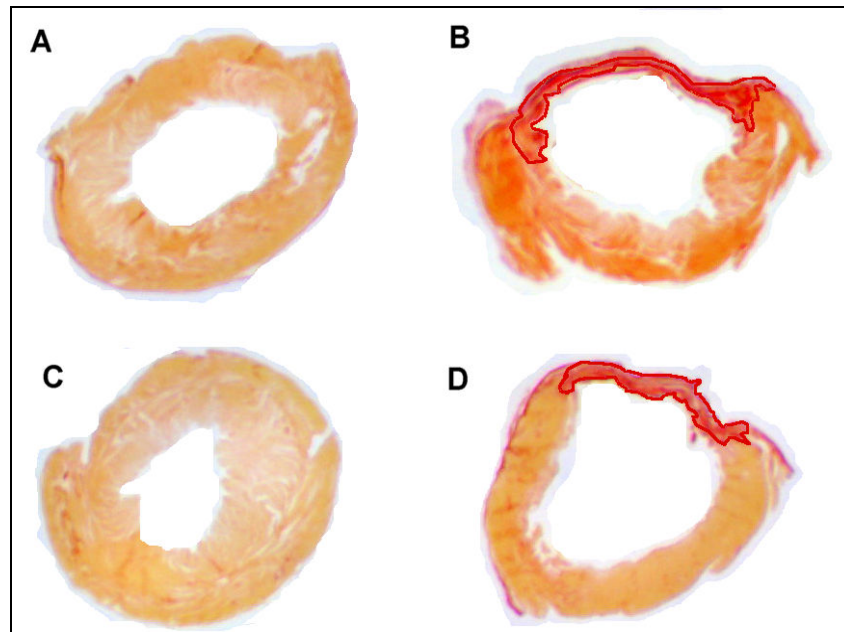


Figura 5. Fotomicrografia do corte transversal do ventrículo esquerdo corado com picrosírius para evidenciação do colágeno (área vermelha em destaque) após 30º dia do infarto nos grupos sem a terapia US Sham (A) e IAM (B) e com a terapia Sham+US (C) e IAM+US (D).

5. DISCUSSÃO

Vários modelos experimentais têm sido usados para ajudar na compreensão dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia do IAM e no processo de remodelamento ventricular pós-infarto. Modelos de isquemia seguida por reperfusão tanto *in vivo* quanto *in vitro* e a oclusão mecânica de artérias coronárias em animais têm ampliado o conhecimento sobre aspectos fisiopatológico dos eventos isquêmicos no coração (Fletcher et al., 1981; Vander Heide et al., 1995).

Além destes modelos, a oclusão permanente da artéria coronária descendente anterior esquerda é o mais utilizado em estudos em animais, por ser de fácil reprodutibilidade e por reproduzir não só as alterações moleculares e celulares da fase aguda do infarto, mas também todas as disfunções estruturais e funcionais causadas pelo remodelamento cardíaco (Vander Heide et al., 1995).

Inicialmente, os experimentos de oclusão coronariana eram realizados em cães, por serem anatomicamente semelhantes aos seres humanos, mas os resultados eram inesperadamente diferentes em cada animal além da alta taxa de mortalidade. Dentro deste contexto, Johns & Olson (1954) realizaram um estudo onde compararam os resultados da ligação da artéria coronária descendente anterior esquerda em animais de pequeno porte. Observaram que a produção do infarto nestes roedores era seguida por uma reduzida taxa de mortalidade e menor variabilidade no infarto, comparado com outros modelos existentes.

Nas últimas duas décadas, inúmeros estudos utilizam este modelo de infarto para avaliar os efeitos de diversas drogas na terapêutica do infarto e da insuficiência cardíaca. Fármacos como os beta-bloqueadores foram utilizados tanto em pesquisa clínica e experimental, reduzindo os efeitos deletérios do remodelamento ventricular (Sun et al., 2005; Yaoita et al., 2002; Mill et al., 1992; Doughty et al., 1997). Os inibidores da ECA foram extensamente estudados neste modelo experimental de infarto em roedores, obtendo resultados positivos em relação a melhora da função cardíaca (Pfeffer et al., 1985a) e redução do infarto (Pfeffer et al., 1985b).

Os estudos utilizando este modelo experimental possibilitam o melhor conhecimento das fases do processo de remodelamento cardíaco pós-infarto e um melhor prognóstico. Este estudo tem ajudado na intervenção feita no infarto, fato este que pode ser evidenciado pela redução do tempo de internação e de mortalidade por consequência das doenças cardiovasculares após estudos experimentais (Fox et al., 2004).

A escolha do uso de uma terapia mecânica como as ondas ultrassônicas, sobre uma lesão miocárdica isquêmica, deveu-se ao fato de que a literatura vingente descreve os efeitos da terapia ultrassônica sobre o processo de reparação de lesões cutânea, músculo-esqueléticas e ósseas, sem, contudo abordar o seu possível efeito sobre lesões da musculatura cardíaca. Dentro deste contexto é interessante investigar os efeitos das ondas ultrassônicas sobre a reparação do músculo cardíaco, após uma lesão desencadeada por uma obstrução permanente do fluxo coronariano.

Os parâmetros da emissão das ondas ultrassônicas como a frequência de 1MHz foi estabelecida de acordo com a profundidade alcançada pelas ondas nessa frequência, ou seja, frequências menores alcançam tecidos mais profundos. No tocante à escolha da potência utilizada de $1\text{W}/\text{cm}^2$, empregamos esta potência por ser a mais utilizada na literatura disponível. O tempo de aplicação foi estabelecido em 5 minutos, pois é o tempo mínimo necessário descrito pela literatura como sendo capaz de desencadear os efeitos térmicos e não térmicos do US (Noble et al., 2007; Cuma et al., 2006; Baker et al., 2001).

O presente estudo demonstrou que a aplicação do US promove significativas modificações hemodinâmicas e estruturais em animais infartados.

É digno ressaltar que os efeitos do US sobre o infarto, neste estudo, foram evidenciados somente no 30º dia, não sendo observado efeitos no 5º dia. Uma explicação pode ser o fato de que no 5º dia ainda não houve a resolução total da lesão, ou seja, no 5º dia está acontecendo a fase proliferativa, subsequente à fase inflamatória. No processo de reparação de uma lesão miocárdica de acordo com Ertl e Frantz (2005) a fase inflamatória com infiltrado de células inflamatórias e necrose ocorre dentro de horas, a proliferação onde tem início a formação de um tecido fibrótico e há um quadro de inflamação crônica, caracterizando o início da cicatrização, ocorre dentro de

dias enquanto, o remodelamento cardíaco, a fase de remodelamento, em que há a formação da cicatriz, ocorre dentro de semanas. Logo, a influência do US sobre a reparação da lesão miocárdica, neste estudo, a partir dos métodos utilizados, análise morfométrica e avaliação hemodinâmica, só foi perceptível após o término das fases inflamatória, proliferativa e de remodelamento.

Entretanto, trinta dias após o infarto observamos, a partir da análise morfométrica, uma redução importante na área da cicatriz do infarto, o que nos remete a idéia de que o processo de reparação do músculo cardíaco, pode também sofrer influência das ondas ultra-sônicas, tendo em vista ser bem documentado o papel do US sobre a reparação tecidual de lesões cutâneas, músculo-esquelética e ósseas (Noble et al., 2007).

Admite-se que durante a fase inflamatória de lesões cutâneas, musculares e ósseas o US estimule a degranulação dos mastócitos o que conduz a liberação de mediadores inflamatórios como leucotrienos e prostaglandinas assim como, estimula leucócitos e macrófagos a liberarem fatores de crescimento (Watson, 2008). O US, portanto, melhora a resposta inflamatória, ou seja, promove a resolução normal da fase inflamatória já que esta é essencial para efetivar a reparação tecidual e a inibição dessa fase prejudicaria a fase proliferativa (Cunha et al., 2001).

Durante a fase proliferativa por sua vez, o US estimula a proliferação de fibroblastos, células endoteliais e miofibroblastos ao mesmo tempo em que estimula a angiogênese (Young e Dyson, 1990). Desta forma, a irradiação sonora nesta fase melhora a qualidade do tecido neo-formado (Watson, 2008).

Seguindo a fase de remodelação, há fortes evidências que o US é capaz de aumentar a orientação apropriada das novas fibras de colágeno em desenvolvimento e alterar o perfil das fibras de colágenos por elevação da expressão do colágeno tipo I em detrimento do tipo III, o que favorece a uma melhora na mobilidade da cicatriz e capacidade funcional da mesma (Nussbaum, 1998; Watson, 2008). No entanto, não está bem esclarecido na literatura o mecanismo de ação da energia ultra-sônica sobre a reparação do músculo cardíaco.

Logo, a redução da área da cicatriz do infarto observada no grupo IAM-US (30 dias) pode ser devido a um aumento na velocidade da resposta inflamatória por meio da mobilização de células inflamatórias como neutrófilos

e macrófagos ao mesmo tempo em que há um estímulo à degranulação dos mastócitos (Frantz et al., 2009; Ertl e Frantz, 2005).

É válido ressaltar ainda que provavelmente o US também interferiu na mobilização leucocitária, uma vez que os leucócitos são células que conduzem para uma cicatrização mais efetiva, por meio da regulação do metabolismo das MMPs e de seus inibidores, além de ser uma importante via de citocinas e fatores de crescimento (Ertl e Frantz, 2005).

Pode ser especulado também, que no grupo IAM-US (30 dias) houve maior proliferação de miofibroblastos o que por sua vez acarretou uma contração da cicatriz e desse modo houve redução da área. Em um estudo realizado por van den Borne et al., (2009), observaram uma redução na área da cicatriz de infarto em camundongos, por volta do décimo quarto dia após infarto e neste mesmo período foi encontrado um maior número de miofibroblastos no local. Os autores sugerem a participação dos miofibroblastos na manutenção da área do infarto e prevenção de uma dilatação secundária.

A redução na área da cicatriz pode estar também, correlacionada com uma menor extensão do infarto. Resultado que suporta esta idéia é a manutenção dentro de valores normais na PDF desse mesmo grupo, ou seja, o US pode ter reduzido a extensão do infarto, o que configurou para a manutenção da PDF dentro de parâmetros de normalidade. Estudos demonstram uma correlação existente entre a extensão do infarto e alterações na PDF, em que o aumento na extensão do infarto favorece a um aumento na PDF (Pfeffer e Braunwald, 1990).

Outra possibilidade de atuação do US seria sua capacidade de interferir na contração do músculo cardíaco, uma vez que demonstramos neste estudo que houve melhora na PDF, fato este que pode ser atribuído ao efeito mecânico da cavitação. Em um estudo piloto *in vivo*, realizado por Kuma et al., 2006, foi observado que o US de 1 MHz, modo contínuo e em três diferentes intensidades, sendo 0,06, 0,67 e 2.9 W/cm² aplicado diretamente no coração de cobaia, aumentou a pressão sistólica, bem como reduziu a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo. Admite-se, que a cavitação pode melhorar a disponibilidade do íon cálcio durante a sístole ao passo que melhora a recaptção do mesmo durante a diástole. Contudo, em nosso estudo não foi

identificado diferença entre os grupos que receberam ou não receberam US quanto à força de contração desenvolvida pelo ventrículo esquerdo.

Portanto, face ao exposto podemos inferir que a aplicação do US dentro dos parâmetros estabelecidos, aplicado diretamente sobre a região precordial de ratos infartados cirurgicamente, reduziu a área da cicatriz do infarto no grupo IAM+US (30 dias) bem como manteve a PDF dentro de valores fisiológicos, provavelmente por exercer influência nas fases inflamatória, proliferativa e de remodelamento, favorecendo assim a um aumento na velocidade da resposta inflamatória por meio da mobilização de células inflamatórias como neutrófilos, macrófagos, ao mesmo tempo em que estimulou a degranulação dos mastócitos, bem como interferiu na mobilização leucocitária. O US pode também ter estimulado a proliferação dos miofibroblastos bem como exercido influência no mecanismo de contração do músculo cardíaco.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anand SS, Islam S, Rosengren A, Frangozi MG, Steyn K, Afzal HY, Keltai M, Diaz R, Rangarajam S, Yusuf S. Risk factors for myocardial infarction in woman and men: insights from the INTERHEART study. *Eur Heart J* 2008; 29: 932-940.

Altland OD, Dalecki D, Suchkova VN, Francis CW. Low-intensity ultrasound increases endothelial cell nitric oxide synthase activity and nitric oxide synthesis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004; 2: 637-643.

Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Physical Therapy* 2001; 81: 1351-1357.

Barnett SB, Ter Haar GR, Ziskin MC, Rott HD, Duck FA, Maeda K. International recommendations and guidelines for the safe use of diagnostic ultrasound in medicine. *Ultrasound in Med & Biol* 2000; 26: 355-366.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS: informações de saúde. Disponível em: WWW.datasus.gov.br/tabnet/tabnet.htm. Acesso em: 10/12/2009.

Cleutjens JPM. The role of matrix metalloproteinases in heart disease. *Cardiovasc Res* 1996; 32: 816-821.

Cohen MG, Tuero E, Bluguermann J, Kevorkian R, Berrocal DH, Carlevaro O, Picabea E, Hudson MP, Siegel RJ, Douthat L, Grenbaum AB, Echt D, Weaver D, Grinfeld LR. Transcutaneous ultrasound-facilitated coronary thrombolysis during acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003; 92: 454-457.

Creemers EEJM, Cleutjens JPM, Smits JFM, Daemen MJAP. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction. *Circ Res* 2001; 89: 201-210.

Cunha A, Parizotto NA, Vidal BC. The effect of therapeutic ultrasound on repair of the achilles tendon of the rat. *Ultrasound in Med & Biol* 2001; 27: 1691-1696.

Dyson M, Suckling J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of the mechanisms involved. *Physiotherapy* 1978; 64: 105-108.

Doughty RN, Whalley GA, Gamble G, Macmahon S, Sharpem N. Left ventricular remodeling with caverdilol in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease. *J Am Col Cardiol* 1997; 29(5): 1060-1066.

El-Sabban ME, Hassan KA, Birbari AE, Bitar KM. Angiotensin II binding and extracellular matrix remodeling in a rat model of myocardial infarction. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System* 2000; 1: 369-378.

Ertl G, Frantz S. Healing after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2005; 66: 22-32.

Ferreira AS, Barbieri CH, Mazzer N, Campos AD, Mendonça AC. Mensuração de área de cicatrização por planimetria após aplicação do ultra-som de baixa intensidade em pele de rato. *Rev Bras Fisioter* 2008; 12: 351-358.

Feril LB, Kondo T. Biological effects of low intensity ultrasound: the mechanism involved, and its implications on therapy and on biosafety of ultrasound. *J Radiat Res* 2004; 45: 479-489.

Fischell TA, Abbas MA, Grant GW, Siegel RJ. Ultrasonic energy- effects on vascular function and integrity. *Circulation* 1991; 84: 1783-1795.

Fletcher PJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction. *Circ Res* 1981; 49: 618-626.

Fonarow GC, Lukas MA, Robertson M, Colucci WS, Dargie HJ. Effects of caverdilol early after myocardial infarction: analysis of the first 30 days of caverdilol post-infarct survival control in left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 2007; 154: 637-644.

Fox CS, Evans JC, Larson MG, Kannel WB, Levy D. Temporal trends in coronary heart disease mortality and sudden cardiac death from 1950 to 1999. The Framingham Heart Study. *Circulation* 2004; 110: 522-527.

Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2002; 53: 31-47.

Frantz S, Bauersachs J, Ertl G. Post-infarct remodeling: contribution of wound healing and inflammation. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 474-481.

Grotendorst GR, Rahmanie H, Duncan MR. Combinatorial signaling pathways determine fibroblast proliferation and myofibroblast differentiation. *FASEB J* 2004; 18: 469-479.

Guirro EC. Efeitos da estimulação ultra-sônica pulsada de baixa intensidade no processo cicatricial: estudo experimental em ratos. *Revista ciência & tecnologia* 1995; 8: 37-47.

Hinz B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *J Invest dermatol* 2007; 127: 526-537.

Hori M, Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 457-464.

Iida K, Luo H, Hagiwara K, Akima T, Shah PK, Naqvi TZ, Siegel RJ. Noninvasive low-frequency ultrasound energy causes vasodilation in humans. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 532-537.

Ingwall JS. Energy metabolism in heart failure and remodeling. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 412-419.

Johns LD. Nonthermal effects of therapeutic ultrasound: the frequency resonance hypothesis. *Journal of Athletic Training* 2002; 37: 293-299.

Johns TNP, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. Method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg* 1954; 140 (5): 675-682.

Kitchen SS, Partridge CJ. A review of therapeutic ultrasound. *Physiotherapy* 1990; 76: 593-600.

Kornowski R, Meltzer RS, Chernine A, Vered Z, Battler A. Does external ultrasound accelerate thrombolysis? Results from a rabbit model. *Circulation* 1994; 89: 339-344.

Kuma F, Ueda N, Ito H, Maruyama T, Kaji Y, Fujino T, Harada M. effects of ultrasound energy application on cardiac performance in open-chest guinea pigs-na in vivo pilot study. *Circ J* 2006; 70: 1356-1361.

Lanas F, Avezum A, Bautista LE, Diaz R, Luna M, Islam S, Yusuf S, for the INTERHEART Investigators in Latin America. Risk factors for acute myocardial infarction in Latin America. The INTERHEART Latin America Study. *Circulation* 2007; 115: 1067-1074.

Li YY, McTiernan CF, Feldman AM. Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling. *Cardiovasc Res* 2000; 46: 214-224.

Lindsey ML. MMP induction and inhibition in myocardial infarction. *Heart Failure Reviews* 2004; 9: 7-19.

Martin G, Sutton J, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000; 101: 2981-2988.

Matheus JPC, Oliveira FB, Gomide LB, Milani JGPO, Volpon JB, Shimano AC. Efeitos do ultra-som terapêutico nas propriedades mecânicas do músculo esquelético após contusão. *Rev Bras Fisioter* 2008; 12: 241-247.

Mendonça AC, Ferreira AS, Barbieri CH, Thomazine JA, Mazzer N. Efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade sobre a cicatrização por segunda intenção de lesões cutâneas totais em ratos. *Acta Ortop Bras* 2006; 14: 152-157.

Mill JG, Leite DV, Novaes MA, Lima-Pereira FE, Vassalo DV. Propranolol reduces myocardial hypertrophy in the right cardiac chambers after infarction in rats. *Braz J Med Biol Res* 1992; 25: 865-869.

Mill JG, Milanez MC, Busato VCW, Moraes AC, Gomes MG. Ativação da enzima conversora de angiotensina no coração após infarto do miocárdio e suas repercussões no remodelamento ventricular. *Arq Bras Cardiol* 1997; 69: 101-110.

Mill JG, Stefanon I, Leite CM, Vassalo DV. Changes in performance of the surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovasc Res* 1990; 24: 748-753.

Miyamoto T, Neuman Y, Luo H, Jeon DS, Kobal S, Ikeno F, Horzewski M, Honda Y, Mirocha JM, Iwami T, Echt D, Fishbein MC, Siegel RJ. Coronary vasodilation by noninvasive transcutaneous ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1263-1271.

Nesser HJ, Karia DH, Tkalec W, Pandian NG. Therapeutic ultrasound in cardiology. *Herz* 2002; 27: 269-278.

Noble JG, Lee V, Griffith-Noble F. Therapeutic ultrasound: the effects upon cutaneous blood flow in humans. *Ultrasound in Med & Biol* 2007; 33: 279-285.

Nussbaum E. The influence of ultrasound on healing tissues. *J hand Ther* 1998; 11: 140-147.

Olivetti G, Capasso JM, Meggs LG, Sonnenblick EH, Anversa P. Cellular basis of chronic ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Circ Res* 1991; 68: 856-869.

Olivetti G, Ricci R, Beghi C, Guideri G, Anversa P. Response of the border zone to myocardial infarction in rats. *Am J Pathol* 1986; 125: 476-483.

Olsson DC, Martins VMV, Pippi NL, Mazzanti A, Tognoli GK. Ultra-som terapêutico na cicatrização tecidual. *Ciência Rural* 2008; 38: 1199-1207.

Passier RC, Smits JF, Verluyten MJ, Daemen MJ. Expression and localization of rennin and angiotensinogen in rat heart after myocardial infarction. *Am J Physiol* 1996; 271: 1040-1048.

Penn MS. The role of leukocyte-generated oxidants in left ventricular remodeling. *Am J Cardiol* 2008; 101: 30-33.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res* 1985a; 57: 84-95.

Pfeffer MA, McMurray JJV, Velasquez EJ, Rouleau JL, Kober L, Maggioni AP, Solomon SD, Swedberg K, Van de Werf F, White H, Leimberger JD, Henis M, Edwards S, Zelenkofske S, Sellers MA, Callif RM. Valsartam, captopril or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction or both. *N Eng J Med* 2003; 349: 1893-1907.

Pfeffer MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Annu Rev Med* 1995; 46: 455-466.

Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990; 81: 1161-1172.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, Finn P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation* 1985b; 72(2): 406-412.

Piedade MCB, Galhardo MS, Battlehner CN, Ferreira MA, Caldini EG, Toledo OMS. Effect of ultrasound therapy on the repair of gastrocnemius muscle injury in rats. *Ultrasonics* 2008; 1-9.

Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH, Aikawa M, Sukhova GH, Anaya-Lopez A, McClure KF, Mitchell PG, Libby P, Lee RT. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation* 1999; 99: 3063-3070.

Rosenthal I, Sostaric JZ, Riez P. Sonodynamic therapy- a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* 2004; 11: 349-363.

Scherrer- Crosbic M, Ullrich R, bloch KD, Nakajima H, Nasser B, Aretz T, Lindsey ML, Vançon AC, Huang PL, Lee RT, Zapol WM, Picard MH. Endothelial nitric oxide synthase limits left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Circulation* 2001; 104: 1286-1291.

Siegel RJ, Atar S, Fishbein MC, Brasch AV, Peterson TM, Nagai T, Pal D, Nishioka T, Chae JS, Birnbaum Y, zanelli C, Luo H. Noninvasive, transthoracic, low-frequency ultrasound augments thrombolysis in a canine model of acute myocardial infarction. *Circulation* 2000; 101: 2026-2029.

Siegel RJ, Suchkova VN, Miyamoto T, Luo H, Baggs RB, Neuman Y, Horzewski M, Suorsa V, Kobal S, Thompson T, Echt D, Francis CW. Ultrasound energy improves myocardial perfusion in the presence of coronary occlusion. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1454-1458.

Spadaro J, Fishbein M, Hare C, Pfeffer MA, Maroko PR. Characterization of myocardial infarcts in the rat. *Arch Pathol Lab Med* 1980; 104: 179-183.

Speed CA. Therapeutic ultrasound in soft tissue lesions. *Rhermatology* 2001; 40: 1331-1336.

Srinivas G, Anversa P, Frishman H. Cytokines and myocardial regeneration. *Cardiology in Review* 2009; 17: 1-9.

Sugita Y, Mizuno S, Nakayama N, Iwaki T, Murakami E, Wang Z, Furuhashi H. Nitric oxide generation directly responds to ultrasound exposure. *Ultrasound in Med & Biol* 2008; 34: 487-493.

Sun M, Dawood F, Wen WH, Chen M, Dixon I, Kirshenbaum LA, Liu PP. Excessive tumor necrosis factor activation after infarction contributes to susceptibility of myocardial rupture and left ventricular dysfunction. *Circulation* 2004; 110: 3221-3228.

Sun Y. Oxidative stress and cardiac repair/remodeling following infarction. *Am J Med Sci* 2007; 334: 197-205.

Sun Y. Myocardial repair/remodeling following infarction: roles of local factors. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 482-490.

Sun Y, Weber KT. Infarct scar: a dynamic tissue. *Cardiovasc Res* 2000; 46: 250-256.

Sun Y, Zhang J, Zhang JQ, Weber KT. Renin expression at sites of repair in the infarcted rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 995-1003.

Sun YL, Hu SJ, Wang LH, Hu Y, Zhou JY. Effect of beta-blockers on cardiac function and calcium handling protein in postinfarction heart failure rats. *Chest* 2005; 128: 1812-1821.

Sutton MJ, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000; 101: 2981-2988.

Sutton MJ, Lee D, Rouleau JL, Goldman S, Plappert T, Braunwald E, Pfeffer MA. Left ventricular remodeling and ventricular arrhythmias after myocardial infarction. *Circulation* 2003; 107: 2577-2582.

Takagawa J, Zhang Y, Wong ML, Sievers RE, Kapasi NK, Wang Y, Yeghiazarians Y, Lee RJ, Grossman W, Springer ML. Myocardial infarct size measurement in the mouse chronic infarction model: comparison of area and length based approaches. *J Appl Physiol* 2007; 102: 2104-2111.

Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodeling. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 449-456.

Tim A, Fischell MD, Maher A, Abbas BS, Gordon W, Grant BS, Robert J, Siegel MD. Ultrasonic Energy: effects on vascular function and integrity. *Circulation* 1991; 84: 1783-1795.

Van Bilsen M, van Nieuwenhoven FA, van der Vusse G. Metabolic remodeling of the failing heart: beneficial or detrimental? *Cardiovasc Res* 2009; 81: 420-428.

Van den Borne SWM, van de Schans VAM, Strzelecka AE, Vervoort-Peters HTM, Lijnen PM, Cleutjens JPM, Smits JFM. Mouse strain determines the

outcome of wound healing after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2009; 84: 273-282.

Vander Heider RS, Schwartz LM, Jennings RB, Reimer KA. Effect of catecholamine depletion on myocardial infarct size in dog: role of catecholamine in ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 656-662.

Vanhoutte D, Schellings M, Pinto Y, Heymans S. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: A temporal and spatial window. *Cardiovasc Res* 2006; 69: 604-613.

Virag JAI, Murry CE. Myofibroblast and endothelial cell proliferation during murine myocardial infarct repair. *Am J Pathol* 2003; 163: 2433-2440.

Virag JAI, Rolle MA, Reece J, Hardouin S, Feigi EO. Fibroblast growth factor-2 regulates myocardial infarct repair. *Am J pathol* 2007; 171: 1431-1440.

Xu Z, Park SS, Mueller RA, Bagnell RC, Patterson C, Boysen PG. Adenosine produces nitric oxide and prevents mitochondrial oxidant damage in rat cardiomyocytes. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 803-812.

Watson T. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. *Ultrasonics* 2008; 48: 321-329.

Whittaker P. Collagen and ventricular remodeling after acute myocardial infarction: concepts and hypothesis. *Basic Res Cardiol* 1997; 92: 79-81.

Yang F, Liu Y, Yang XP, Xu J, Kapke A, Carretero OA. Myocardial infarction and cardiac remodeling in mice. *Exp Physiol* 2002; 87: 547-554.

Yao YY, Yin H, Shen B, Chao L, Chao J. Tissue kallikrein infusion prevents cardiomyocyte apoptosis, inflammation and ventricular remodeling after myocardial infarction. *Regulatory Peptides* 2007; 140: 12-20.

Yaoita H, Sakabe A, Maehara K, Maruyama Y. Different effects of caverdilol, metoprolol, and propranolol on left ventricular remodeling after coronary stenosis or after permanent coronary occlusion in rats. *Circulation* 2002; 105: 975-980.

Yarbrough WM, Mukherjee R, Brinsa TA, Dowdy KB, Scott AA, Escobar GP, Joffs C, Lucas DG, Crawford FA. Matriz metalloproteinase inhibition modifies left ventricular remodeling after myocardial infarction in pigs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 125: 602-610.

Young SR, Dyson M. Effect of therapeutic ultrasound on the healing of full-thickness excised skin lesions. *Ultrasonics* 1990; 28: 175-180.

Zhao W, Zhao D, Yan R, Sun Y. Cardiac oxidative stress and remodeling following infarction: role of NADPH oxidase. *Cardiovas Pathol* 2009; 18: 156-166.

Zhout S, Schmels A, Seufferleins T, Li Y, Zhao J. Molecular mechanisms of low intensity pulsed ultrasound in human skin fibroblasts. *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279: 54463-54469.

Zimmerman SD, Criscione J, Covell JW. Remodeling in myocardium adjacent to an infarction in the pig left ventricle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: 2697-2704.

Zornoff LAM, Spadaro J. Remodelação ventricular após infarto agudo do miocárdio. Conceitos, fisiopatologia e abordagem terapêutica. *Arq Bras Cardiol* 1997; 68: 453-460.

Zornoff LAM, Cicogna AC, Paiva SAR, Spadaro J. Remodelamento e seu impacto na progressão da disfunção ventricular. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 2002; 12: 371- 377.