

UFU-UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO

Discente Marcelo Carneiro Pereira Honório

Orientador: Prof. Dr. Elmiro Santos Resende

Co-orientadora: Dra. Fernanda Rodrigues de Souza

**EFEITO COMPARATIVO DE DIFERENTES
INTERVALOS DE DOSES DO HORMÔNIO TIREOIDIANO
SOBRE A ESTRUTURA E FUNÇÃO CARDÍACA,
TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO E NOS NÍVEIS SÉRICOS
DE T3 E T4 EM RATOS QUE RECEBERAM
DOXORRUBICINA**

Uberlândia 2021

UFU-UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO

Discente Marcelo Carneiro Pereira Honório

Orientador: Prof. Dr. Elmiro Santos Resende

Co-orientadora: Dra. Fernanda Rodrigues de Souza

**EFEITO COMPARATIVO DE DIFERENTES
INTERVALOS DE DOSES DO HORMÔNIO TIREOIDIANO
SOBRE A ESTRUTURA E FUNÇÃO CARDÍACA, A
TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO E NOS NÍVEIS SÉRICOS
DE T3 E T4 EM RATOS QUE RECEBERAM
DOXORRUBICINA**

*Dissertação apresentado ao
Programa de Pós Graduação em
Ciências da Saúde da Faculdade de
Medicina da Universidade Federal
de Uberlândia como requisito
parcial para a obtenção do título de
Mestrado em Ciências da Saúde.*

*Área de concentração: Ciências da
Saúde.*

Uberlândia 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- H774e
2021
- Honório, Marcelo Carneiro Pereira, 1984-
Efeito comparativo de diferentes intervalos de doses do hormônio tireoidiano sobre a estrutura e função cardíaca, tolerância ao exercício e nos níveis séricos de T3 e T4 em ratos que receberam doxorubicina [recurso eletrônico] / Marcelo Carneiro Pereira Honório. - 2021.
- Orientador: Elmiro Santos Resende.
Coorientadora: Fernanda Rodrigues deSouza.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.8013>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.
- I. Ciências médicas. I. Resende, Elmiro Santos (Orient.). II. Souza, Fernanda Rodrigues de (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
 Av. Pará, 1720, Bloco 2H, Sala 11 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 3225-8628 - www.ppcsafamed.ufu.br - ppcsafamed@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências da Saúde				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico Nº 010/PPCSA				
Data:	22.10.2021	Hora de início:	14:00h	Hora de encerramento:	17:30h
Matrícula do Discente:	11912CSD014				
Nome do Discente:	Marcelo Carneiro Pereira Honorio				
Título do Trabalho:	Efeito Comparativo de Diferentes Intervalos de Doses do Hormônio Tireoidiano Sobre a Estrutura e Função Cardíaca, a Tolerância ao Exercício e aos Níveis Séricos de T3 e T4 em Ratos que Receberam Doxorubicina				
Área de concentração:	Ciências da Saúde				
Linha de pesquisa:	3: DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E PROGNÓSTICO DAS DOENÇAS E AGRAVOS À SAÚDE				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	EPIDEMIOLOGIA CLÍNICA E DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS DEGENERATIVAS DO APARELHO CARDIOVASCULAR				

Reuniu-se em web conferência pela plataforma Mconf-RNP, em conformidade com a PORTARIA Nº 36, DE 19 DE MARÇO DE 2020 da COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR - CAPES, pela Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, assim composta: Professores Doutores: Leandro Teixeira Paranhos Lopes (Universidade Brasileira), Wallisen Tadashi Hattori (UFU) e Elmiro Santos Resende (UFU) orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Elmiro Santos Resende, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Wallisen Tadashi Hattori, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/10/2021, às 17:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Elmiro Santos Resende, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/10/2021, às 18:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Teixeira Paranhos Lopes, Usuário Externo**, em 22/10/2021, às 21:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3123132** e o código CRC **CE797BEB**.

Agradecimentos

Contei com muitas pessoas durante a elaboração deste trabalho. Antes de tudo, devo agradecer a minha filha Marina por me encorajar a seguir sempre em frente, minha esposa, Tatiane, que foi indispensável durante todo esse processo. Ela desempenhou todos os papéis que uma pessoa pode desempenhar na escrita de um trabalho: cônjuge, amiga, fã, crítica, revisora, pesquisadora, terapeuta. Em segundo lugar, agradeço a minha família, não apenas pelo apoio e encorajamento, mas também por acreditar em mim, independentemente do projeto em que eu esteja trabalhando. Em particular, quero que minha mãe e meu pai saibam que os amo. É um sentimento especial saber que seus pais são seus maiores fãs. Em terceiro, professor Elmiro, sempre vou ser grato pela paciência e pelos ensinamentos, todas as seções desta dissertação são tanto dele quanto minhas, sou profundamente grato pela valiosa ajuda. Quanto ao conteúdo e à escrita da dissertação, tenho uma lista de pessoas para agradecer. Para começar, há algumas pessoas com quem aprendi tanto que seria um crime não as citar. Talita Cristina Rodrigues Pereira, Leandro Teixeira Paranhos Lopes, Luiz Duarte Ulhôa Rocha, Fernanda Rodrigues de Souza, Rafaella Nobre, Thiago Montes Fidale, Alexandre Gonçalves, Paulo Ricardo Lopes, e todos colegas de CARDIOEX, influenciaram meus pensamentos de maneira significativa, suas ideias estão presentes ao longo de todo o texto. Aos muitos amigos e familiares que perguntavam “Como vai o mestrado?” e ofereciam uma palavra de encorajamento quando eu inevitavelmente respondia “está quase”, “vai dar certo”, obrigado. Todo dicente enfrenta alguns momentos sombrios durante o curso, e uma palavra gentil pode ser o suficiente para renovar suas forças no dia seguinte. E, finalmente, a você. A vida é curta, e você compartilhou um pouco do seu precioso tempo comigo lendo esta dissertação. Obrigado. Outubro 2021.

Resumo

Fundamento: O emprego de doxorubicina está associado a inflamações teciduais que podem causar alterações estruturais e na função cardíaca. Os efeitos decorrentes da administração de diferentes intervalos de doses de hormônio tireoidiano na presença destas disfunções ainda não foram documentados.

Objetivo: Analisar os efeitos de diferentes doses do hormônio tireoidiano (T4) administrado por via oral, nas alterações estruturais e função do coração, na tolerância ao exercício e nos níveis séricos de T3 e T4, em ratos Wistar tratados com doxorubicina.

Método: 40 ratos Wistar foram divididos, aleatoriamente, em quatro grupos: Controle, Doxorubicina, Doxorubicina + Levotiroxina sódica (5 µg/100g, três vezes/semana) e Doxorubicina + Levotiroxina sódica (5 µg/100g, sete vezes/semana). Foram realizados pesagem do corpo e do coração, e dosagens de T3 e T4 livres, testes de tolerância ao exercício na esteira ergométrica adaptada e ecocardiografia.

Resultados: A levotiroxina sódica (HT) administrada três vezes por semana em ratos que receberam doxorubicina, causou aumento dos níveis séricos de T4, o que não ocorreu no grupo que recebeu o HT sete vezes por semana. Apenas o HT administrado sete vezes por semana, evitou a redução da tolerância ao exercício e produziu hipertrofia cardíaca.

Conclusão: A administração de 5 µg/100g de levotiroxina sódica, sete vezes por semana e iniciada após a doxorubicina não altera os níveis séricos de triiodotironina e de tetraiodotironina (T3 e T4), evita a redução da tolerância ao exercício em 10% e causa hipertrofia do coração em ratos Wistar.

Palavras-chave: Insuficiência Cardíaca, Tetraiodotironina, Teste de esforço, Esteira, Hipertrofia.

Abstract

Background: The use of doxorubicin is associated with tissue inflammation that can cause structural and cardiac function changes. The effects resulting from the administration of different doses interval of thyroid hormone in the presence of these dysfunctions have not yet been documented.

Objective: To analyze the effects of different doses of thyroid hormone (T4) administered orally on structural changes and heart function and exercise tolerance, serum levels of T3 and T4, in Wistar rats treated with doxorubicin.

Method: 40 Wistar rats were randomly divided into four groups: Control, Doxorubicin, Doxorubicin + Sodium Levothyroxine (5 µg/100g, three times/week) and Doxorubicin + Sodium Levothyroxine (5 µg/100g, seven times/week). Body, heart and free T3 and T4 measurements, exercise tolerance tests on an adapted treadmill and echocardiography were performed.

Results: Thyroid hormone (TH) administered three times a week in rats that received doxorubicin caused an increase in serum T4 levels, which did not occur in the group that received thyroid hormone (TH) seven times a week. Only thyroid hormone (TH) administered seven times a week prevented the reduction in exercise tolerance and produced cardiac hypertrophy.

Conclusion: The administration of 5 µg/100g of sodium levothyroxine seven times a week started after doxorubicin administration does not change the serum levels of tetraiodothyronine (T4) and triiodothyronine (T3), prevents reduction of exercise tolerance by 10% and causes heart hypertrophy in Wistar rats.

Keywords: Heart Failure, Tetraiodothyronine, Exercise Test, Treadmill, Hypertrophy.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SUS	Sistema único de saúde
ATP	Adenosina trifosfato
ATPase	Adenosinatrifosfatases
Ca ⁺⁺	Cálcio
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOX	Doxorrubicina
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
HC	Hipertrofia cardíaca
IC	Insuficiência cardíaca
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
K ⁺	Potássio
MHC	Cadeia pesada de miosina
MMP-1	Metaloproteinase 1
Na ⁺	Sódio
PLC	Fosfolambam
SERCA	Proteína do retículo sarcoplasmático Ca ²⁺ ATPase
TRE	Elementos responsivos aos hormônios
T3	Triiodotironina
T4	Tetraiodotironina
TSH	Hormônio estimulador da tireoide

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1- DOXORRUBICINA.....	11
1.2- INSUFICIÊNCIA CARDÍACA	13
1.3- HORMÔNIOS TIREOIDIANOS	15
1.4- JUSTIFICATIVAS PARA O ESTUDO.....	18
2. OBJETIVO GERAL	19
2.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3. METODOLOGIA.....	19
3.1- PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO / DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	19
3.2- ADMINISTRAÇÃO DE DOXORRUBICINA.....	21
3.3- ADMINISTRAÇÃO DE LEVOTIROXINA SÓDICA.....	22
3.4- TESTE DE TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO.....	22
3.5- ANESTESIA	23
3.6- ECOCARDIOGRAFIA, EUTANASIA E COLETA DE MATERIAL.....	23
3.7- ANÁLISES LABORATORIAIS.....	24
3.8- ANÁLISES ESTATÍSTICA	25
4. RESULTADOS	25
4.1- ESTADO GERAL DOS ANIMAIS E MORTALIDADE.....	25
4.2- PESO CORPORAL	25
4.3- TESTE DE TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO.....	26
4.4- PESO DO CORAÇÃO, RAZÃO PESO DO CORAÇÃO/PESO CORPORAL, TETRAIODOTIRONINA (T4), TRIIODOTIRONINA (T3) E ECOCARDIOGRAMA.....	27
5. DISCUSSÃO.....	28
6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS	31
7. CONCLUSÃO.....	31
8. REFERÊNCIAS.....	31
9. ANEXOS	39
9.1 - ANEXO A - Protocolo experimental de número 021/20 aprovado pelo CEUA.	39

1. INTRODUÇÃO

1.1- DOXORRUBICINA

A doxorubicina (DOX) é um agente quimioterápico utilizado desde a década de 60 e é um dos mais utilizados dentre os anti-tumorais disponíveis para uso clínico. A medicação desempenha um papel importante no tratamento de neoplasias humanas, dentre as quais destaca-se uma grande variedade de tumores sólidos e hematopoiéticos, e é, também, parte importante no tratamento adjuvante de neoplasias em seus estágios precoces (CHATTERJEE et al., 2010; ILISKOVIC et al., 1999; SIVESKI-ILISKOVIC N. et al., 1995). Do ponto de vista bioquímico, a DOX é um antibiótico glicosídico, pertencente ao grupo das antraciclina, produzido pelo fungo *Streptomyces peucetius*, var. *caesius*, podendo ainda ser sintetizada quimicamente a partir da daunorrubicina. A molécula de doxorubicina (Figura 1) contém um aminosacarídeo, a daunosamina, ligado por meio de uma ponte glicosídica ao núcleo da droga denominado adriamicinona. Todos os agentes citotóxicos da classe das antraciclina possuem moléculas quinona e hidroquinona nos anéis adjacentes, respectivamente nos anéis B e C, que lhes permitem funcionar como doadores e receptores de elétrons. A farmacocinética da DOX caracteriza-se por substancial ligação da droga a proteínas e aos tecidos, sendo as concentrações teciduais muito maiores do que as encontradas no plasma. A maior parte do medicamento encontrado nos tecidos está localizada no núcleo das células e, em menor quantidade, nas mitocôndrias (CHATTERJEE et al., 2010; PIÑA et al., 2003).

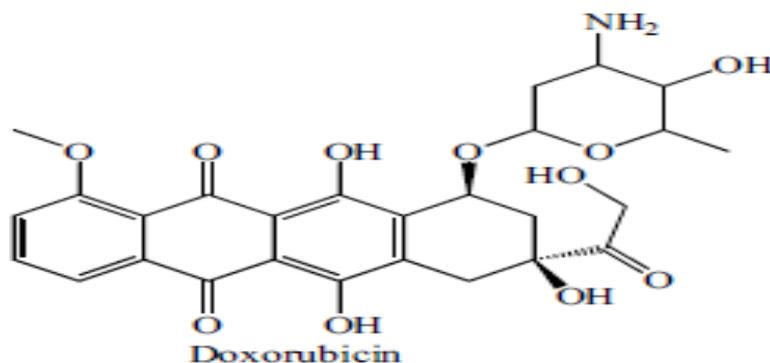


Figura 1: Estrutura química da doxorubicina (CARVALHO et al., 2009).

Entretanto, seu uso está associado a várias reações adversas, entre elas as cardiomiopatias secundárias são as mais significativas (ALBINI et al., 2010). Nesse caso, redução progressiva da função ventricular esquerda, detectada pela diminuição nas frações de encurtamento e de ejeção medidas pelo modo M do exame ecocardiográfico, são observadas em proporção significativa dos pacientes submetidos ao tratamento com DOX. Estas alterações podem conduzir ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca congestiva (AAPRO et al., 2011; TESTORE et al., 2008).

Até o momento não se sabe quais são os reais mecanismos que causam a cardiotoxicidade da DOX. Sugere-se que a produção de espécies reativas de oxigênio, apoptose de cardiomiócitos e desequilíbrio no metabolismo do cálcio estejam envolvidos nestas respostas cardiotóxicas (WOLD; ABERLE; REN, 2005; ZHANG et al., 2011).

Modelos experimentais de ratos tratados com DOX demonstraram alterações histológicas semelhantes às encontradas em humano e descritas como degeneração e perda de miócitos com hipertrofia compensatória e fibrose intersticial (O'CONNELL et al., 2017; SCHWARZ et al., 1998). Foi demonstrada também a existência de vacuolização citoplasmática nos cardiomiócitos (LEFRAK et al., 1973). Estas alterações podem produzir redução da função ventricular esquerda e direita, com diminuição do débito cardíaco, aumento da resistência vascular sistêmica devido à ativação neurohumoral e remodelamento cardíaco. O modelo experimental pode, dessa forma, contribuir para o avanço no conhecimento da doença, desde o seu diagnóstico até testes de terapias da insuficiência cardíaca (COHN et al., 1997). Em suma, as miocardiopatias induzidas por drogas podem ser utilizadas como modelos experimentais que simulam a insuficiência cardíaca encontrada em ambientes clínicos, sendo a DOX uma das mais utilizadas na tentativa de criação de miocardiopatia dilatada (SMITH et al., 1985).

Dessa forma podemos afirmar que a DOX é eficaz em promover alterações macro e microscópicas no tecido cardíaco de ratos, podendo, portanto, ser utilizada como modelo para estudos experimentais de miocardiopatias (PONTES et al., 2010).

1.2- INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

A insuficiência cardíaca (IC) pode ser definida como uma síndrome complexa caracterizada pela incapacidade do coração de propiciar suprimento suficiente para atender as necessidades metabólicas orgânicas, o que resulta em estados comuns de fadiga e dispneia inicialmente identificada aos esforços mas que pode evoluir para o aparecimento desses sintomas mesmo em repouso (D et al., 2003; ILISKOVIC et al., 1999)

Com o aumento da expectativa de vida, a prevalência e a incidência de IC vem aumentando paulatinamente, mostrando grande impacto na morbidade e mortalidade de causa cardiovascular em todo o mundo (YAMASHITA et al., 1999), Estima-se que 23 milhões de pessoas no mundo apresentem IC, e que a cada ano são descobertos quase dois milhões de novos casos. Esse aumento na quantidade de pessoas está relacionado aos avanços terapêuticos no tratamento da hipertensão arterial, infarto agudo do miocárdio e IC. Esses tratamentos aumentam a sobrevida e, conseqüentemente, o número de internações hospitalares, gerando altos custos, principalmente em países cuja população idosa é crescente (BARRETTO et al., 2002; NOGUEIRA; RASSI; CORRÊA, 2010; SIVESKI-ILISKOVIC N. et al., 1995).

Segundo os dados da Organização Mundial da Saúde (2008), as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo todo, representando cerca de 30% de todas as causas. De acordo com o DATASUS (2012), existem aproximadamente dois milhões de pacientes com IC no Brasil, com aumento de duzentos e quarenta mil novos casos por ano. As projeções indicam que em 2025, a população de idosos do Brasil será a sexta maior do mundo, com 15% da população total (30 milhões). Esse aumento do número de idosos deve resultar em um crescente número de casos de IC, trazendo, como consequência, o aumento dos gastos públicos na saúde (BARRETTO et al., 2002; NOGUEIRA; RASSI; CORRÊA, 2010).

De uma forma simples, a IC pode ser classificada como apresentando um padrão diastólico ou sistólico, com fração de ejeção do ventrículo esquerdo aumentado, parcialmente reduzido ou reduzido, com sinais e sintomas predominantes em conformidade com lado mais acometido do coração (esquerdo ou direito) e, conforme a evolução, em aguda ou crônica (VILLELA; RIBEIRO, 2009).

As insuficiências cardíacas de padrão sistólico e diastólico são definidas de acordo com as alterações hemodinâmicas predominantes e que podem ter repercussões anatômicas e histológicas. O padrão diastólico, em geral, se expressa com uma parede mais grossa com dimensões das câmaras normais ou reduzidas (hipertrofia concêntrica) enquanto o sistólico adota uma morfologia de câmaras dilatadas e com paredes finas (hipertrofia excêntrica) (KATZ; KONSTAM, 2012).

Conforme a American Heart Association (AHA), a classificação de IC crônica conforme sua evolução e progressão, pode ser feita em quatro estágios: pacientes com insuficiência cardíaca estágio A são aqueles que se encontram em alto risco para o desenvolvimento de IC, mas que ainda não tem nenhuma anormalidade estrutural aparente do coração. Pacientes com IC em estágio B apresentam anormalidade estrutural do coração, mas nunca tiveram sintomas de IC. A IC estágio C cursa com anormalidade estrutural do coração e sintomas; pacientes com IC estágio D, apresentam anormalidade estrutural do coração e quadro clínico refratário ao tratamento padrão. Sendo assim, a via final comum da maioria das doenças que acometem o coração é a IC, um dos mais importantes desafios clínicos atuais na área da saúde (SEIXAS-CAMBÃO; LEITE-MOREIRA, 2009).

Nos casos mais graves, devido à dificuldade do coração em produzir uma sístole eficiente, os tecidos do corpo recebem menor irrigação sanguínea podendo aparecer sintomas de dispneia resultantes da congestão pulmonar. Nestas condições avançadas, a IC apresenta natureza maligna e grandes taxas de mortalidade, sendo uma doença limitante até aos mínimos esforços (BARRETTO; RAMIRES, 1998). Dentre os mecanismos compensatórios para aliviar a redução do débito cardíaco (DC) está o remodelamento ventricular. Este é um processo que envolve fatores mecânicos, neurohumorais e genéticos, podendo ocorrer em consequência de diversas condições clínicas como infarto do miocárdio, cardiomiopatia, hipertensão arterial sistêmica e doença valvar, ocasionando hipertrofia cardíaca, perda de miócitos e fibrose intersticial (EICHHORN; BRISTOW, 1996). Tais mecanismos são estimulados para sustentar a perfusão de órgãos vitais e estabilizar o desempenho do coração. O débito cardíaco reduzido e a resistência vascular sistêmica aumentada estimulam o sistema nervoso simpático, levando a um aumento da frequência cardíaca, do consumo de energia pelo miocárdio, à vasoconstrição sistêmica e à ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (ROHDE et al., 2018).

Apesar das dificuldades terapêuticas ainda existentes, o tratamento da IC tem evoluído e um arsenal de metodologias e de medicamentos vem sendo investigados, sendo que alguns poucos estão incorporados às diretrizes terapêuticas atuais. Algumas moléculas orgânicas sistêmicas apresentam efeitos protetores e estimuladores do coração, dentre eles os hormônios produzidos pela tireoide, particularmente a triiodotironina (T3) e a tiroxina (T4) (BATLOUNI, 2000; KLEIN; OJAMAA, 1994).

Esses hormônios atuam produzindo elevação geral do metabolismo basal do organismo, resultando em um maior consumo de oxigênio pelos tecidos. O suprimento de oxigênio é assegurado pela vasodilatação e aumento simultâneo do débito cardíaco, facilitado pelo aumento do cronotropismo e do inotropismo, efeitos estes também decorrentes da ação dos hormônios tireoidianos. Estas ações mostram potencial de uso do hormônio tireoidiano (HT) no tratamento da IC, mas os efeitos colaterais dele decorrente limitam seu emprego. Como estes efeitos são proporcionais à dose utilizada, pode-se interrogar se doses menores ou ministradas com maior intervalo poderiam ser úteis, mantendo os efeitos favoráveis e reduzindo os deletérios.

1.3- HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

A glândula tireoide está localizada no pescoço, logo abaixo da laringe (cordas vocais). A função da tireoide é controlada pela glândula hipófise, localizada no cérebro. A hipófise produz o hormônio estimulador da tireoide (TSH), que induz a tireoide a sintetizar os seguintes hormônios: 3,5,3'-triiodotironina (T3), 3,3',5'-triiodotironina (T3 reverso ou rT3), tiroxina ou tetraiodotironina (T4). Especificamente, as células foliculares da tireoide são responsáveis pela síntese das iodotironinas, classe de hormônios formados pelo acoplamento de duas moléculas de tirosinas iodadas, composta pelo T3, T4 e rT3. O T4 é considerado o principal hormônio sintetizado e liberado pela tireoide, representando aproximadamente 90% da produção dessa glândula, porém possui uma potência biológica inferior ao T3. Ainda, é considerado um pró-hormônio, o qual é convertido a T3 nos tecidos periféricos. O T3 é a forma ativa dos hormônios da tireoide, representando 10% da produção tireoidea (KOEPPEN, 2009).

Os HT, T3 e T4 são sintetizados pelas células foliculares da tireoide e liberados no sangue; são transportados até as células-alvo dos tecidos periféricos e, ao atingirem

essas células, são transportados para o meio intracelular via transportadores de membrana específicos (FRIESEMA et al., 2003)(VISSER et al., 2008). Dentro da célula, o T4 sofre ação da enzima deiodinase do tipo 1 e do tipo 2, que desempenha papel importante na conversão de T4 em T3 nos tecidos periféricos (KÖHRLE, 2000). Desse modo, o T3 pode ativar a via não-genômica e a via genômica. A via não-genômica é ativada pela ação dos HT sobre diferentes receptores, como: o receptor de membrana integrina $\alpha v\beta 3$, as isoformas do receptor alfa dos hormônios da tireoide (TR α) presentes na membrana ou no citoplasma e as isoformas dos receptores dos HT na mitocôndria. De forma geral, a ativação desses receptores irá desencadear diversas ações não-genômicas, incluindo: a regulação de canais iônicos, a modulação da fosforilação oxidativa, a transcrição gênica mitocondrial, a geração de segundos mensageiros intracelulares, as mudanças na sinalização citosólica e a estimulação do tráfico de proteínas do citosol para o núcleo, podendo, desta forma, culminar em eventos celulares complexos que são mediados no núcleo (HAMMES; DAVIS, 2015)(DAVIS; LEONARD; DAVIS, 2008).

Na via genômica, o T3 migra para o interior do núcleo ligando-se aos receptores nucleares dos hormônios da tireoide (TR), os quais são codificados pelos genes THRA e THRB. Esses genes levam à síntese de diferentes isoformas do receptor nuclear, TR $\alpha 1$, TR $\alpha 2$, TR $\beta 1$, TR $\beta 2$ e TR $\beta 3$, que variam conforme o tecido em que estão sendo expressas (BASSETT; HARVEY; WILLIAMS, 2003). Considerados fatores de transcrição, os receptores se ligam em sequências de nucleotídeos específicas do DNA denominadas elementos responsivos ao hormônio da tireoide (TRE), que são encontrados na região promotora dos genes regulados pelo HT (YEN et al., 2006). O T4 pode atuar através dos TR, mas a afinidade desses receptores para o T4 é muito menor que a afinidade para o T3, portanto, o T3 é o ligante natural dos TR (DAVIS; LEONARD; DAVIS, 2008). Por fim, a ligação do T3 a esses receptores nucleares leva ao recrutamento de proteínas co-ativadoras da transcrição gênica. Tal complexo formado se liga ao TRE do gene-alvo, ativando sua expressão. Uma vez induzida, a transcrição dos genes responsivos aos HT, posteriormente os mesmos são traduzidos em proteínas, tal como a cadeia pesada da miosina, a SERCA, a bomba Na^+ / K^+ ATPase, os canais voltagem-dependente de K^+ , entre outras, as quais irão desencadear as ações específicas dos HT (GUYTON, 2006).

Os HT promovem ações quanto a termogênese, regulação do metabolismo, crescimento celular e manutenção da atividade mitocondrial e da atividade energética (BRIX; FÜHRER; BIEBERMANN, 2011). Apresentam também importantes ações no

sistema cardiovascular e no sistema nervoso central (HU et al., 2003)(BAUER et al., 2008). No que diz respeito ao sistema cardiovascular, o T3 eleva a frequência cardíaca (efeito cronotrópico positivo), aumenta a fração de ejeção, aumenta a força de contração (efeito inotrópico positivo), reduz o tempo de relaxamento diastólico (efeito lusitrópico positivo), diminui a resistência vascular periférica total, aumenta levemente a pressão sanguínea sistólica e reduz a pressão sanguínea diastólica. Dessa maneira a pressão de pulso é aumentada refletindo os efeitos combinados do aumento do volume de ejeção e da redução da resistência vascular periférica total, secundária à dilatação dos vasos sanguíneos na pele, músculo e coração, consequentemente contribuindo para o aumento do débito cardíaco (KOEPPEN, 2009).

Algumas doenças estão relacionadas com o mau funcionamento da tireóide, uma delas é o hipertireoidismo que acontece quando a produção e excreção de T3, T4 ou de ambos, é excessiva, resultante da hiperatividade da glândula. Os sinais e sintomas associados ao hipertireoidismo incluem fadiga, perda de peso, hiperatividade, intolerância ao calor, palpitações, aumento da frequência cardíaca e hipertensão arterial sistólica (FERNANDES, 2010). As mais frequentes manifestações cardiovasculares causadas pelo hipertireoidismo são: taquicardia, arritmias e hipertensão arterial sistólica. Este estado cardiocirculatório hiperdinâmico é causado, tanto pela ação dos hormônios sobre a transcrição gênica de proteínas regulatórias e estruturais do coração, como pelo maior consumo de oxigênio causado pelo metabolismo elevado dos tecidos (MULLER et al., 2008).

Outra doença referente ao mal funcionamento da tireoide é o hipotireoidismo, estabelecido como condição clínica decorrente da quantidade insuficiente dos HT para suprir as funções do corpo. Dentre os sintomas estão a redução do gasto energético de repouso com consequente aumento do peso corporal, níveis elevados de colesterol, redução da gliconeogênese e lipólise, cansaço, sonolência e intolerância ao esforço (MULLER et al., 2008). Esta enfermidade está relacionada ao desenvolvimento de desordens cardiovasculares como o aumento da resistência periférica, diminuição da contratilidade cardíaca por alterações na conformação estrutural da enzima ATPase, o que leva à redução da função de bomba do coração, com consequente queda do débito cardíaco (GONÇALVES et al., 2006).

O hipotireoidismo crônico, isoladamente, pode levar a um quadro de IC com manifestações e sintomas similares a outras cardiomiopatias e pode produzir

refratariedade terapêutica. O tratamento de reposição até níveis normais (eutireoidismo) reduz o risco de várias morbidades como doenças coronarianas, aumento dos níveis de colesterol, risco aumentado de infarto do miocárdio e aumento de mortalidade de causas cardiovasculares (WANG et al., 2015). Estudos demonstraram que o tratamento com HT restaura o fluxo sanguíneo coronariano, reverte a fibrose cardíaca e previne a perda de miócitos em modelo animal de doença coronariana (KHALIFE et al., 2005).

Com base na revisão de literatura acima, levantamos as seguintes questões: o tratamento com HT, contribui para melhora da estrutura, função do miocárdio e tolerância ao exercício na cardiotoxicidade induzida pelo antineoplásico doxorubicina sem alterar os níveis séricos de T3 e T4?

1.4- JUSTIFICATIVAS PARA O ESTUDO

Apesar dos significativos avanços terapêuticos conseguidos nas últimas décadas, a morbidade decorrente da IC prejudica a qualidade de vida e a mortalidade continua elevada. Neste aspecto, várias tentativas para o controle dos sintomas e da evolução da IC vêm sendo desenvolvidas utilizando-se novos conceitos fisiopatológicos, farmacológicos e várias estratégias terapêuticas. Neste contexto, as ações inotrópicas, vasodilatadoras e hipertróficas e regenerativas do HT vêm sendo analisadas pelo nosso grupo de pesquisa apresentando resultados promissores (SOUZA et al., 2014). Ademais, será importante também avaliar as alterações estruturais no miocárdio desses animais e relacioná-los com a função cardíaca *in vivo* pela ecocardiografia. Dessa forma, a análise das respostas estruturais no miocárdio obtidas com o hormônio na presença da cardiotoxicidade induzida pela DOX, poderá permitir uma avaliação de modo sistematizado e apontar caminhos a serem seguidos em futuras investigações e em novas abordagens voltadas ao avanço do tratamento da IC. Embora existam todo um racional lógico e plausibilidade biológica para a utilização do HT no tratamento da IC, há, porém, um problema central ainda sem respostas: qual seria a dose a ser aplicada, qual é o melhor regime a ser seguido nos intervalos entre doses e qual é o nível plasmático terapêutico ideal. Estas são algumas das justificativas para a realização do presente estudo.

2. OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos de diferentes intervalos de aplicação proporcionados pelo HT, administrado por via oral, nas alterações cardíacas estruturais, na função do coração, na tolerância ao exercício e nos níveis séricos de T3 e T4, em ratos Wistar tratados previamente com DOX.

2.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os efeitos de diferentes intervalos de administração do HT sobre a função cardíaca após exposição à DOX.
- Comparar os efeitos do HT sobre a tolerância ao exercício físico.
- Comparar os níveis plasmáticos de T3 e T4 obtidos com diferentes intervalos de doses do HT.

3. METODOLOGIA

3.1- PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO / DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O cálculo amostral foi executado pelo software de livre distribuição GPOWER, versão 3.1.9.4, considerando-se o nível de significância para $p < 0,05$, poder do teste de 0,80 e um tamanho de efeito médio de 0,50. Como resultado foi obtido um valor de $n = 10$ a 11 animais por grupo o que totalizaria 40 a 45 ratos. Considerando o princípio da redução, optou-se por utilizar o menor valor indicado sendo utilizados o total de 40 animais (CHARAN; KANTHARIA, 2013; FAUL et al., 2009; PREACHER; HAYES, 2008).

Em resumo, para cada uma das condições experimentais descritas, foram utilizados 10 animais em cada grupo para identificar diferenças estatisticamente significantes e biologicamente relevantes entre o estado basal e os efeitos do tratamento. Esse tamanho amostral baseia-se em nossa experiência de trabalhar com estes animais nas condições experimentais descritas, além do cálculo do poder de análise. Especificamente, nosso objetivo foi coletar todos os dados em, ao menos, 80% dos ratos, prevendo-se a perda possível de dois ratos em cada grupo experimental, dado ao

envelhecimento dos animais, a duração dos experimentos e fatores aleatórios (SOUZA et al., 2014b).

Foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar, machos, com peso inicial médio de 375 ± 30 gramas, provenientes do Rede de Biotérios (REBIR) da UFU. Condições ambientais semelhantes foram mantidas para todos os grupos no que se refere à temperatura (25°), umidade relativa do ar, nível de ruído e luminosidade (ciclos claro/escuro 12h/12h). Os animais foram alimentados com ração e água “ad libitum”. Todos os procedimentos e manejo dos animais foram realizados de acordo com os princípios éticos para o uso de animais de laboratório do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e o protocolo experimental de número 021/20 foi aprovado pelo CEUA da instituição como demonstra o anexo A.

Os 40 animais foram pesados e distribuídos aleatoriamente nos quatro grupos experimentais identificados como Controle (C), Doxorrubicina (DOX), Doxorrubicina e Hormônio sete vezes/semana (DOXHT7X) e Doxorrubicina e Hormônio três vezes/semana (DOXHT3X). Os detalhes da distribuição estão demonstrados na Figura 2.

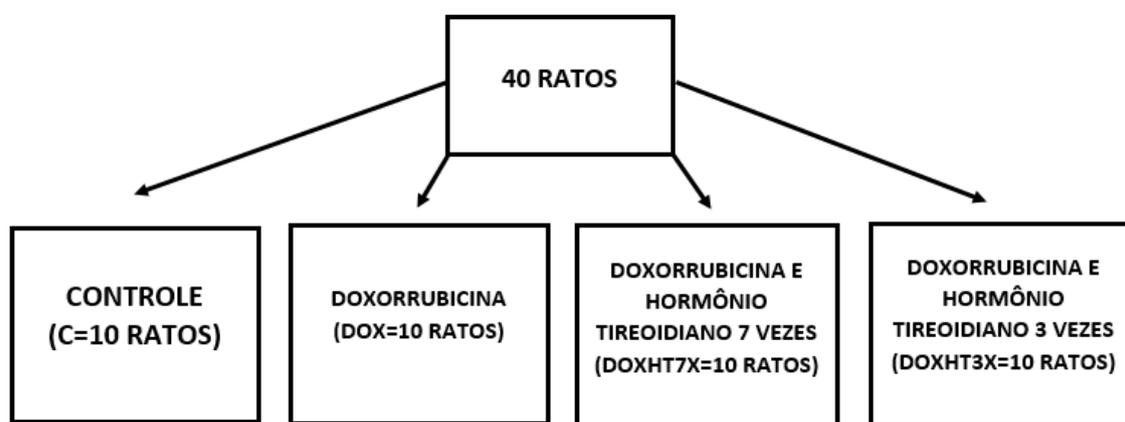


Figura 2: Distribuição dos animais nos diversos grupos experimentais.

Os animais dos grupos DOX, DOXHT7X e DOXHT3X receberam injeções intraperitoneais de solução de cloridrato de doxorrubicina, enquanto o grupo C recebeu volume igual de solução salina via intraperitoneal, no mesmo regime empregado para os animais tratados com doxorrubicina (FIDALE et al., 2018).

Os animais dos grupos DOXHT7X e DOXHT3X receberam levotiroxina sódica por meio de sondagem orogástrica enquanto os grupos C e DOX receberam volume igual

de solução salina via sondagem orográstica, no mesmo regime empregado para os animais tratados com levotiroxina sódica (ENGELMAN et al., 2001).

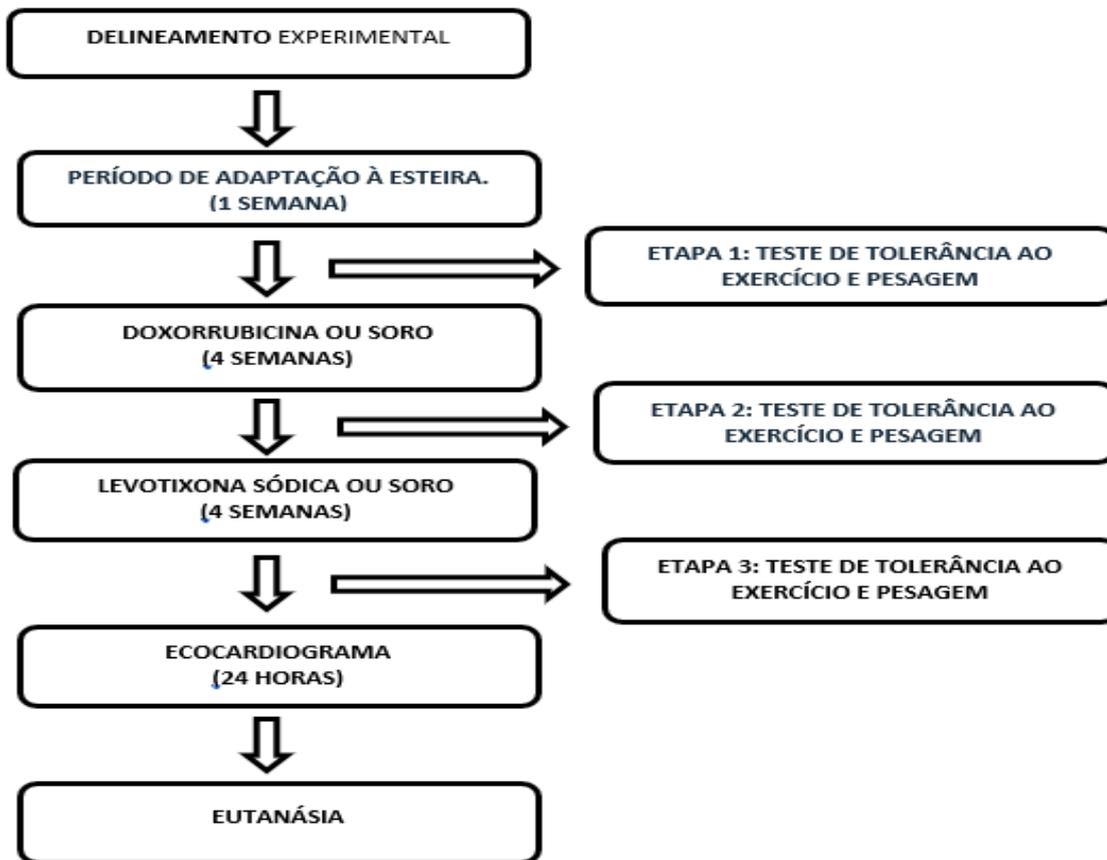


Figura 3: Demonstra o desenho experimental utilizado.

3.2- ADMINISTRAÇÃO DE DOXORRUBICINA

Para induzir a cardiotoxicidade, os animais que pertencem aos grupos DOX, DOXHT7X e DOXHT3X receberam injeções intraperitoneais de cloridrato de doxorubicina (EVORUBICIN Farmarin Industria E Comercio Ltda), três vezes por semana, ao longo de duas semanas, atingindo-se a dose cumulativa de 7,5 mg/kg. O grupo C recebeu volume igual de solução salina via intraperitoneal, no mesmo regime empregado para os animais tratados com doxorubicina (FIDALE et al., 2018).

3.3- ADMINISTRAÇÃO DE LEVOTIROXINA SÓDICA

A levotiroxina sódica foi administrada com o animal em jejum de duas horas, por meio de sondagem orogástrica, durante quatro semanas, utilizando-se o instrumento IC 810 (agulha de gavagem para ratos) de aço inox BD-12, com cânula com diâmetro de 1,2 mm, com esfera de 2,3mm na extremidade distal, raio de 40 mm e comprimento de 54 mm; a dose administrada foi de 5 µg/100g de peso corporal de uma suspensão de tiroxina (Levotiroxina Sódica MERCK) a 0,1% que foi obtida a partir de 10 comprimidos de 100 µg de T4 diluídos em 10 ml de água destilada (ENGELMAN et al., 2001).

Após a realização do teste de esforço final, os animais continuaram a receber levotiroxina sódica ou soro. No dia da realização do ecocardiograma e eutanásia nenhum dos grupos recebeu hormônio tireoidiano ou solução salina.

3.4- TESTE DE TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO

Os animais foram submetidos ao teste de tolerância ao esforço em três diferentes etapas durante o protocolo experimental. O primeiro teste foi realizado no início do protocolo, o segundo foi realizado após a quarta semana e o terceiro ocorreu após a oitava semana, sendo que o último teste foi realizado 24 horas após o término do protocolo para avaliar, ao fim do estudo, o efeito acumulativo individual e entre grupos, do tratamento realizado com o hormônio tireoidiano. Todos os animais participaram de um período de adaptação à esteira para se familiarizarem com o protocolo caminhando, diariamente, 5 minutos a uma velocidade de 5m/min durante uma semana antes do teste (MENDES et al., 2013).

Foi utilizado, para o teste de esforço físico, uma esteira para ratos adaptada pelo CARDIOEX (Grupo de Cardiologia e Exercício do Laboratório de Ciências Experimentais da Universidade Federal de Uberlândia- UFU).

A metodologia de aplicação do teste de tolerância ao esforço consistiu em um protocolo incremental que se iniciava a uma velocidade de 6 m/min, seguido de aumento de 3 m/min a cada 3 minutos, até a exaustão. A exaustão foi constatada quando o animal se recusava a executar a caminhada ou se mostrava incapaz de realizar os passos, mesmo

após estimulação sonora produzida por três batidas na parede posterior da esteira (CARVALHO; MASUDA; POMPEU, 2005).

3.5- ANESTESIA

Os animais foram anestesiados 24 h após o término do teste de tolerância ao esforço com associação de ketamina (Ketamina 10%, Agener União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil, 74 mg/kg) e xilazina (Dopaser, Laboratórios Calier, SA, Barcelona, Espanha, 8 mg/kg) administrados por injeção via intraperitoneal, permitindo ao animal manter a respiração espontânea; em seguida os animais foram encaminhados para realização do ecocardiograma (LOPES, 2018).

3.6- ECOCARDIOGRAFIA, EUTANASIA E COLETA DE MATERIAL

O ecocardiograma foi realizado utilizando-se o equipamento ESAOTE modelo MyLab VET 30 gold, gerando imagens nos modos uni e bidimensional. Utilizou-se transdutor setorial com frequência de 10 Mhz, profundidade de 3,0 cm, e ângulo setorial de 75°. No modo M, ao corte transversal paraesternal direito no plano das cordoalhas tendíneas, foram mensurados os diâmetros do ventrículo esquerdo durante a diástole (DIVED) e sístole (DIVES) para posterior cálculo da fração de encurtamento (FS) pela fórmula $FS\% = [(DIVED - DIVES) / DIVED] \times 100$. No mesmo corte foram medidos os volumes finais diastólico (VDF) e sistólico (VSF), pelo método de Teicholz, para posterior cálculo da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) pela fórmula $FEVE = [(VDF - VSF) / VDF] \times 100$, e registrada a frequência cardíaca (FC).

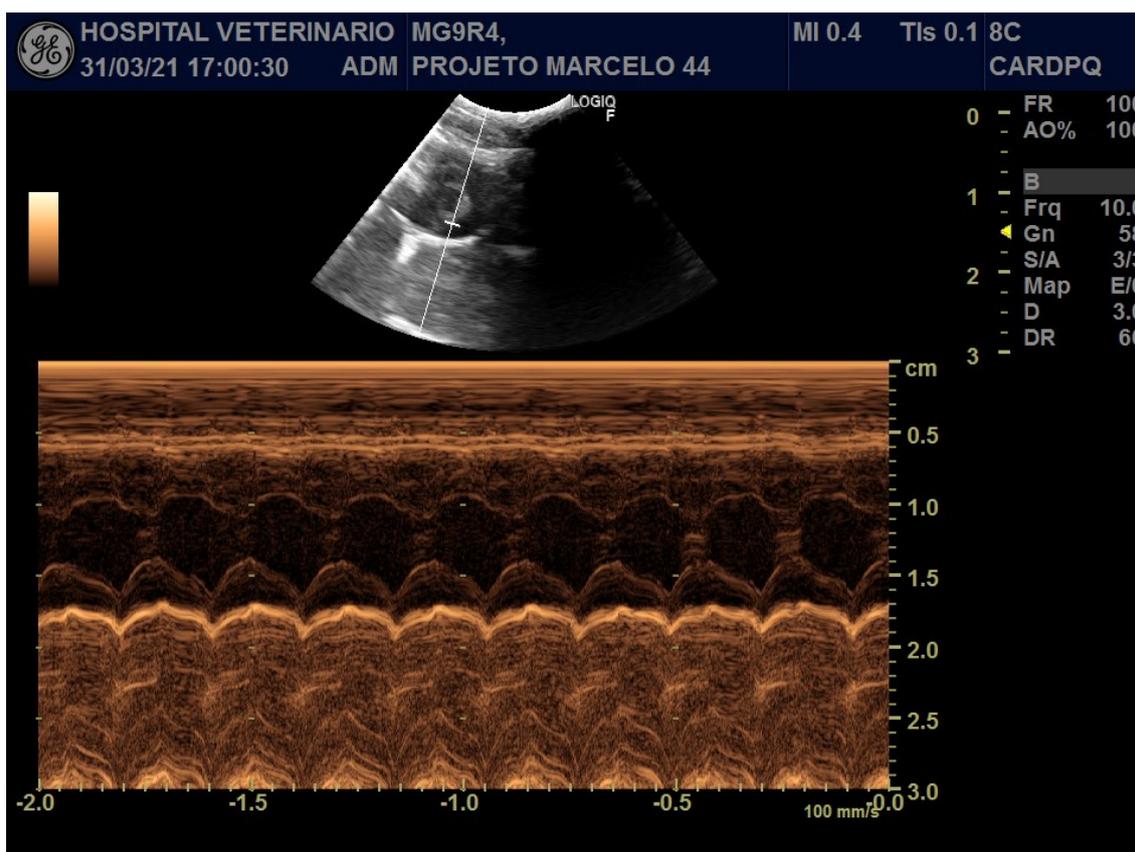


Figura 3: Avaliação ecocardiográfica

Para análise da estrutura e da função cardíaca, foram avaliados os parâmetros ecocardiográficos de todos os animais dos grupos. Os parâmetros da função sistólica do ventrículo esquerdo observados foram a fração de encurtamento e a fração de ejeção.

Ao final do ecocardiograma com os animais ainda anestesiados, procedeu-se à abertura do tórax para a coleta do sangue por punção cardíaca direta e para a remoção do coração. Em seguida os corações foram lavados com solução de NaCl 0,9%, secados em papel de filtro, pesados em balança de precisão e fixados em formol 10%.

3.7- ANÁLISES LABORATORIAIS

Após a punção cardíaca, as amostras de sangue foram colocadas em tubos de ensaio VACUETTE® com gel separador e levadas ao laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário da UFU para análise. Para determinação de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) foram utilizados os kits da marca INTERKIT® e a análise foi feita através do método de ensaio de imun absorção ligado à enzima (ELISA).

3.8- ANÁLISES ESTATÍSTICA

Os dados coletados no presente estudo apresentaram distribuição normal, o que foi verificado pelo teste de Shapiro-Wilk, e são expressos como média e desvio padrão. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software SPSS 24.0 Statistical Package Program for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

Para comparação das médias da razão entre peso do coração e peso corporal, do tempo de esforço ao exercício entre grupos, peso do coração, níveis hormonais (T4 livre: Tetraiodotironina livre, T3 livre: Triiodotironina livre) e dados ecocardiográficos, foi utilizada a análise de variância e um p-valor de $<0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Para comparação das médias de peso dos ratos entre os três períodos de pesagem e das médias de tempo de esforço dos ratos entre os três períodos, foi utilizada a análise de variância para medidas repetidas e um p-valor de $<0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4. RESULTADOS

4.1- ESTADO GERAL DOS ANIMAIS E MORTALIDADE

Após as três primeiras aplicações de doxorubicina, os animais mostraram piloereção, pelagem amarelada e exsudação ao redor dos olhos e narinas.

A sobrevivência dos animais que receberam a dose acumulada de 7,5 mg/kg de doxorubicina foi de 100%. Durante a anestesia para a realização do ecocardiograma um rato do grupo DOX e dois ratos do grupo DOXHT7X morreram, sendo excluídos de todos os testes.

4.2- PESO CORPORAL

A tabela 1 mostra um aumento de peso quando comparadas a etapa 1 e etapa 3 dentro dos grupos, em todos os grupos, e mostra também um aumento de peso quando comparadas a etapa 2 e etapa 3 dentro dos grupos, em todos os grupos. O grupo DOX mostrou aumento de peso entre todas as etapas dentro do grupo.

Tabela 1 – Comparação das médias de peso dos ratos em gramas entre os 3 períodos de pesagem por meio da análise de variância para medidas repetidas.

Grupo	Etapa						p valor
	Peso (Etapa 1)	Desvio padrão	Peso (Etapa 2)	Desvio padrão	Peso (Etapa 3)	Desvio padrão	
Controle	394,28*	39,09	415,75 [#]	20,56	454,78 ^{*,#}	22,97	0,00
Doxorrubicina	359,91*	28,02	370,45*	26,98	411,70*	30,26	0,00
Doxorrubicina HT 7x	378,23*	19,65	385,97 [#]	16,81	420,79 ^{*,#}	17,07	0,00
Doxorrubicina HT 3x	367,86*	14,15	372,32 [#]	14,34	410,82 ^{*,#}	14,88	0,00

Legenda: *, #, \$ Símbolos iguais indicam os pares que são diferentes para $p < 0,05$.

4.3- TESTE DE TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO

A tabela 2 não mostra diferença no teste de tolerância ao esforço entre os grupos.

Tabela 2 – Comparação das médias do esforço em segundos dos ratos entre os grupos pesquisados por meio da análise de variância

Teste de tolerância ao exercício	Grupo								P valor
	Controle		Doxorrubicina		DOXO HT 7x		DOXO HT 3X		
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
Etapa 1	740,60	194,30	831,60	199,87	701,90	130,63	743,70	167,69	0,41
Etapa 2	623,10	166,99	777,20	181,09	653,60	137,85	717,70	183,92	0,19
Etapa 3	644,50	172,89	616,50	178,44	640,70	131,54	605,30	112,15	0,92

A tabela 3 mostra, no grupo DOX, que houve redução no resultado do teste de tolerância ao exercício entre a etapa 1 e a etapa 3. O mesmo efeito ocorreu no grupo DOXHT3X, com redução entre a etapa 2 e a etapa 3. Os grupos C e DOXHT7X não apresentaram diferença em nenhum dos períodos.

Tabela 3 – Comparação das médias de esforço em segundos dos ratos entre os 3 períodos por meio da análise de variância para medidas repetidas.

Grupo	Etapa						p valor
	teste de esforço (Etapa1)	Desvio padrão	teste de esforço (Etapa 2)	Desvio padrão	teste de esforço (Etapa 3)	Desvio padrão	
Controle	740,60	194,30	623,10	166,99	644,50	172,89	0,06
Doxorrubicina	831,60	199,87	777,20*	181,09	616,50*	178,44	0,01
Doxorrubicina HT 7x	701,90	130,63	653,60	137,85	640,70	131,54	0,41
Doxorrubicina HT 3x	743,70*	167,69	717,70	183,92	605,30*	112,15	0,00

Legenda: *, #, \$ Símbolos iguais indicam os pares que são diferentes para $p < 0,05$.

4.4- PESO DO CORAÇÃO, RAZÃO PESO DO CORAÇÃO/PESO CORPORAL, TETRAIODOTIRONINA (T4), TRIIODOTIRONINA (T3) E ECOCARDIOGRAMA

A tabela 4 mostra uma diferença da razão peso coração/peso corporal entre os grupos DOX e DOXHT7X. Mostra também que não houve alterações ecocardiográficas entre os grupos. Quando comparados os pesos do coração, apenas o grupo DOXHT7X apresentou maior peso em relação ao grupo DOX. O grupo DOXHT3X demonstrou aumento de T4 em relação ao grupo C e DOXO.

Tabela 4 – Comparação das médias da Razão, peso do coração, hormônio tireoidiano e dados ecocardiográficos

Variável	Grupo								P valor
	Controle		Doxorrubicina		Doxorrubicina HT 7x		Doxorrubicina HT 3x		
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
Razão (gramas)	0,19	0,01	0,20*	0,03	0,21*	0,02	0,21	0,02	0,04
Peso do coração (gramas)	0,86	0,06	0,82*	0,08	0,92*	0,09	0,84	0,04	0,02
T3 LIVRE ZIVIA (ng/dL)	2,13	0,10	2,18	0,11	2,16	0,25	2,23	0,22	0,70
T4 LIVRE ZIVIA (ng/dL)	6,57*	0,59	6,71 [#]	0,40	6,99	1,15	7,92* [#]	0,76	0,00
SIVd (cm)	0,13	0,02	0,12	0,03	0,14	0,02	0,13	0,02	0,52
SIVs (cm)	0,22	0,05	0,22	0,03	0,23	0,02	0,21	0,04	0,87
DIVEd (cm)	0,64	0,05	0,67	0,07	0,60	0,07	0,66	0,05	0,08
DIVEs (cm)	0,39	0,04	0,43	0,07	0,39	0,05	0,40	0,04	0,26
PPVEd (cm)	0,15	0,04	0,15	0,03	0,15	0,02	0,15	0,05	0,99
PPVEs (cm)	0,23	0,03	0,21	0,03	0,24	0,03	0,23	0,04	0,12
VDF (mL)	0,61	0,12	0,72	0,22	0,51	0,17	0,66	0,13	0,08
VSF (mL)	0,16	0,05	0,21	0,10	0,15	0,05	0,17	0,05	0,17
FEVE %	74,63	4,99	69,90	9,82	69,20	7,46	74,83	4,81	0,18
Delta D %	38,68	4,19	35,54	8,24	34,42	5,73	38,94	4,10	0,77
FC (bpm)	273,30	28,72	271,22	17,33	308,13	50,41	290,90	52,04	0,20

Legenda: *, #, \$ Símbolos iguais indicam os pares que são diferentes para p<0,05.

Razão: Peso do coração/peso corporal, T4 livre: Tetraiodotironina livre, T3 livre: Triiodotironina livre, DIVEd: Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole, DIVEs: Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole, SIVd: Espessura do septo intraventricular na diástole, SIVs: Espessura do septo intraventricular na sístole, PPVEd: Parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole, PPVEs: Parede posterior do ventrículo esquerdo na sístole, VDF: Volume diastólico final, VSF: Volume sistólico final, FEVE: Fração de ejeção, Delta D: Relação entre a massa ventricular e a espessura relativa das paredes, FC: Frequência cardíaca.

5. DISCUSSÃO

A cardiotoxicidade causada pela DOX é cumulativa e dose-dependente. Tem um padrão de comprometimento bastante variável podendo avançar para quadros de IC com desenvolvimento de formas clínicas graves, inclusive com desfecho letal. Algumas alterações cardíacas produzidas pela DOX foram descritas anteriormente pelo nosso grupo utilizando o mesmo modelo experimental do presente estudo (DUARTE, 2017; FIDALE, 2017; SOUZA, 2017). Outros autores também as descreveram alterações em outros modelos experimentais com animais e são semelhantes às relatadas em humanos. Elas são caracterizadas por alterações cardíacas macroscópicas, microscópicas e funcionais (AROLA et al., 2000; DOROSHOW; TALLENT; SCHECHTER, 1985; GUREL et al., 2019; ROHDE et al., 2018; STEINHERZ et al., 1991; YEH; BICKFORD, 2009).

O aparecimento de reações sistêmicas durante um ciclo de tratamento, podem demonstrar a condição tóxica desencadeada pela DOX. Comprovando essa ação, em nossos experimentos observamos menor ganho de peso, com exsudação ao redor dos olhos e narinas. Esses efeitos sistêmicos são descritos com a DOX, que interfere nos processos metabólicos orgânicos, e podem ser ainda mais intensos quando doses maiores do quimioterápico são administradas (STEINHERZ et al., 1991).

De acordo com a literatura, na fisiologia humana, os HT, T4 e T3, atuam produzindo elevação geral do metabolismo basal do organismo humano, resultando em um maior consumo de oxigênio pelos tecidos. Essa demanda elevada é assegurada pela vasodilatação periférica e pelo aumento simultâneo do débito cardíaco, facilitado pelo aumento do cronotropismo e do inotropismo (GUYTON, 2006).

Em estudos prévios, inclusive do nosso grupo de pesquisa, foi evidenciado efeito protetor do HT quando ministrado após o uso da DOX em ratos Wistar. Devido aos potenciais efeitos tóxicos de doses supra-fisiológicas do HT no sistema cardiovascular, a sua utilização em estados de disfunção cardíaca, em IC, torna-se prejudicada (ORTIZ et al., 2019)(SOUZA et al., 2014b).

A hipótese que motivou o presente estudo é que doses ministradas em maiores intervalos poderiam preservar os efeitos desejados e reduzir os deletérios na função

cardiovascular como um todo. Para a comprovação dessa hipótese, duas questões devem ser respondidas. A primeira delas é verificar se o HT pode atenuar a cardiotoxicidade; a segunda é saber qual frequência de administração deve ser empregada tendo em conta os efeitos favoráveis e desfavoráveis do HT.

Para responder a essas questões, inicialmente é preciso validar a metodologia utilizada, uma vez que a identificação clínica da disfunção cardíaca em animais não é fácil. Uma das dificuldades de interpretação dos resultados de modelos experimentais que utilizam a DOX como indutora de cardiotoxicidade, é quantificar o grau da disfunção cardíaca em relação à dose do quimioterápico administrada no experimento. Identificar a IC e todas as suas manifestações clínicas conhecidas em experimentos com animais é um desafio neste contexto. No entanto, outros modelos experimentais usando dose semelhante de DOX, cursaram com redução leve da função sistólica, com alterações das câmaras cardíacas e redução da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, fatos que não foram detectados no presente estudo (DUARTE, 2017; FIDALE, 2017; SOUZA et al., 2014b).

Desfechos substitutos podem ser utilizados para comprovar efeitos da cardiotoxicidade causada pela DOX no presente modelo. Uma das alterações encontradas nas disfunções cardíacas nas quais ocorre comprometimento da função cardíaca é a redução da tolerância ao exercício. Este fato ocorre, pelo menos em parte, em decorrência da redução do débito cardíaco quando o animal é submetido ao estresse físico. A redução dos valores encontrados no teste de tolerância ao exercício dos animais que receberam o quimioterápico comprova a presença da disfunção cardiovascular. Não se pode, contudo, descartar efeitos periféricos, tanto ao nível de redução da perfusão tecidual como de alterações metabólicas musculares, que poderiam, também, estar envolvidos na resposta rebaixada do teste de tolerância ao exercício. Como o presente estudo não foi desenhado para responder a esta questão, novas pesquisas são necessárias para tentar quantificar a real participação desses elementos na resposta obtida.

Ao analisar a questão das diferentes respostas obtidas com as doses diárias ou intervaladas do HT, observamos que o tratamento realizado com a T4, sete vezes por semana, foi capaz de evitar uma redução significativa no teste de tolerância ao exercício quando comparado com os outros grupos que receberam DOX. Porém, esta resposta favorável não foi reproduzida nas doses intervaladas de T4. Outra questão que pode decorrer do uso em regimes de administração diferente é o nível de hormônio atingido no

sangue periférico. As dosagens de T3 e T4 livres na corrente sanguínea mostraram que houve um aumento significativo do HT no grupo DOXHT3X em relação aos grupos C e DOX, ambos os grupos que não receberam hormônio tireoidiano. Este aumento do T4 livre não ocorreu no grupo DOXHT7X, mesmo tendo ele recebido uma dose semanal 2,33 vezes maior que o grupo DOXHT3X. Dessa forma, a dose de 5 µg/100g de peso corporal de T4 ministrada sete vezes por semana não aumentou a concentração de T4 e T3 no sangue. Este fato parece demonstrar uma maior estabilidade dos níveis séricos que pode ter sido obtida a partir de adaptações fisiológicas no perfil metabólico dos animais e decorrentes da exposição diária e continuada, ao contrário do que ocorre quando se utiliza o intervalo maior entre as doses. Uma dose única semanal alta de levotiroxina demonstrou ser eficaz e segura em ensaios clínicos (RANGAN et al., 2007). Entretanto, não foram encontrados na literatura relatos sobre a administração de levotiroxina três vezes por semana (BORNSCHEIN, 2010; KAHALY, 2000; MORRIS, 2009).

Contudo, sabe-se que o HT provoca inúmeras alterações morfofuncionais que ocorrem tanto a nível central como periférico, minimizando a intolerância ao exercício e reduzindo a fadiga precoce, desde que não se atinja níveis séricos capazes de produzir toxicidade, como evidenciado nos casos de tireotoxicose (LUIZA MAIA et al., 2013). Por sua vez, no hipotireoidismo manifestam-se vários problemas cardíacos, como a redução da fração de ejeção ventricular, redução da frequência cardíaca, aumento na resistência vascular periférica e disfunção diastólica (KLEIN; DANZI, 2007). Existem também mudanças significativas nos fatores de risco ateroscleróticos modificáveis, incluindo hipercolesterolemia, hipertensão diastólica, aumento da espessura da íntima da carótida, e óxido nítrico endotelial reduzido (CAPPOLA; LADENSON, 2003).

É exatamente essa toxicidade adicional decorrentes do excesso do HT que precisa ser minimizada para que sua utilização possa ocorrer com segurança na IC. Enquanto não se consegue a redução dos efeitos indesejáveis do HT, nossos resultados indicam que a utilização de doses baixas e diárias parece ser a mais recomendada em modelos animais (MAIA et al., 2013; MOUROUZIS et al., 2012).

Em suma, em modelos experimentais a maneira mais simples de demonstrar remodelação cardíaca é calcular a razão entre peso do coração e peso corporal. A hipertrofia cardíaca pode ser definida como o aumento de peso do coração que ocorre por aumento de volume do órgão e de seus componentes, sendo uma das características mais peculiares do coração, a sua capacidade de alterar sua forma geométrica de diferentes

modos quando submetido a sobrecargas de diferentes padrões. Portanto, os resultados favoráveis do teste de esforço e da razão entre peso do coração e peso corporal sugerem que houve hipertrofia do coração no grupo DOXHT7X (ZAZYCKI; GOMES, 2009).

6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS

Nosso estudo apresenta limitações relacionadas à metodologia utilizada para avaliar a cardiotoxicidade e as respostas induzidas pelo HT. A dosagem de alguns marcadores bioquímicos plasmáticos, como troponinas e peptídeos natriuréticos, e análise histológica, podem ser úteis na detecção e mensuração da intensidade de danos estruturais no coração.

7. CONCLUSÃO

A administração de 5 µg/100g de levotiroxina sódica sete vezes por semana iniciada após a administração de doxorubicina (DOX) não altera os níveis séricos de tetraiodotironina (T4) e triiodotironina (T3), evita redução do teste de tolerância ao esforço e causa hipertrofia cardíaca em ratos Wistar.

8. REFERÊNCIAS

AAPRO, M. et al. Anthracycline cardiotoxicity in the elderly cancer patient: a SIOG expert position paper. **Annals of Oncology**, v. 22, n. 2, p. 257–267, 1 fev. 2011.

ALBINI, A. et al. Cardiotoxicity of Anticancer Drugs: The Need for Cardio-Oncology and Cardio-Oncological Prevention. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 102, n. 1, p. 14–25, jan. 2010.

AROLA, O. J. et al. Acute doxorubicin cardiotoxicity involves cardiomyocyte apoptosis. **Cancer research**, v. 60, n. 7, p. 1789–1792, 2000.

BARRETTO, A. C. P. et al. Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Cardíaca. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, p. 1–30, 2002.

- BARRETTO, A. C. P.; RAMIRES, J. A. F. Insuficiência cardíaca. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 71, n. 4, p. 635–642, 1998.
- BASSETT, J. H. D.; HARVEY, C. B.; WILLIAMS, G. R. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 213, n. 1, p. 1–11, 31 dez. 2003.
- BATLOUNI, M. Diretrizes da {Sociedade} {Brasileira} de {Cardiologia} para o {Diagnóstico} e {Tratamento} da {Insuficiência} {Cardíaca}: aspectos relevantes na prática clínica. **Manual de Cardiologia: SOCESP**, p. 53–64, 2000.
- BAUER, M. et al. The Thyroid-Brain Interaction in Thyroid Disorders and Mood Disorders. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, n. 10, p. 1101–1114, 1 out. 2008.
- BORNSCHEIN, A. Alterações hormonais e ecocardiográficas associadas a dose semanal de Levotiroxina no tratamento do hipotireoidismo primário. 2010.
- BRIX, K.; FÜHRER, D.; BIEBERMANN, H. Molecules important for thyroid hormone synthesis and action - known facts and future perspectives. **Thyroid Research 2011 4:1**, v. 4, n. 1, p. 1–6, 3 ago. 2011.
- CAPPOLA, A. R.; LADENSON, P. W. Hypothyroidism and Atherosclerosis. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 6, p. 2438–2444, 1 jun. 2003.
- CARVALHO, C. et al. Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 25, p. 3267–3285, 22 jul. 2009.
- CARVALHO, J. F.; MASUDA, M. O.; POMPEU, F. A. M. S. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology**, v. 140, n. 4, p. 409–413, abr. 2005.
- CHARAN, J.; KANTHARIA, N. How to calculate sample size in animal studies? **Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics**, v. 4, n. 4, p. 303, 2013.
- CHATTERJEE, K. et al. **Doxorubicin cardiomyopathy** *Cardiology*, 2010. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/265166>>

COHN, J. N. et al. Effect of the calcium antagonist felodipine as supplementary vasodilator therapy in patients with chronic heart failure treated with enalapril: V- HeFT III. **Circulation**, v. 96, n. 3, p. 856–863, 5 ago. 1997.

D, T. et al. Myocardial cytoprotection by trimetazidine against anthracycline-induced cardiotoxicity in anticancer chemotherapy. **Angiology**, v. 54, n. 2, p. 219–227, 2003.

DAVIS, P. J.; LEONARD, J. L.; DAVIS, F. B. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 29, n. 2, p. 211–218, 1 maio 2008.

DOROSHOW, J. H.; TALLENT, C.; SCHECHTER, J. E. Ultrastructural features of Adriamycin-induced skeletal and cardiac muscle toxicity. **The American journal of pathology**, v. 118, n. 2, p. 288, 1985.

DUARTE, P. Efeitos da leucina no estresse oxidativo hepático e renal em ratos tratados com doxorubicina. 4 ago. 2017.

EICHHORN, E. J.; BRISTOW, M. R. Medical Therapy Can Improve the Biological Properties of the Chronically Failing Heart. **Circulation**, v. 94, n. 9, p. 2285–2296, 1 nov. 1996.

ENGELMAN, M. F. B. et al. Estudo morfométrico do fígado de ratos submetidos a doses supra-fisiológicas de tiroxina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 45, n. 2, p. 173–179, abr. 2001.

FAUL, F. et al. Statistical power analyses using G* Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. **Behavior research methods**, v. 41, n. 4, p. 1149–1160, 2009.

FERNANDES, R. O. Hipertrofia cardíaca induzida pelo hipertireoidismo experimental : papel do estado redox sobre proteínas envolvidas em vias de sinalização intracelular para crescimento, sobrevivência e morte celular. 2010.

FIDALE, T. M. Efeitos da suplementação de leucina no coração de ratos tratados com doxorubicina. 2017.

FIDALE, T. M. et al. Increased Dietary Leucine Reduces Doxorubicin-Associated Cardiac Dysfunction in Rats. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 2018.

FRIESEMA, E. C. H. et al. Identification of Monocarboxylate Transporter 8 as a Specific Thyroid Hormone Transporter *. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 41, p. 40128–40135, 10 out. 2003.

GONÇALVES, A. et al. Effect of thyroid hormones on cardiovascular and muscle systems and on exercise tolerance: a brief review. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, n. 3, p. e45–e47, set. 2006.

GUREL, C. et al. Fluvastatin attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats by reducing oxidative stress and regulating the blood–testis barrier via mTOR signaling pathway. **Human & experimental toxicology**, v. 38, n. 12, p. 1329–1343, 2019.

GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia Medica**. [s.l.] Elsevier Brasil, 2006.

HAMMES, S. R.; DAVIS, P. J. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 29, n. 4, p. 581–593, 1 ago. 2015.

HU, L. W. et al. Thyroxine-induced cardiac hypertrophy: influence of adrenergic nervous system versus renin-angiotensin system on myocyte remodeling. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00269.2003>, v. 285, n. 6 54-6, p. 1473, 2003.

ILISKOVIC, N. et al. Mechanisms of beneficial effects of probucol in adriamycin cardiomyopathy. In: DAS, D. K. (Ed.). . **Stress Adaptation, Prophylaxis and Treatment**. Molecular and Cellular Biochemistry. Boston, MA: Springer US, 1999. p. 43–49.

KAHALY, G. J. Cardiovascular and atherogenic aspects of subclinical hypothyroidism. **Thyroid**, v. 10, n. 8, p. 665–679, 2000.

KATZ, A. M.; KONSTAM, M. A. **Heart Failure: Pathophysiology, Molecular Biology, and Clinical Management**. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

KHALIFE, W. I. et al. Treatment of subclinical hypothyroidism reverses ischemia and prevents myocyte loss and progressive LV dysfunction in hamsters with dilated cardiomyopathy. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00483.2005>, v. 289, n. 6 58-6, p. 2409–2415, dez. 2005.

KLEIN, I.; DANZI, S. Thyroid Disease and the Heart. **Circulation**, v. 116, n. 15, p. 1725–1735, 9 out. 2007.

KLEIN, I.; OJAMAA, K. Thyroid hormone and the cardiovascular system: from theory to practice. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 78, n. 5, p. 1026–1027, maio 1994.

KOEPPEN, B. M. ; S. B. A. Berne & Levy: fisiologia. p. 844–844, 2009.

KÖHRLE, J. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS** 2000 **57:13**, v. 57, n. 13, p. 1853–1863, 2000.

LEFRAK, E. A. et al. A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity. **Cancer**, v. 32, n. 2, p. 302–314, 1973.

LOPES, L. Efeitos cardiovasculares do treinamento intervalado de alta intensidade na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina em ratos. 14 dez. 2018.

LUIZA MAIA, A. et al. Consenso brasileiro para o diagnóstico e tratamento do hipertireoidismo: recomendações do Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 57, n. 3, 2013.

MAIA, A. L. et al. The Brazilian consensus for the diagnosis and treatment of hyperthyroidism: recommendations by the Thyroid Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 3, p. 205–232, 2013.

MENDES, O. C. et al. Tolerância ao esforço em ratos com estenose aórtica e disfunção ventricular diastólica e/ou sistólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 1, p. 44–51, jan. 2013.

MORRIS, J. C. How do you approach the problem of TSH elevation in a patient on high-dose thyroid hormone replacement? **Clinical Endocrinology**, v. 70, n. 5, p. 671–673, 2009.

MOUROUZIS, I. et al. Dose-dependent effects of thyroid hormone on post-ischemic cardiac performance: potential involvement of Akt and ERK signalings. **Molecular and**

Cellular Biochemistry, v. 363, n. 1, p. 235–243, 2012.

MULLER, A. F. et al. Thyroid function disorders-Guidelines of the Netherlands Association of Internal Medicine on behalf of the working group “Thyroid Function Disorders” of the Netherlands Association of Internal Medicine. 2008.

NOGUEIRA, P. R.; RASSI, S.; CORRÊA, K. DE S. Perfil epidemiológico, clínico e terapêutico da insuficiência cardíaca em hospital terciário. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 3, p. 392–398, set. 2010.

O’CONNELL, J. L. et al. Short-term and long-term models of doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats: A comparison of functional and histopathological changes. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 69, n. 4, p. 213–219, 4 abr. 2017.

ORTIZ, V. D. et al. Carvedilol and thyroid hormones co-administration mitigates oxidative stress and improves cardiac function after acute myocardial infarction. **European Journal of Pharmacology**, v. 854, p. 159–166, 5 jul. 2019.

PIÑA, I. L. et al. Exercise and Heart Failure. **Circulation**, v. 107, n. 8, p. 1210–1225, 4 mar. 2003.

PONTES, J. C. D. V. et al. Anatomopathological study of cardiomyopathy induced by doxorubicin in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 137–143, abr. 2010.

PREACHER, K. J.; HAYES, A. F. Asymptotic and resampling strategies for assessing and comparing indirect effects in multiple mediator models. **Behavior Research Methods**, v. 40, n. 3, p. 879–891, ago. 2008.

RANGAN, S. et al. Once weekly thyroxine treatment as a strategy to treat non-compliance. **Postgraduate Medical Journal**, v. 83, n. 984, p. e3–e3, out. 2007.

ROHDE, L. E. P. et al. Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica e Aguda. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2018.

SCHWARZ, E. R. et al. A small animal model of non-ischemic cardiomyopathy and its evaluation by transthoracic echocardiography. **Cardiovascular Research**, v. 39, n. 1, p. 216–223, 1 jul. 1998.

SEIXAS-CAMBÃO, M.; LEITE-MOREIRA, A. F. Pathophysiology of chronic heart failure. **Revista portuguesa de cardiologia : orgao oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia = Portuguese journal of cardiology : an official journal of the Portuguese Society of Cardiology**, v. 28, n. 4, p. 439–471, abr. 2009.

SIVESKI-ILISKOVIC N. et al. Probucol Protects Against Adriamycin Cardiomyopathy Without Interfering With Its Antitumor Effect. **Circulation**, v. 91, n. 1, p. 10–15, jan. 1995.

SMITH, R. D. et al. The haemodynamic and myocardial contractile effects of celiprolol, atenolol and propranolol in mecamylamine-verapamil pretreated, anaesthetised dogs. **British Journal of Clinical Practice. Supplement**, v. 42, p. 35–43, jun. 1985.

SOUZA, F. R. DE et al.

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0066-782X2014000200031&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, n. 2, p. 187–191, fev. 2014a.

SOUZA, F. R. DE et al. Resposta Hipertrofica da Associacao de Hormonio Tireoidiano e de Exercicio Fisico no Coracao de Ratos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, n. 2, p. 187–191, fev. 2014b.

SOUZA, F. R. Efeitos cardiovasculares da associação do hormônio tireoidiano e do treinamento físico na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina em ratos. jun. 2017.

STEINHERZ, L. J. et al. Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. **Jama**, v. 266, n. 12, p. 1672–1677, 1991.

TESTORE, F. et al. Cardioprotective Effect of Dexrazoxane in Patients with Breast Cancer Treated with Anthracyclines in Adjuvant Setting. **American Journal of Cardiovascular Drugs**, v. 8, n. 4, p. 257–263, jul. 2008.

VILLELA, C. Q.; RIBEIRO, J. R. C. Utilização de exercícios resistidos em reabilitação cardíaca: uma revisão de literatura. **e-Scientia**, v. 2, n. 1, 2009.

VISSER, W. E. et al. Thyroid hormone transport in and out of cells. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 19, n. 2, p. 50–56, 1 mar. 2008.

WANG, W. et al. Thyroid Status, Cardiac Function, and Mortality in Patients With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 8, p. 3210–3218, 1 ago. 2015.

WOLD, L. E.; ABERLE, N. S.; REN, J. Doxorubicin induces cardiomyocyte dysfunction via a p38 MAP kinase-dependent oxidative stress mechanism. **Cancer Detection and Prevention**, v. 29, n. 3, p. 294–299, 1 jan. 2005.

YAMASHITA, N. et al. Exercise Provides Direct Biphasic Cardioprotection via Manganese Superoxide Dismutase Activation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 189, n. 11, p. 1699–1706, 7 jun. 1999.

YEH, E. T. H.; BICKFORD, C. L. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 24, p. 2231–2247, 2009.

YEN, P. M. et al. Thyroid hormone action at the cellular, genomic and target gene levels. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 246, n. 1–2, p. 121–127, 26 fev. 2006.

ZAZYCKI, S. P.; GOMES, C. R. DE G. Hipertrofia Cardíaca em Decorrência da Obesidade e do Exercício Físico. **Saúde e Pesquisa**, v. 2, n. 1, p. 91–97, 8 jun. 2009.

ZHANG, Y. et al. Overexpression of Nrdp1 in the Heart Exacerbates Doxorubicin-Induced Cardiac Dysfunction in Mice. **PLOS ONE**, v. 6, n. 6, p. e21104, jun. 2011.

9. ANEXOS

9.1 - ANEXO A - Protocolo experimental de número 021/20 aprovado pelo CEUA.



Universidade Federal de Uberlândia
Comissão de Ética na Utilização de Animais



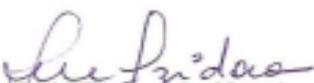
CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Efeito do hormônio tireoidiano sobre a estrutura, função do miocárdio e tolerância ao esforço de ratos com *cardiotoxicidade* induzida por *doxorubicina*", protocolo nº **021/20**, sob a responsabilidade de **Elmiro Santos Resende** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião **25 de Setembro de 2020**.

(We certify that the project entitled "Efeito do hormônio tireoidiano sobre a estrutura, função do miocárdio e tolerância ao esforço de ratos com *cardiotoxicidade* induzida por *doxorubicina*", protocol **021/20**, under the responsibility of **Elmiro Santos Resende** - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of September 25th, 2020).

Vigência do Projeto	Início: 01/11/2020 Término: 30/12/2024
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Ratos Wistar
Número de animais	50
Peso / Idade	250g / 3 meses
Sexo	Macho
Origem / Local	REBIR – UFU
Local onde serão mantidos os animais:	REBIR – UFU

Uberlândia, 15 de Outubro de 2020.


Prof. Dr. Luiz Fernando Moreira Izidoro
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenador da CEUA