

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE  
FACULDADE DE MEDICINA

**ALTERAÇÕES FUNCIONAIS E ESTRUTURAIS DO CORAÇÃO PRODUZIDAS  
PELO SACUBITRIL-VALSARTANA NA CARDIOTOXICIDADE INDUZIDA PELA  
DOXORRUBICINA EM RATOS**

EDUARDO DE SALES CABRAL

Uberlândia, MG

2021

EDUARDO DE SALES CABRAL

**ALTERAÇÕES FUNCIONAIS E ESTRUTURAIS DO CORAÇÃO PRODUZIDAS  
PELO SACUBITRIL-VALSARTANA NA CARDIOTOXICIDADE INDUZIDA PELA  
DOXORRUBICINA EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Elmiro Santos Resende

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra Fernanda Rodrigues de Souza

Uberlândia  
2021

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

---

C117a Cabral, Eduardo de Sales, 1992-  
2021 Alterações funcionais e estruturais do coração produzidas pelo  
sacubitril-valsartana na cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina em  
ratos [recurso eletrônico] / Eduardo de Sales Cabral. - 2021.

Orientador: Elmiro Santos Resende.

Coorientadora: Fernanda Rodrigues de Souza.

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.2022.5013>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Ciências médicas. I. Resende, Elmiro Santos, 1953-, (Orient.). II.  
Souza, Fernanda Rodrigues de, 1981-, (Coorient.). III. Universidade  
Federalde Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
Saúde. IV. Título.

---

CDU:61

André Carlos Francisco  
Bibliotecário - CRB-6/3408



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
 Av. Pará, 1720, Bloco 2H, Sala 11 - Bairro Umarama, 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 013/PPCSA				
Data:	20.12.2021	Hora de início:	14:00h	Hora de encerramento:	16:30h
Matrícula do Discente:	11812CSD012				
Nome do Discente:	Eduardo de Sales Cabral				
Título do Trabalho:	ALTERAÇÕES FUNCIONAIS E ESTRUTURAIS DO CORAÇÃO PRODUZIDAS PELO SACUBITRIL-VALSARTANA NA CARDIOTOXICIDADE INDUZIDA PELA DOXORRUBICINA EM RATOS.				
Área de concentração:	Ciências da Saúde				
Linha de pesquisa:	3: Fisiopatologia das doenças e agravos à saúde				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Remodelação 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: Paulo Ricardo Lopes (UNESP), Aguinaldo Coelho da Silva (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 **Paulo Ricardo Lopes, Usuário Externo**, em 20/12/2021, às 16:38, 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 20/12/2021, às 16:46, 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 **Aguinaldo Coelho da Silva, Usuário Externo**, em 21/12/2021, às 09:00, 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](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3270773** e o código CRC **E86C785B**.

Referência: Processo nº 23117.088361/2021-09

SEI nº 3270773

Criado por [gisele.rodrigues](#), versão 2 por [gisele.rodrigues](#) em 20/12/2021 14:53:42.

## RESUMO

**Introdução:** As alterações estruturais e funcionais do coração decorrentes da toxicidade induzida pela doxorrubicina vem sendo investigada em nosso laboratório utilizando-se modelos experimentais com ratos Wistar. A combinação de um inibidor da neprilisina e um bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II (ANRI) reduz taxas de mortalidade por insuficiência cardíaca mas existem poucos estudos sobre seus efeitos na cardiotoxicidade decorrente da doxorrubicina. **Objetivo:** Caracterizar as alterações funcionais e estruturais do coração produzidas pelo sacubitril-valsartana na cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina. **Material e métodos:** Foram utilizados 35 ratos Wistar machos, com peso inicial médio de 287 gramas, divididos aleatoriamente em cinco grupos: Controle (C-5), Doxorrubicina (DX-8), Sacubitril-Valsartana (ARNI=5), Doxorrubicina/Valsartana (DXVAL-7) e Doxorrubicina/Sacubitril-Valsartana (DXARNI-10). O experimento teve a duração de oito semanas. A doxorrubicina foi administrada em solução aquosa injetada nos grupos correspondentes via intraperitoneal, três vezes/semana, ao longo de duas semanas, atingindo-se a dose cumulativa de 7,5 mg/kg de peso do animal. Após duas semanas do final da exposição ao quimioterápico foi iniciada a administração do sacubitril-valsartana, na dose de 100 mg/kg, uma vez ao dia, ao longo de quatro semanas. Foi registrado o peso corporal no início e no fim do experimento; o peso total do coração foi obtido ao final do protocolo; a massa indexada do coração foi calculada a partir da razão entre o peso do coração e o peso corporal. A função ventricular esquerda, os diâmetros sistólicos e diastólicos e a espessura do septo interventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo foram obtidas por ecocardiografia no final do experimento. **Resultados:** O peso corporal final, a variação do peso corporal (inicial x final) e o peso do coração foram menores nos grupos ARNI, DX, DXVAL e DXARNI, quando comparados ao grupo C. A massa indexada do coração não mostrou alteração estatisticamente significativa. A espessura do septo interventricular em diástole (SIVd) foi maior ( $p=0,04$ ) em DX, em relação ao ARNI. Em relação ao C, o DIVEd foi menor ( $p=0,03$ ) em DX, e menor com forte tendência ( $p=0,06$ ) no DIVEs, o VFVEd foi menor ( $p=0,02$ ) em DX e DXARNI. O VFVE sistólico foi menor ( $p=0,04$ ) em DX. **Conclusão:** O estudo confirma a hipótese de que o sacubitril-valsartana é útil, melhorando parâmetros funcionais diastólicos e estruturais do coração alterados após a exposição experimental à doxorrubicina, sugerindo também sua participação na remodelação reversa do VE. Os resultados também confirmam que no presente estudo os efeitos cardiotóxicos da doxorrubicina consistem de alterações predominantemente diastólicas e apontam no sentido da utilização do modelo em futuros estudos referentes à fisiopatologia e a testes farmacológicos na ICFEp.

**Palavras-chave:** Insuficiência cardíaca, Doxorrubicina, Sacubitril, Valsartana.

## ABSTRACT

**Introduction:** The necessary and desired changes in the heart resulting from the toxicity induced by doxorubicin have been investigated in our laboratory using experimental models with Wistar rats. The combination of a neprilysin inhibitor and an angiotensin II AT1 receptor blocker (ARNI) reduces heart failure mortality rates, but there are few studies of its effects on cardiotoxicity due to doxorubicin. **Objective:** To characterize the functional and structural alterations of the heart produced by sacubitril-valsartan in doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Material and methods:** 35 male Wistar rats were used, with an average initial weight of 287 grams, randomly divided into five groups: Control (C-5), Doxorubicin (DX-8), Sacubitril-Valsartan (ARNI=5), Doxorubicin/ Valsartan (DXVAL-7) and Doxorubicin/Sacubitril-Valsartan (DXARNI-10). The experiment lasted eight weeks. Doxorubicin was administered in an aqueous solution injected into the corresponding groups via intraperitoneal, three times/week, over two weeks, reaching a cumulative dose of 7.5 mg/kg of animal weight. Two weeks after the end of exposure to the chemotherapeutic drug, the administration of sacubitril-valsartan, at a dose of 100 mg/kg, was started, once a day, for two weeks. Body weight at the beginning and at the end of the experiment was recorded; the total heart weight was obtained at the end of the protocol; the indexed heart mass was calculated from the ratio between heart weight and body weight. Left ventricular function, systolic and diastolic diameters, and the thickness of the interventricular septum and the posterior wall of the left ventricle were obtained by echocardiography at the end of the experiment. **Results:** The final body weight, the change in body weight (initial x final) and heart weight were lower in the ARNI, DX, DXVAL and DXARNI groups, when compared to the C group. The indexed heart mass showed no statistically significant change. The thickness of the interventricular septum in diastole (SIVd) was greater ( $p=0.04$ ) in DX, compared to the ARNI. Compared to C, the DIVEd was lower ( $p=0.03$ ) in DX, and lower with a strong tendency ( $p=0.06$ ) in the DIVEs, the VFVEd was lower ( $p=0.02$ ) in DX and DXARNI. Systolic VFVE was lower ( $p=0.04$ ) in DX. **Conclusion:** The study confirms the hypothesis that sacubitril-valsartan is useful, improving diastolic and structural functional parameters of the heart altered after experimental exposure to doxorubicin, also suggesting its participation in LV reverse remodeling. The results also confirm that, in the present study, the cardiotoxic effects of doxorubicin consist of predominantly diastolic alterations and point towards the use of the model in future studies related to pathophysiology and pharmacological tests in ICFEp.

**Keywords:** Heart failure, Doxorubicin, Sacubitril, Valsartan.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

IC	Insuficiência cardíaca
VE	Ventrículo esquerdo
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
FEVEp	Fração de ejeção do VE preservada
FEVElr	Fração de ejeção do VE levemente reduzida
FEVEr	Fração de ejeção do VE reduzida
FEVEm	Fração de ejeção do VE melhorada
SRAA	Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
C	Grupo Controle
ARNI	Grupo Inibidor da Neprililina e dos Receptores de Angiotensina
DX	Grupo Doxorrubicina
DXVAL	Grupo combinação Doxorrubicina e Valsartana
DXARNI	Grupo combinação Doxorrubicina e ARNI
SIVd	Septo interventricular diástole
SIVs	Septo interventricular sístole
DIVEd	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo diástole
DIVEs	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo sístole
PPVEd	Parede posterior livre do ventrículo esquerdo diástole
PPVEs	Parede posterior livre do ventrículo esquerdo sístole
VFVE	Volume final no ventrículo esquerdo
VFVEd	Volume final no ventrículo esquerdo na diástole
VFVEs	Volume final no ventrículo esquerdo na sístole
SV	Volume ejetado por sístole ( <i>stroke volume</i> )
FS%	Fração de encurtamento sistólico



## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1 .....	24
Figura 2 .....	26
Tabela 1 .....	28
Tabela 2 .....	34

## SUMÁRIO

I INTRODUÇÃO .....	9
II FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	10
II.I Insuficiência cardíaca .....	10
II.II Doxorrubicina .....	12
II.III Sacubitril .....	14
II.IV Valsartana .....	15
II.V Sacubitril-Valsartana (ARNI) .....	17
III. JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO .....	20
IV HIPÓTESE .....	20
V OBJETIVOS .....	20
V.I Objetivo geral .....	20
V.II Objetivos secundários .....	20
VI MATERIAL E MÉTODOS .....	21
VI.I Desenho experimental .....	21
VI.I Delineamento experimental .....	21
VI.II Administração da Doxorrubicina .....	21
VI.III Administração do Sacubitril-Valsartana (ARNI) .....	22
VI.IV Administração da Valsartana .....	22
VI.V Medidas do peso do animal e cálculo da variação do peso corporal, do peso do coração e indexação da massa do coração .....	22
VI.VI Ecocardiografia .....	23
VI.VII Delineamento estatístico .....	25
VII RESULTADOS .....	25
VII DISCUSSÃO .....	35
VIII IMPORTÂNCIA E LIMITAÇÕES DO ESTUDO .....	41
X CONCLUSÃO .....	42
XI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	43

## I INTRODUÇÃO:

A síndrome de insuficiência cardíaca (IC) é um conjunto de sinais e sintomas causado pela disfunção do coração em decorrência de um suprimento sanguíneo inadequado para atender às necessidades metabólicas do organismo (BOCCHI et al., 2009). O quadro clínico é caracterizado por dispneia e cansaço, podendo tornar atividades diárias simples em algo difícil ou quase impossível de ser realizado (BOCCHI et al., 2009).

Existem modelos experimentais que induzem disfunção cardíaca e que já foram validados para utilização em estudos pré-clínicos; um deles é produzido pela administração da doxorubicina em ratos (HAYWARD; HYDOCK, 2007; SIVESKI-ILISKOVIC et al., 1994). É um modelo amplamente utilizado por induzir cardiotoxicidade e por permitir o estudo de oportunidades profiláticas e terapêuticas (HAYWARD; HYDOCK, 2007; SIVESKI-ILISKOVIC et al., 1994).

A doxorubicina é um antibiótico da classe das antraciclinas utilizado em protocolos quimioterápicos voltados ao tratamento antineoplásico. Embora tenha se mostrado útil, o uso clínico deste medicamento é limitado devido à sua cardiotoxicidade que é dose-dependente (MINOTTI et al., 2004).

Um medicamento utilizado no tratamento de pacientes com IC e que foi mais recentemente incorporado às diretrizes terapêuticas mundiais (MCDONAGH et al., 2021; MADDOX et al., 2021; MARCONDES-BRAGA et al., 2021) é um inibidor da neprilisina com um bloqueador de receptores AT1 da angiotensina II, o sacubitril-valsartana. Os efeitos dele foram testados em protocolos clínicos e se mostrou eficaz no tratamento da IC de diversas etiologias (NOVARTIS, 1997). Nele, o sacubitril age bloqueando os efeitos da neprilisina (NOVARTIS, 1997; SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014), já a valsartana atua bloqueando receptores de angiotensina II.<sup>12</sup>

A combinação de sacubitril e valsartana, utilizada como coadjuvante no protocolo de tratamento da IC, reduziu, de forma significativa, as taxas de mortalidade por IC e as demais mortes de causas cardiovasculares, em 16% e 20%, respectivamente, em comparação com os resultados obtidos com o enalapril (SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014).

Não há, no presente momento e no limite do nosso conhecimento, estudos que tenham analisado os efeitos da combinação de sacubitril e valsartana administrada após a utilização de doxorubicina nos parâmetros funcionais e estruturais cardíacos.

## **II FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA:**

### **II.I Insuficiência Cardíaca:**

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome clínica complexa, de caráter sistêmico, sendo definida como uma disfunção aguda ou crônica do coração que ocasiona inadequado suprimento sanguíneo para atender necessidades metabólicas do organismo (BOCCHI et al., 2009; ROHDE et al., 2018). A IC é a via final comum da maioria das doenças que acometem o coração, constituindo-se em um dos mais importantes desafios clínicos atuais na área da saúde. Ela é a causa mais frequente de internação por doença cardiovascular (BOCCHI et al., 2009).

Entre os anos de 2008 a 2017, a IC foi a principal causa de hospitalização por doenças cardiovasculares no Brasil, sendo responsável por 21% dos casos. Em termos de internações hospitalares, de um modo geral, a IC foi responsável por 2,25% delas, durante esse mesmo período. O tempo médio de internação hospitalar por IC, foi de 6,9 dias. Analisando-se as mortes causadas pela IC, verifica-se que os indivíduos com 60 anos ou mais são os que apresentam maior risco e nesta mesma faixa etária, a IC foi responsável por 73% dos casos de internação (FERNANDES et al., 2020). Apesar de haver similaridade entre os números referentes à mortalidade dos pacientes hospitalizados com IC com Fração de Ejeção Preservada (ICFEp) e aqueles com Fração de Ejeção Reduzida (ICFEr), existem ainda escassas comprovações de benefícios decorrentes de terapias para ICFEp (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014).

A apresentação clínica da IC pode ser crônica ou aguda, sendo a crônica na maioria das vezes progressiva e persistente e a aguda caracterizada por alterações evolutivas rápidas dos sinais e sintomas (ROHDE et al., 2018).

Está implícito, na própria definição de IC, que ela é decorrente de anormalidades na função cardíaca sejam elas diastólicas, sistólicas ou mistas. O mecanismo responsável pelos sinais e sintomas clínicos pode, portanto, decorrer da

disfunção sistólica, diastólica ou de ambas (BOCCHI et al., 2009). O comprometimento diastólico determina problemas de enchimento ventricular e a sistólica ocasiona redução do volume sistólico ventricular ejetado. Como muitos pacientes podem apresentar os dois tipos de disfunção, foi estabelecido que a definição e separação das duas formas seriam feitas de acordo com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) (ROHDE et al., 2018).

Na maioria das formas de IC, a redução do débito cardíaco é responsável pela inapropriada perfusão tecidual (BOCCHI et al., 2009). A FEVE, portanto, permite a classificação da IC em preservada (ICFEp) se ela for maior ou igual a 50%, levemente reduzida (ICFElr) se estiver entre 40 e 49% e reduzida (ICFEr) se for menor que 40%. Além disso é preciso destacar as formas clínicas de IC nas quais o paciente apresenta inicialmente ICFEr mas que, com a instituição do tratamento, a FEVE melhora. Este padrão de resposta caracteriza a insuficiência cardíaca melhorada (ICFEm) e tem importância terapêutica e prognóstica (MARCONDES-BRAGA, 2021). Exemplificando, a evolução de um paciente com ICFEr que no pós tratamento apresenta aumento da FEVE, tem sido relacionado a um melhor prognóstico (ROHDE et al., 2018).

A ICFEp é mais frequente no sexo feminino e a ICFEr ocorre mais frequentemente no sexo masculino (BOCCHI et al., 2012).

Os principais sintomas clínicos da IC são dispneia, ortopneia, dispneia paroxística noturna, palpitações, síncope e dor torácica (BOCCHI et al., 2009). Uma outra forma de classificar a IC leva em conta a presença e a intensidade da dispneia e, em consequência, a intolerância aos esforços físicos. A Terceira Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica, seguindo a New York Heart Association em uma recomendação clássica, classifica a IC em quatro classes, de acordo com a intensidade de sintomas de dispneia (BOCCHI et al., 2009). Estas mesmas classes identificam o grau de limitação imposto pela doença para atividades cotidianas do indivíduo e é uma maneira indireta de se avaliar a qualidade de vida do paciente frente à sua doença. As classes propostas são: Classe I - ausência de dispneia durante atividades cotidianas; a limitação para esforços é semelhante à esperada para indivíduos normais; Classe II - sintomas desencadeados por atividades cotidianas; Classe III - sintomas desencadeados em atividades menos intensas que as cotidianas

ou aos pequenos esforços; Classe IV - sintomas também em repouso (BOCCHI et al., 2009).

Um levantamento dos casos de IC feito em 2017 mostrou que apenas os pacientes com IC FEr apresentaram uma redução consistente das taxas de morbidade e mortalidade com o tratamento farmacológico até então em uso (ROHDE et al., 2018). Dois estudos clínicos, o PARAGON HF e o EMPEROR-PRESERVED (SOLOMON et al., 2019; ANKER et al., 2021) analisaram os efeitos do sacubitril-valsartana e da empagliflozina na IC FEp. O primeiro mostrou resultado neutro, embora o subgrupo de pacientes com FEVE mais baixa (FEVElr) e mulheres tenham se beneficiado do tratamento. Os resultados com a empagliflozina foram favoráveis o que levou à inclusão do medicamento na nova diretriz europeia para o tratamento da IC FEp (MCDONAGH et al., 2021). Apesar destes resultados promissores, ainda são escassos os estudos referentes ao tratamento deste fenótipo especial de IC.

A fisiopatologia da IC é complexa. A redução do débito cardíaco estimula o aumento da ativação de sistemas neuro-humorais compensatórios que incluem o eixo da renina angiotensina aldosterona (SRAA), o sistema nervoso simpático e o sistema dos peptídeos natriuréticos. Essa hiperestimulação continuada traz prejuízos ao coração pois o mesmo tende a sofrer remodelação patológica. Os efeitos do estímulo do SRAA e das catecolaminas aumentam a vasoconstrição periférica, e a retenção hídrica e induzem à hipertrofia patológica do coração com fibrose excessiva. De forma antagônica, os efeitos do sistema ativado dos peptídeos natriuréticos conduzem ao aumento da vasodilatação, redução da pressão sanguínea, redução do tônus simpático, redução dos níveis de aldosterona e da fibrose, e aumento da diurese e da natriurese. Esses efeitos promovidos pelos peptídeos natriuréticos são, contudo, diminuídos devido à ação da neprilisina (DOCHERTY et al., 2020; VARDENY et al., 2014; POTTER et al., 2006; LAUTNER et al., 2019)

## **II.II Doxorrubicina:**

A doxorrubicina é um fármaco da família das antraciclinas originalmente desenvolvido em 1950 a partir da identificação da daunorrubicina produzida pela bactéria Streptomyces peucetius. Em 1960, uma variação da daunorrubicina, a adriamicina, também conhecida como doxorrubicina, foi identificada e mostrou ser um

eficiente agente antineoplásico (HAYWARD; HYDOCK, 2007; VOLKOVA; RUSSELL, 2011).

Devido ao efeito cardiotoxico da doxorubicina, que pode causar insuficiência cardíaca com miocardiopatia dilatada e outras lesões teciduais cardíacas, existem limitações ao seu uso terapêutico (ALLEN, 1992), sendo necessários cuidados de monitorização especiais, particularmente em portadores de outras cardiopatias. O efeito indesejável da doxorubicina tem características cumulativas sendo dose-dependente (MINOTTI et al., 2004).

Estes efeitos cardiotoxicos ainda não são totalmente conhecidos sendo atribuídos a alguns fatores como a habilidade da doxorubicina de produzir espécies reativas de oxigênio levando ao aumento do estresse oxidativo, desbalanceamento da homeostase do cálcio, disfunção mitocondrial, necrose celular e apoptose (MINOTTI et al., 2004). Existem algumas evidências que sugerem que o desbalanceamento da homeostasia de cálcio tem um importante papel na cardiotoxicidade causado pela doxorubicina, tendo esse íon papel importante na regulação do volume sistólico ejetado e na diástole ventricular (GHARANEI et al., 2014; DODD et al., 1993). O desbalanceamento negativo da homeostasia de cálcio no coração causa a diminuição na frequência de ativação contrátil, diminuição no pico de força, diminuição da força mantida durante a contração e conseqüentemente redução do volume sistólico ejetado (GHARANEI et al., 2014).

Estes efeitos metabólicos e inflamatórios decorrentes da exposição à doxorubicina prejudicam a contratilidade cardíaca, efeito este que também pode estar ligado à ação direta da doxorubicina nas proteínas contráteis (DODD et al., 1993).

A cardiotoxicidade, uma vez desencadeada, tem caráter progressivo. Em geral, ela se inicia alguns dias depois do final do tratamento. Os sintomas e sinais iniciais podem também ser identificados em até um ano após o término do tratamento quimioterápico (cardiotoxicidade crônica), ou mesmo vários anos depois do tratamento (cardiotoxicidade crônica tardia) (VOLKOVA; RUSSELL, 2011). Apesar do dilema clínico devido ao seu potencial de cardiotoxicidade, a doxorubicina continua tendo papel importante no tratamento de câncer (HAYWARD; HYDOCK, 2007).

Experimentalmente, a doxorubicina tem sido usada em animais como modelo de insuficiência cardíaca e para aferição de eventuais efeitos cardioprotetores de

novos fármacos, sendo este o propósito de sua utilização no presente estudo (SIVESKI-ILISKOVIC; KAUL; SINGAL, 1994).

### **II.III Sacubitril:**

O sacubitril é um medicamento utilizado mais recentemente no tratamento da IC e tem ação de bloqueio dos efeitos da neprilisina (NOVARTIS, 1997; SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014; DOCHERTY et al., 2020; VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014). O sacubitril, para ter essa ação, requer um passo metabólico no qual ele é convertido enzimaticamente à sua forma ativa que inibe a neprilisina (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014).

A neprilisina é uma enzima, a endopeptidase neutra, que está envolvida no metabolismo de vários peptídeos vasoativos, como o peptídeo natriurético atrial (PNA), peptídeo natriurético do tipo B (PNB), peptídeo natriurético do tipo C (PNC), adrenomedulina, substância P, bradicinina, angiotensina II, dentre outros (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014). O bloqueio da ação da neprilisina aumenta os níveis destes peptídeos liberados, alguns dos quais possuem propriedades vasodilatadoras e facilitam a excreção renal de sódio (SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014; DOCHERTY et al., 2020; VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014; DANIELS; MAISEL, 2007; POTTER et al., 2006).

Com o uso do sacubitril verifica-se aumento da vasodilatação, natriurese e diurese, redução da fibrose e da hipertrofia cardíaca (DOCHERTY et al., 2020). Na sua ação a neprilisina usa, como substrato, os peptídeos natriuréticos, e também outras substâncias citadas acima, as quais são vasoativas e promovem vasodilatação e vasoconstrição. Os peptídeos natriuréticos conhecidos são os peptídeos natriurético atrial (PNA), peptídeo natriurético do tipo B (PNB), ambos com efeitos de vasodilatação, natriurese e diurese, e o peptídeo natriurético do tipo C (PNC), o qual tem efeitos antitrombótico e antifibrótico (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014; POTTER et al., 2006).

Nos mamíferos são encontrados três tipos principais de peptídeos natriuréticos, PNA, PNB e PNC (POTTER et al., 2006). Esses peptídeos estão envolvidos na regulação da biologia cardiovascular e renal. O início da síntese e liberação de pré-pró-hormônios natriuréticos acontece devido ao aumento do estresse de estiramento nas paredes cardíacas em decorrência do aumento do volume sanguíneo ou da



sobrecarga pressórica intracavitários (DANIELS; MAISEL, 2007; POTTER et al., 2006). A expressão desses peptídeos natriuréticos acontece, inicialmente, na sua forma de pré-pró-hormônios e pode ocorrer em diferentes locais, como átrios, ventrículos e vasos. Posteriormente, estes pré-pró-hormônios, são fragmentados para formar pró-PNA, pró-PNB e pró-PNC e, após isso, sofrerão nova degradação para se tornarem PNA, PNB e PNC ativos (POTTER et al., 2006). O processo de degradação do pró-BNP dá origem à forma inativa do pró-BNP (NT-pró-BNP) (DANIELS; MAISEL, 2007). O NT-pró-BNP não é um substrato para a neprilisina, logo ela não é capaz de degradá-lo (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014). Este fato tem papel clínico importante e explica o fato do bloqueio da neprilisina promover elevação dos níveis plasmáticos de BNP mas não do NT-pro-BNP.

#### **II.IV Valsartana:**

A valsartana é um medicamento usado no tratamento da hipertensão arterial e da IC que atua bloqueando o receptor AT1 da angiotensina II resultando em vasodilatação (SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014; VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014). A valsartana também promove vasodilatação ao reduzir, de forma parcial, a atividade do tônus simpático e a retenção de sódio, e ainda diminui a fibrose cardíaca e o efeito mitótico da angiotensina II. Paralelamente, também aumenta a diurese (DOCHERTY et al., 2020).

A terapia da IC foi revolucionada quando se iniciou o tratamento com vasodilatadores periféricos cuja ação reduz a produção de angiotensina II pelo bloqueio da enzima de conversão da angiotensina I em II (ECA). Os inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) trouxeram à luz esse conhecimento fisiologicamente revolucionário (SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014). Vale destacar que os estudos iniciais ocorreram na década de 40 com pesquisas inéditas empregando o veneno de Bothrops jararaca, e foram realizados pelos pesquisadores brasileiros Maurício Oscar da Rocha e Silva e Sergio Henrique Ferreira. Em 1965 eles descreveram um princípio ativo que foi chamado de fator potencializador da bradicinina e que foi apontado como possível inibidor da ECA. Anos depois foi sintetizado o primeiro IECA para uso oral, o captopril, usado até os dias atuais (LAUTNER et al., 2019).

A IECA tem efeitos pleiotrópicos. Além de não converter a angiotensina I em II, ela também não inativa outros peptídeos vasodilatadores, dentre eles a bradicinina, fato que potencializa a resposta vasodilatadora decorrente da redução de angiotensina II. No início dos anos 1990 foi descrito o mecanismo de ação da angiotensina II nos receptores tipo 1 e 2, ambos acoplados à proteína G e conhecidos como AT1 e AT2. O AT1 é o receptor responsável pela vasoconstrição, hipertensão, redução de fluxo sanguíneo renal, retenção de sódio, aumento da atividade adrenérgica periférica e síntese e liberação de aldosterona (SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014; SANJULIANI et al., 2011; FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2011). A ativação via receptor AT2 provoca pequeno efeito vasodilatador, inibição da proliferação celular e modula a produção de matriz extracelular. A descoberta destes receptores permitiu a síntese de fármacos bloqueadores de AT1 indicados para o tratamento da hipertensão arterial e da IC (SANJULIANI et al., 2011; FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2011; LAUTNER et al., 2019).

A cascata clássica do SRAA foi assim estabelecida: as células do aparelho justaglomerular liberam renina para o sangue, local onde ocorre a ligação da renina ao angiotensinogênio, convertendo-o em angiotensina I. Esta ação ocorre com a clivagem do grupo amino-terminal da ligação entre o 10º e 11º resíduos de aminoácidos – leucina e valina; a angiotensina I é hidrolisada pela ECA com a remoção de dois aminoácidos (histidina e leucina) ocorrendo a produção da angiotensina II; a angiotensina II atua via receptores AT1 e AT2, sendo o primeiro o mais importante para a manutenção das funções cardiovasculares e renais (LAUTNER et al., 2019).

Em resumo, a angiotensina II tem maior afinidade por dois receptores, o AT1 e o AT2, e a ativação deles promove diferentes ações no organismo. Quando há ativação do receptor AT1, a resposta é de vasoconstrição, ativação do sistema nervoso simpático, aumento da aldosterona, aumento do hormônio antidiurético, aumento da proliferação celular, aumento da fibrose e do estresse oxidativo. Quando a interação ocorre com o receptor AT2 a ação é de vasodilatação, efeito antiproliferativo, anti-hipertrofico, antitrombótico, antiarritmogênico e liberação de óxido nítrico (SANJULIANI et al., 2011; FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2011).

Duas classes de agentes farmacológicos são mais utilizadas na inibição do SRAA. Esses agentes têm mecanismos diferentes de inibição desse sistema que pode

se dar pela inibição da ECA (IECA) ou pelo bloqueio dos receptores AT1 de angiotensina II (BRA) (SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014; SANJULIANI et al., 2011; FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2011). O primeiro atua inibindo a enzima conversora de angiotensina, logo não haverá angiotensina II devido à inibição da conversão, e o segundo atua bloqueando os receptores de angiotensina I, logo haverá a conversão de angiotensina I em angiotensina II porém não ocorrerá a interação com os receptores AT1.

O tratamento da IC com os BRA não mostrou ser melhor que o promovido pelos IECA mas eles têm sido mais usados por conta dos efeitos colaterais mais raros, como incidência mais baixa de tosse e de angioedema (MUSINI; BASSETT, 2012; VARDENY; SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014; HERAN; MILLER; SOLOMON, 2014).

O risco de tosse e de angioedema causados mais frequentemente pelos IECA está relacionado ao aumento da concentração da bradicinina que ocorre devido à inibição de proteases que contribuem para a degradação desta substância, sendo elas a ECA e as aminopeptidases, dentre estas, a neprilisina (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014).

## **II.V Sacubitril e Valsartana (ARNI):**

Como visto acima, há benefícios decorrentes do tratamento da IC com a utilização de agentes que bloqueiam o SRAA. Na busca por melhores resultados, os esforços foram direcionados para a possibilidade de se combinar a inibição da ECA com a de outras peptidases, dentre elas a neprilisina, numa só molécula, num esforço que ficou conhecido como estratégia de inibição de vasopeptidases (Estratégia NEP) (CAMPBELL, 2003).

O omapatrilato, um dipeptídeo heterocíclico mimético, foi o primeiro representante da classe dos NEP testados clinicamente e trouxe a proposta de se promover um aumento da vasodilatação. Esse medicamento age por meio da inibição da ECA como mecanismo de bloqueio do SRAA, associada à inibição da neprilisina, sendo os dois efeitos disponibilizados em uma só molécula. Os efeitos hipotensores foram testados e se mostraram superiores aos conseguidos com os inibidores da ECA (KOSTIS; PACKER; BLACK, 2004), mas exatamente devido a seus efeitos potencializados por conta da inibição acentuada da enzima conversora de

angiotensina e da neprilisina, houve grande aumento da bradicinina circulante e, por conseguinte, aumentaram também os efeitos colaterais (CAMPBELL, 2003).

O conceito por trás do desenvolvimento dos NEP não foi abandonado e uma outra tentativa foi de associar um inibidor das endopeptidases com um dos bloqueadores dos receptores AT1. Agindo dessa forma inibindo apenas uma das vias de degradação da bradicinina (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014). Nesse contexto, a combinação de duas drogas, o sacubitril e a valsartana (ARNI), foi testada em estudos clínicos para tratamento da IC (COATS, 2002; PACKER et al., 2002). Nele, o sacubitril funciona bloqueando os efeitos da neprilisina que degrada os peptídeos natriuréticos enquanto a valsartana bloqueia o receptor AT1 (NOVARTIS, 1997; SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014; DOCHERTY et al., 2020; VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014).

Lu et al. (2018) em estudo experimental, demonstraram que os resultados terapêuticos obtidos com o sacubitril-valsartana foram favoráveis, quando se investigou a proteção do coração e do pulmão de ratos com síndrome cardiopulmonar causado pelo método de constrição aórtica transversa. Mostrou-se que o comprimento do sarcômero e o tamanho da área fibrótica, foram menores; não houve também mudança na expressão de proteínas fibróticas, pró-apoptóticas, marcadores de dano no DNA, de proteínas indicadoras da sobrecarga de volume e de pressão ventricular ou de dano micotondrial, concluindo-se que o tratamento com sacubitril-valsartana não foi inferior ao obtido com o enalapril (LU et al., 2018). A Diretriz de Cardio-oncologia da Sociedade Brasileira de Cardiologia publicada em 2020 recomenda, como classe IIa e nível de evidência B, o uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA) ou de bloqueadores dos receptores AT1 ou de bloqueadores beta-adrenérgicos (HAJJAR et al., 2020).

Um dos aspectos a ser focado refere-se à biodisponibilidade do componente valsartana na combinação sacubitril-valsartana. Nela, a valsartana é entregue em maior quantidade, de 40 a 60% a mais, quando comparado na mesma proporção equimolar ao emprego de valsartana de forma isolada. A justificativa para isso pode ser encontrada nas diferentes formas químicas que o composto está disponibilizado em cada apresentação existente. Na combinação sacubitril-valsartana ela está presente na forma aniônica enquanto em outras a valsartana isolada encontra-se na forma de ácido livre (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014).

Os efeitos favoráveis da combinação sacubitril-valsartana são evidentes para pacientes com ICFeR mas (DOCHERTY et al., 2020), quando se trata da ICFeP, estes efeitos ainda não são muito claros, existindo a sugestão de que o subgrupo de pacientes com FEVE entre 45 a 57% também podem ser beneficiados com o tratamento (SOLOMON et al., 2019).

Em síntese, a combinação de sacubitril-valsartana foi feita seguindo-se a estratégia de inibição de vasopeptidases (NEP) e focando a necessidade de se reduzir o risco de angioedema causado pelos IECA. Para isso foi empregada uma combinação de medicamentos que reduz a ação sobre vias responsáveis pelo acúmulo da bradicinina (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014). O bloqueio que a combinação de sacubitril-valsartana causa, inibindo simultaneamente a neprilisina e o eixo do SRAA, resulta também em aumento dos peptídeos natriuréticos endógenos (PN), os quais têm efeito cardioprotetor (NISHIKIMI; MAEDA; MATSUOKA, 2006), e diminui a ação da angiotensina II no receptor AT1, que, ao contrário dos PN, tem efeitos lesivos ao coração e vasos (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014).

A combinação de sacubitril-valsartana, dentro da estratégia NEP, traz como efeitos clínicos o aumento da vasodilatação periférica, a diminuição da atividade do sistema nervoso simpático e aumento da atividade do parassimpático, aumento da diurese e natriurese, diminuição da fibrose e da hipertrofia cardíaca, diminuição do risco de arritmias e torna mais favorável o ambiente para a ocorrência de remodelamento cardíaco fisiológico (DOCHERTY et al., 2020). Começam a emergir evidências de que também ocorra remodelamento cardíaco reverso (KHAN et al., 2020), o que permite vislumbrar um cenário futuro mais favorável a tratamentos regenerativos do coração insuficiente.

A terapia combinada tem-se mostrado eficaz ao reduzir óbitos e reinternações por ICFeR (MCMURRAY et al., 2014), com repercussão favorável sobre a qualidade de vida (KHAN et al., 2020). Além disso ela também parece ser segura e tem uma boa relação custo-benefício, com um número necessário de tratamentos (NNT) para se salvar uma vida estimado em 22 (DOCHERTY et al., 2020; SEHN; MCDONALD; LINDBLAD, 2014). Além do efeito benéfico na ICFeR, ela também apresenta bons resultados no tratamento da hipertensão arterial sistêmica (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014), uma das principais causas de IC (AZAD et al., 2011).

### **III JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO**

Mesmo com os recentes avanços da medicina, a insuficiência cardíaca continua a ser uma doença cada vez mais presente na população. A elevação da incidência e prevalência da doença associadas com o alto índice de mortes e incapacidades físicas têm motivado vários estudos clínicos, alguns deles já tendo comprovado a eficácia de vários fármacos que constituem os quatro pilares atuais da terapêutica da IC (bloqueadores beta-adrenérgicos, IECA ou BRA, inibidores dos mineralocorticóides e inibidores do cotransportador sódio-glicose 2 (iSGLT2). As últimas atualizações nas diretrizes de tratamento da IC incorporaram a combinação do inibidor da neprilisina com o bloqueador do receptor de angiotensina II (sacubitril-valsartana) como terapia inicial ou substituta dos IECA ou BRA em pacientes com ICFe. Contudo, ainda faltam evidências referentes a essa opção terapêutica após exposição à doxorrubicina. Este estudo se justifica por buscar avaliar as alterações funcionais e estruturais cardíacas após exposição à doxorrubicina em ratos Wistar tratados com o sacubitril-valsartana.

### **IV HIPÓTESE:**

A hipótese testada no presente estudo é que o sacubitril-valsartana pode ser útil, melhorando parâmetros funcionais e estruturais do coração alterados após a exposição experimental à doxorrubicina.

### **V OBJETIVOS:**

#### **V.I Objetivo geral:**

Caracterizar as alterações funcionais e estruturais cardíacas produzidas pelo sacubitril-valsartana na cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina em ratos Wistar.

#### **V.II Objetivos secundários:**

Verificar os efeitos do sacubitril-valsartana em variáveis ecocardiográficas envolvidas no processo de remodelamento cardíaco.

## **VI MATERIAL E MÉTODOS:**

### **VI.I Desenho experimental:**

Foram utilizados 35 ratos da linhagem Wistar, machos, com peso médio inicial de 287 gramas, provenientes da Rede de Biotérios de Roedores (REBIR) da UFU. As condições ambientais para todos os grupos foram as mesmas usadas pelos padrões do REBIR da UFU, no que se refere à temperatura (25°), umidade relativa do ar, nível de ruído e luminosidade (ciclo claro/escuro 12h/12h). Os animais foram alimentados com ração e água “*ad libitum*”. Todos os procedimentos e manejo dos animais do estudo foram realizados de acordo com os princípios éticos para o uso de animais de laboratório do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) (CONCEA, 2013).

As medidas de normatização e execução do projeto encontram-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) O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em reunião no dia 06 de setembro de 2019 com o número de protocolo 031/19.

### **VI.II Delineamento Experimental**

Os animais foram divididos em cinco grupos assim identificados e compostos: Controle (C- 5), Doxorrubicina (DX-8), Sacubitril-Valsartana (ARNI-5), Doxorrubicina e Valsartana (DXVAL-7) e Doxorrubicina/Sacubitril-Valsartana (DXARNI-10).

Todos os procedimentos do desenho experimental estão demonstrados na Figura 2.

### **V.II Administração da doxorrubicina:**

Os animais dos grupos DX, DXVAL e DXARNI receberam injeções intraperitoneais de cloridrato de doxorrubicina (Fauldoxo, Libbs Farmacêutica, Embú, São Paulo), três vezes por semana, ao longo de duas semanas, atingindo-se a dose cumulativa de 7,5 mg/kg (CAMPOS et al., 2011). Os grupos C e ARNI receberam volumes iguais de solução salina, em procedimento similar ao empregado para os animais tratados com doxorrubicina.

### **V.III Administração do Sacubitril-Valsartana:**

Após duas semanas do final das aplicações da doxorubicina foi iniciado o tratamento dos grupos ARNI, DXARNI e DXVAL. Os grupos ARNI e DXARNI receberam a dose de 100 mg/kg/dia de sacubitril-valsartana (YANG et al., 2019), a mesma foi obtida por meio de comprimidos triturados e diluídos em solução aquosa de amido 1%. A concentração do ARNI na solução foi de 66,66 mg/ml.

A dose foi administrada diariamente, entre as 13 e 16 horas, durante quatro semanas, pelo método de gavagem (YANG et al., 2019). Os animais dos grupos C e DX receberam volume semelhante de solução salina no mesmo regime empregado para os animais tratados com o sacubitril-valsartana. Os animais do grupo DXVAL receberam dose semelhante de valsartana.

### **V.IV Administração de Valsartana:**

O tratamento com valsartana foi iniciado no grupo DXVAL após duas semanas do final da aplicação da doxorubicina, juntamente com o início do tratamento dos grupos DXARNI e ARNI, em dose de 51 mg/kg/dia. A concentração do medicamento na solução aquosa de amido 1% foi de 53,33 mg/ml, obtida a partir de comprimidos de 160mg de valsartana. A solução foi administrada por gavagem, diariamente, entre as 13 e 16 horas, durante quatro semanas.

### **V.V Medidas do peso do animal e cálculo da variação do peso corporal, do peso do coração e indexação da massa do coração:**

As aferições do peso corporal dos animais foram realizadas em balança de precisão no início e fim do período experimental, com resultados expressos em gramas. A variação do peso corporal ( $\Delta PC$ ) foi verificada pela diferença entre os pesos final e inicial.

A pesagem do coração foi feita após a eutanásia, que ocorreu via exsanguinação, remoção do órgão, lavagem em solução salina e secagem em papel filtro. Posteriormente o órgão foi pesado em balança de precisão e os resultados expressos em gramas. A indexação da massa do coração foi calculada pela razão entre o peso total do coração e o peso corporal final do animal x 100, com resultados expressos em %.

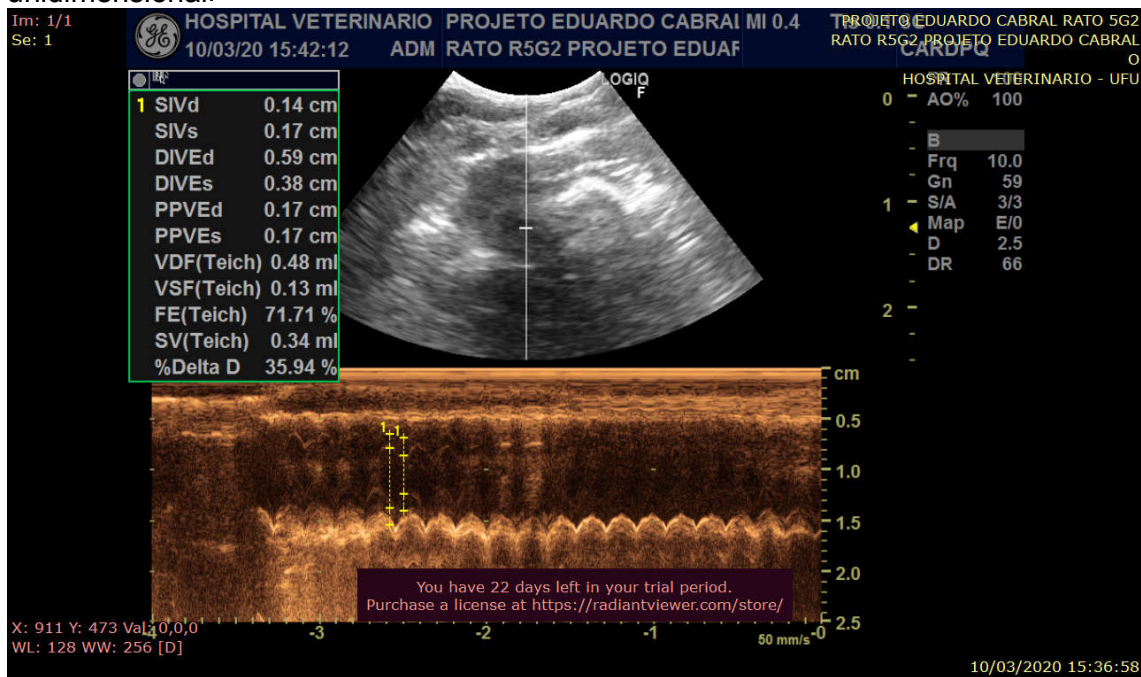


## V.VI Ecocardiografia:

Para obtenção das imagens ecocardiográficas, os animais foram anestesiados com associação de Ketamina (Ketamina 10%, Agener União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil), na dose de 74 mg/kg, e Xilazina (Dopaser, Laboratórios Calier, SA, Barcelona, Espanha) na dose de 8 mg/kg, administrada por via intraperitoneal, permitindo ao animal manter a respiração espontânea durante o exame. Após a anestesia, foi realizada a tricotomia da região anterior do tórax.

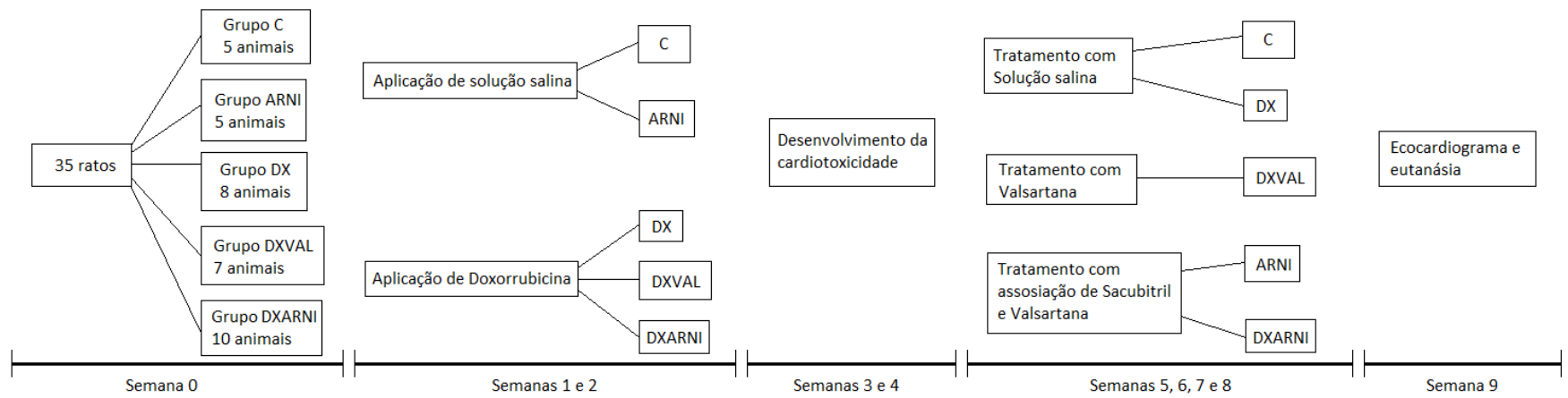
O ecocardiograma foi realizado utilizando-se equipamento ESAOTE, modelo *MyLab VET 30 Gold*, gerando imagens nos modos uni e bidimensional. Foi utilizado transdutor setorial com frequência de 8 Mhz, profundidade de 3,0 cm, e ângulo setorial de 75°. O diâmetro do ventrículo esquerdo foi obtido no modo M, em corte transversal paraesternal direito, no plano das cordoalhas tendíneas. A mensuração foi feita durante a diástole (DIVEd) e sístole (DIVEs) e utilizada para cálculo da fração de encurtamento (FS%) pela fórmula  $FS\% = [(DIVEd - DIVEs) / DIVEd] \times 100$ . No mesmo corte foram medidos os volumes diastólico (VFVEd) e sistólico (VFVEs), pelo método de Teichholz (HERAN; MUSINI; BASSETT, 2012; SACKS; JARCHO; CURFMAN, 2014). Os valores do VFVEd e VFVEs foram utilizados para cálculo do volume ejetado por sístole (SV). O cálculo da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) foi feito pela fórmula  $FEVE = [(VFVEd - VFVEs) / VFVEd] \times 100$ . Foram obtidas as espessuras diastólicas (SIVd) e sistólicas (SIVs) do septo interventricular e da parede posterior livre do ventrículo esquerdo (PPVEd, PPVEs).

Figura 1: Ilustra a obtenção dos dados ecocardiográficos pelo modo bi e unidimensional.



Fonte: CABRAL, 2021. (SIVd) Septo interventricular na diástole; (SIVs) Septo interventricular na sístole; (DIVEd) Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole; (DIVEs) Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole; (PPVEd) Parede posterior livre do ventrículo esquerdo na diástole; (PPVEs) Parede posterior livre do ventrículo esquerdo na sístole; VDF (Volume diastólico final); VSF (Volume sistólico final); FE (Fração de ejeção); SV (Volume ejetado por sístole); %Delta D (Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo).

Figura 2: Desenho experimental.



Fonte: CABRAL, 2021. (C) Controle; (ARNI) Sacubitril-Valsartana; (DX) Doxorubicina; (DXVAL) Doxorubicina e Valsartana; (DXARNI) Doxorubicina e Sacubitril-Valsartana.

### **V.VII Delineamento estatístico:**

A estatística descritiva foi utilizada para organizar, resumir e apresentar os dados, na forma de tabelas.

Os dados obtidos foram analisados preliminarmente pelo teste de Shapiro-Wilk quanto à normalidade da distribuição. Quando o resultado indicou que os dados apresentavam distribuição normal, foram apresentadas em média e desvio padrão como medida de tendência central e dispersão, respectivamente. Para os dados considerados normais utilizou-se a análise de variância de uma via com pós-teste de Tukey, na comparação entre os grupos.

Para os dados que não apresentaram a normalidade da distribuição, foi utilizado a mediana e quartil e percentil (P25-75) como medida de tendência central e dispersão, respectivamente. E para comparação foi usado o teste de Kruskal-Wallis, ele foi utilizado para análise da massa do coração indexada ao peso corporal.

O nível de significância no presente estudo foi de  $P < 0,05$ .

## **VI RESULTADOS:**

### **VI.I Aspecto e comportamento geral dos animais durante o experimento:**

Nos 35 animais pertencentes aos diversos grupos não houve perda amostral durante as oito semanas do protocolo. Finalizado o período experimental, foi realizado o ecocardiograma e, a seguir, a eutanásia dos animais. Dois animais morreram durante o processo de imobilização química para a realização do ecocardiograma, um antes e o outro após a realização do exame; estes animais pertenciam ao grupo DXARNI. Durante o estudo foi constatado que alguns animais mostraram redução da atividade habitual (DX, DXVAL e DXARNI), queda dos pelos e pequenas lesões abdominais (DXVAL e DX); alguns tiveram sangramento nas narinas (DXARNI).

### **VI.II Peso corporal final:**

A pesagem corporal foi feita em todos os animais no final das oito semanas do protocolo experimental e comparadas pela análise de variância entre os grupos. Estes dados estão demonstrados na Tabela 1.

Os grupos C e DXVAL apresentaram as maiores e menores medias de pesos ao final do experimento, com média de 415,90 g e 374,18 g, respectivamente.

A comparação estatística mostrou ser diferente ( $P=0,01$ ) e que a média do peso corporal final foi menor nos grupos ARNI, DX, DXVAL E DXARNI, quando comparados ao grupo C.

Percentualmente, os grupos DX e DXARNI, apresentaram redução do peso final de 1,69% e 9,64%, respectivamente, em relação ao grupo C. O grupo DXARNI apresentou peso final 8,09% menor do que o grupo DX.

### **VI.III Variação do peso corporal:**

As aferições do peso corporal (PC) foram feitas em todos os animais de cada grupo no início e fim do estudo e as médias foram comparadas. O ganho de peso ocorreu em todos os grupos e a variação do peso corporal ( $\Delta PC$ ) foi calculada.

Estes dados estão demonstrados na Tabela 1.

O grupo C foi o grupo que apresentou a maior média de ganho de PC (128,08 g); o grupo DXARNI teve a menor média no incremento (90,34 g).

A análise de variância mostrou diferença estatisticamente significativa ( $P=0,00$ ) com menor acréscimo de peso nos grupos DXVAL e DXARNI em comparação com o C. O grupo DXARNI apresentou menor peso do que o DX.

Em termos percentuais, o grupo DX teve redução de 9,46% do PC em relação ao grupo C; no grupo DXARNI, o PC foi 29,47% menor em relação ao grupo C e 22,09% menor do que o grupo DX.

### **VI.IV Peso e Massa Indexada do Coração:**

A pesagem do coração foi feita após a eutanásia, remoção do órgão, lavagem em solução salina e secagem em papel de filtro. Posteriormente o órgão foi pesado em balança de precisão. Os resultados estão demonstrados na Tabela 1.

O grupo C apresentou maior média do peso do coração (2,92 g) e o grupo DXARNI a menor média (2,11 g).

A comparação estatística mostrou diferenças significativas ( $P=0,00$ ) no peso do coração dos grupos com ARNI em comparação ao C. Os grupos que receberam ARNI apresentaram os menores pesos, principalmente quando ele foi associado à doxorrubicina. No grupo DXVAL o peso do coração foi semelhante a todos os outros

grupos. Sem levar em conta o teste estatístico, em ordem numérica crescente os pesos nos grupos foram: DXARNI < ARNI < DXVAL < DX < C.

Em termos percentuais, na comparação com o C, o DX teve a média do peso do coração 1,71% menor, o grupo DXARNI 27,74% menor. No DXARNI o peso do coração foi 26,48% menor do que no grupo DX.

A aplicação do coeficiente de correlação de Pearson detectou associação linear de intensidade moderada ( $P=0,01$  e  $R=0,41$ ) entre o peso corporal final do rato e o peso do coração em todos os grupos.

A massa indexada do coração mostrou tendência de queda nos grupos que receberam ARNI, porém sem atingir significância estatística ( $P=0,08$ ).

Tabela 1: Valores da média do peso corporal dos animais nos grupos no início e fim do protocolo e variação do peso corporal durante esse período, com comparação entre as médias dos pesos dos grupos por meio da análise de variância, valores da média do peso do coração dos animais nos grupos após tratamento e comparação das medianas dos pesos indexados dos ratos, pelo teste de Kruskal-Wallis.

Grupo	Animais por grupo	Média do peso corporal do grupo (g) e Erro desvio						Média do peso do coração (g)	P25 – 75 massa indexada (%)	Mediana do peso indexado (%)	P valor das Medianas do peso indexado	
		Inicial	Final	Variação		P 25	P 75					
C	5	287,82	11,01	415,90 <sup>a</sup>	13,50	128,08 <sup>a,b</sup>	4,68	2,92 <sup>a,b</sup>	0,08	0.0068	0.0073	0,69
ARNI	5	290,02	10,57	397,08	31,38	107,06	22,09	2,46 <sup>a,b</sup>	0,19	0.0061	0.0062	0,62
DX	7	292,91	16,86	408,87 <sup>b</sup>	27,04	115,96 <sup>c</sup>	21,58	2,87 <sup>b,c</sup>	0,19	0.0068	0.0071	0,70
DXVAL	7	280,49	25,01	374,18 <sup>a</sup>	22,20	93,70 <sup>a</sup>	24,45	2,69	0,08	0.0069	0.0076	0,73
DXARNI	7	285,45	20,70	375,79 <sup>a,b</sup>	23,58	90,34 <sup>b,c</sup>	10,84	2,11 <sup>a,c</sup>	1,12	0.0065	0.0071	0,68

Fonte: CABRAL, 2021.. Letras iguais indicam os pares que são diferentes dentro da mesma variável para  $p < 0,05$ . (a), (b) e (c). (C) Controle; (ARNI) Sacubitril/Valsartana; (DX) Doxorrubicina; (DXVAL) Doxorrubicina e Valsartana; (DXARNI) Doxorrubicina e Sacubitril/Valsartana. O valor da média do peso corporal dos grupos está descrito em gramas (g). A variação é o valor da diferença do peso corporal entre o peso corporal final menos o peso corporal inicial dos animais. O valor médio do peso do coração dos grupos está descrito em gramas (g). A massa indexada do coração foi obtida pela razão entre o peso do coração e o peso corporal final x 100, com resultados expressos em % e a mediana P25 – 75 foi usada como medida de dispersão amostral. P valor das Medianas foi obtido após a realização do teste de Kruskal-Wallis sobre os valores das medianas da massa indexada do coração, foi considerado o valor de  $p < 0,05$  para diferença estatisticamente significativa.

### **V.V Septo interventricular (SIV):**

A medida do septo interventricular foi feita pela ecocardiografia em imagens obtidas em dois momentos do ciclo cardíaco correspondentes à diástole e à sístole. Essas medidas foram feitas em todos os animais dos grupos e suas medias foram comparadas pela análise de variância. Estes dados estão demonstrados na Tabela 2.

Nos valores médios da espessura do septo interventricular durante a diástole (SIVd), houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos: DX x ARNI, sendo nestes, respectivamente, a maior e a menor medida obtida nos diversos grupos. Os demais grupos não apresentaram diferenças estatísticas.

Quanto aos resultados percentuais, o grupo DX teve a média do SIVd 16,67% maior em relação ao grupo C, o grupo DXARNI foi 16,67% menor que o grupo DX e igual ao grupo C.

Os valores médios da espessura do septo interventricular durante a sístole SIVs não foram estatisticamente diferentes entre os grupos.

### **V.VI Parede posterior livre do ventrículo esquerdo (PPVE):**

A medida da parede posterior do ventrículo esquerdo foi feita em dois momentos correspondentes à diástole e à sístole. Essas medidas foram feitas em todos os animais e calculada a média de cada grupo. Estes dados estão demonstrados na Tabela 2.

Não houve diferença estatística entre os grupos. Em termos descritivos, o DXARNI e o ARNI apresentaram as maiores e menores medias nas espessuras diastólicas (PPVEd) da parede posterior, com 0,16 cm e 0,13 cm, respectivamente. O grupo DX e o DXARNI tiveram média da PPVEd 7,14% e 14,29% maior em relação ao grupo C, respectivamente, e a do grupo DXARNI foi 6,67% maior que o do DX.

Também não houve diferença estatística quanto às medias da espessura da parede posterior medida na sístole (PPVEs), sendo o maior valor médio encontrado no grupo C (0,19 cm). A análise mostrou que a média da PPVEs foi numericamente menor nos grupos ARNI, DX, DXVAL e DXARNI, quando comparados ao grupo C. Em valores percentuais, os grupos DX e DXARNI tiveram a média da PPVEs 5,26% menor em relação ao grupo C.



### **V.VII Diâmetro Interno do Ventrículo Esquerdo (DIVE):**

O diâmetro interno do ventrículo esquerdo foi mensurado em dois momentos correspondentes à diástole e à sístole. Essas medidas foram feitas em todos os animais e com elas foi calculada a média de cada grupo e os dados estão demonstrados na Tabela 2.

Na comparação dos valores do diâmetro interno do ventrículo esquerdo durante a diástole (DIVE<sub>d</sub>) a análise de variância mostrou diferença estatisticamente significativa ( $P=0,03$ ) apenas entre os grupos DX x C, sendo que estes grupos apresentaram, respectivamente, a menor e a maior média do DIVE<sub>d</sub>.

A comparação entre os grupos também mostrou que não houve diferença significativa quando o ARNI ou a valsartana foram adicionados à doxorubicina.

Percentualmente, ao comparar o grupo DX ao grupo C, a média do DIVE<sub>d</sub> foi 15,28% menor. O grupo DXARNI 11,11% menor em relação ao grupo C e 4,91% maior que o grupo DX.

O diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole (DIVE<sub>s</sub>) não apresentou diferença estatística entre as medias dos grupos. Houve tendência à diminuição no grupo DX em relação ao C ( $P=0,06$ ). O grupo C foi o que apresentou a maior média do DIVE<sub>s</sub> (0,50 cm), e o grupo DX a menor delas (0,42 cm).

As médias do DIVE<sub>s</sub> foram menores nos grupos ARNI, DXARNI, DX e DXVAL, quando comparados ao grupo C. A comparação entre os grupos DX x C mostrou que a média do primeiro grupo foi 16% menor que o C; o grupo DXARNI 10% menor em relação ao grupo C e 7,14% maior que o grupo DX.

### **V.VIII Volume Final do Ventrículo Esquerdo Diastólico (VFVE<sub>d</sub>):**

O volume diastólico final foi medido em mililitros. As medidas foram feitas em todos os animais e a partir delas foi calculada a média de cada grupo. Estes valores foram obtidos através da ecocardiografia pelo método de Teichholz. Os resultados foram utilizados para a análise de variância entre os grupos. Os resultados estão demonstrados na Tabela 2.

Para os valores do VFVE<sub>d</sub>, a análise de variância mostrou diferença estatisticamente significativa ( $P=0,02$ ) entre os grupos DX x C e DXARNI x C, com os grupos que receberam doxorubicina apresentando redução do volume. O maior valor

médio dos grupos para o volume diastólico final foi do grupo C com 0,85 ml e o menor foi do grupo DX com 0,55ml.

A comparação mostrou que o VFVEd foi também menor nos grupos ARNI e DXVAL, quando comparados ao grupo C, porém sem atingir significância estatística.

Ao comparar o grupo DX ao C, a média do VFVEd foi 35,29% menor no primeiro grupo; no grupo DXARNI o volume foi 28,24% menor em relação grupo C e 10,91% maior do que no grupo DX.

### **V.IX Volume Final do Ventrículo Esquerdo Sistólico (VFVEs):**

O volume sistólico final foi medido em mililitros. As medidas foram feitas em todos os animais e a partir delas foi calculada a média de cada grupo. Estes valores foram obtidos através da ecocardiografia pelo método de Teichholz. Os resultados foram utilizados para a análise de variância entre os grupos. Os resultados estão demonstrados na Tabela 2.

No VFVEs, houve diferença estatisticamente significativa ( $P=0,04$ ) entre os grupos C x DX, com o maior valor médio do grupo C com 0,30 ml e o menor valor encontrado no grupo DX com 0,18 ml.

Os grupos ARNI, DXARNI e DXVAL não diferiram dos demais grupos.

Percentualmente, o grupo DX teve a média do VFVEs 40% menor, em relação ao grupo C; no grupo DXARNI o volume foi 26,67% menor em relação ao C e 22,22% maior em relação ao grupo DX.

### **V.X Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE):**

A fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi obtida através da ecocardiografia pela fórmula,  $FEVE = [(VFVEd - VFVEs) / VFVEd] \times 100$ . As medidas foram feitas em todos os animais e a partir delas foi calculada a média de cada grupo. O valor médio de cada grupo foi utilizado para a análise de variância entre os grupos. Os dados estão demonstrados na Tabela 2.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Em percentagem, a maior FEVE foi medida no grupo ARNI (66,51%) e a menor no grupo DXVAL (60,72%).

Também em porcentagem, a comparação ao final do experimento indica menores valores de FEVE nos grupos DXARNI e DXVAL e maiores nos grupos ARNI e DX, quando comparados ao grupo C.

As diferenças percentuais encontradas indicam que, no grupo DX, a FEVE foi 1,33% maior em relação ao grupo C; no grupo DXARNI 1,96% menor em relação ao grupo C e 3,24% menor do que no grupo DX.

### **V.XI Volume ejetado por sístole (SV):**

O volume de sangue ejetado por sístole (*stroke volume*) foi obtido através da ecocardiografia. Essas medidas foram feitas em todos os animais e com elas foi calculada a média de cada grupo. O valor médio de cada grupo foi utilizado para a análise de variância entre os grupos. Os dados estão demonstrados na Tabela 2.

Não houve diferença estatística entre os grupos, apenas tendência de diferença ( $P=0,06$ ). A maior média de volume de sangue ejetado por sístole foi encontrada no grupo C (0,55ml) e a menor no grupo DX (0,37ml).

Apesar de não ter atingido nível de significância estatística, a comparação ao final do experimento mostrou que o SV foi menor nos grupos ARNI, DX, DXVAL e DXARNI, quando comparados ao grupo C.

Percentualmente, o grupo DX apresentou SV 32,73% menor em relação ao grupo C, o grupo DXARNI 30,91% menor em relação ao grupo C e 2,70% maior que o grupo DX.

### **V.XII Fração de encurtamento sistólico ventricular (FS%):**

A fração de encurtamento sistólico ventricular foi obtida através da ecocardiografia aplicando-se a fórmula  $FS\% = [(DIVEd - DIVEs) / DIVEd] \times 100$ . Essas medidas foram feitas em todos os animais e através delas foi calculada a média de cada grupo. O valor médio de cada grupo foi utilizado para a análise de variância entre os grupos. Esse valor corresponde a um percentual (%) da alteração do diâmetro do ventrículo esquerdo durante seu encurtamento. Os dados estão demonstrados na Tabela 2.

Não houve diferença estatística entre os grupos. A maior fração de encurtamento sistólico ventricular foi a do grupo ARNI (32,84%) e a menor a do grupo DXVAL (28,49%).

A comparação ao final do experimento mostrou que a média da FS% foi numericamente menor nos grupos DXVAL e DXARNI e maior nos grupos ARNI e DX, quando comparados ao grupo C.

Ao comparar, percentualmente, os grupos, percebe-se que o grupo DX teve a média da FS% 1,37% maior em relação ao grupo C, o grupo DXARNI 3,15% menor em relação grupo C e 4,46% menor que o grupo DX.

Tabela 2: Valores médios dos grupos nos parâmetros gerais ecocardiográficos após o tratamento, com comparação entre as médias dos grupos por meio da análise de variância.

Animais	Grupos										p valor
	C		ARNI		DX		DXVAL		DXARNI		
	5	5	5	5	7	7	7	7	7	7	
	Média	Erro Desvio	Média	Erro Desvio	Média	Erro Desvio	Média	Erro Desvio	Média	Erro Desvio	
SIV diast.	0.12	0.01	0.11 <sup>a</sup>	0.02	0.14 <sup>a</sup>	0.02	0.13	0.01	0.12	0.02	0.04
SIV sist.	0.16	0.02	0.14	0.02	0.16	0.03	0.15	0.02	0.15	0.02	0.74
DIVE diast.	0.72 <sup>a</sup>	0.04	0.64	0.02	0.61 <sup>a</sup>	0.06	0.64	0.07	0.64	0.05	0.03
DIVE sist.	0.50	0.04	0.43	0.05	0.42	0.04	0.46	0.04	0.45	0.05	0.06
PPVE diast.	0.14	0.02	0.13	0.01	0.15	0.02	0.15	0.02	0.16	0.02	0.26
PPVE sist.	0.19	0.03	0.18	0.02	0.18	0.04	0.18	0.02	0.18	0.03	0.82
VFVE diast.	0.85 <sup>a,b</sup>	0.11	0.60	0.05	0.55 <sup>b</sup>	0.16	0.63	0.21	0.61 <sup>a</sup>	0.13	0.02
VFVE sist.	0.30 <sup>a</sup>	0.06	0.20	0.06	0.18 <sup>a</sup>	0.05	0.24	0.06	0.22	0.07	0.04
FEVE	64.89	6.18	66.51	10.47	65.75	6.52	60.72	7.19	63.62	6.53	0.65
SV	0.55	0.10	0.40	0.08	0.37	0.12	0.39	0.16	0.38	0.07	0.06
FS%	31.38	4.25	32.84	8.09	31.81	4.66	28.49	4.65	30.39	4.58	0.64

Fonte: CABRAL, 2021.. Letras iguais indicam os pares que são diferentes para  $P < 0,05$ . (a) e (b). As siglas dos grupos são referentes a: (C) Controle; (ARNI) Sacubitril-Valsartana; (DX) Doxorrubicina; (DXVAL) Doxorrubicina e Valsartana; (DXARNI) Doxorrubicina e Sacubitril-Valsartana. Para as siglas das variáveis analisadas: (SIV) Diâmetro do Septo interventricular; (PPVE) Diâmetro da parede posterior do ventrículo esquerdo; (DIVE) Diâmetro interno do ventrículo esquerdo, (VF) Volume final; (FEVE) Fração de ejeção do ventrículo esquerdo; (SV) (Stroke volume), volume sistólico ejetado por batimento; (FS%) Fração de encurtamento sistólico ventricular; (Diast.) Diástole; (Sist.) Sístole. O valor médio das medidas dos grupos está descrito em centímetros para SIV, PPVE e DIVE, em mililitros para VF e SV e em percentual para FEVE e FS.

## VII DISCUSSÃO:

As alterações cardíacas estudadas neste modelo experimental foram desencadeadas a partir da aplicação do modelo de cardiotoxicidade induzida por doxorubicina já validado na literatura (SIVESKI-ILISKOVIC; KAUL; SINGAL, 1994). A cardiotoxicidade neste modelo experimental é tempo-dependente e dose-dependente (BOCCHI et al., 2009). O desenho experimental utilizou seis aplicações intraperitoneais da doxorubicina, em dias alternados, durante duas semanas, atingindo-se a dose cumulativa de 7,5 mg/kg, e tem sido utilizado em diversos estudos conduzidos em nosso laboratório (CAMPOS et al., 2011; SOUZA et al., 2014). Neste modelo, a cardiotoxicidade, uma vez desencadeada, tem caráter progressivo,<sup>2</sup> assim causando remodelamento patológico do coração e acúmulo de metabólitos tóxicos no miocárdio (SOUZA et al., 2014), os quais aumentam as espécies reativas de oxigênio e o estresse oxidativo, provocando desbalanceamento da homeostase do cálcio, disfunção mitocondrial, degradação de proteínas e necroapoptose celular (MINOTTI et al., 2004; SINGAL et al., 2000).

Os efeitos tóxicos da doxorubicina são sistêmicos e podem ser qualificados e quantificados observando-se o aspecto e comportamento dos animais e de variáveis como o peso corporal.

A toxicidade sistêmica pode ser observada nitidamente nos animais que receberam o quimioterápico, conforme descrito anteriormente. Apesar dos sinais de toxicidade, o índice de mortalidade foi muito baixo e as duas mortes que ocorreram em animais do grupo DXARNI foram devidas a complicações anestésicas por ocasião da realização do ecocardiograma já no final do período experimental. Os animais morreram durante o processo de imobilização química para a realização do ecocardiograma, um antes e o outro após a realização do exame.

Durante o estudo observou-se que alguns animais dos grupos DX, DXVAL e DXARNI apresentaram redução da atividade habitual, queda dos pelos e pequenas lesões da parede abdominal (DXVAL e DX); alguns deles apresentaram sangramento nas narinas (DXARNI).

Todos os animais ganharam peso corporal ao longo do experimento, mesmo aqueles com manifestações de toxicidade à doxorubicina, o que significa boas condições sanitárias dos grupos experimentais considerando que os animais tiveram

livre acesso ao alimento. É necessário assinalar que o ganho ponderal foi menor na presença de doxorubicina independentemente da medicação empregada. Isto significa que a toxicidade sistêmica pode ter reduzido a ingestão alimentar ou a absorção intestinal de nutrientes e que estes efeitos não foram modificados pelos tratamentos instituídos. Apenas o grupo DXARNI mostrou a variação do peso corporal final estatisticamente menor do que o DX e isto pode estar ligado a modificações da quantidade dos líquidos corporais. Uma hipótese para explicar este achado é que, com o aumento plasmático dos peptídeos natriuréticos na presença do ARNI possa ter ocorrido aumento da natriurese resultando em redução de líquido corporal e do peso corporal final. Infelizmente nosso desenho experimental não contemplou aspectos que pudessem garantir o controle rigoroso da ingestão alimentar ou das variações nos estoques de líquidos corporais e novos estudos devem ser feitos para tentar responder estas questões.

Ainda em relação a aspectos ponderais, nota-se que a redução do peso do coração é significativa ( $P=0,00$ ) nos grupos ARNI e DXARNI em comparação ao C. Quando comparado com o grupo DX, o DXARNI mostra redução do peso do coração enquanto o DXVAL não foi estatisticamente diferente do DX, o que indica a importante influência dos efeitos do bloqueio da neprilisina num aspecto importante da remodelação cardíaca. A hipótese destes resultados estarem ligados principalmente à ação da antirremodelação dos peptídeos natriuréticos vasoativos é reforçada pela ausência deste padrão de resposta à valsartana isoladamente. A ação anti-remodelação pode estar ligada à modulação favorável de processos inerentes ao metabolismo das células que compõem a estrutura do coração e produção e reabsorção da matriz de colágeno e das respostas inflamatórias decorrentes da cardiotoxicidade (RESENDE; FIGUEIREDO; KASINSKI, 1987). Este efeito de remodelação reversa também deve estar ligado a aspectos hemodinâmicos e à melhora da sobrecarga cardíaca em resposta ao aumento da vasodilatação e da diurese com incremento da natriurese (POTTER; ABBEY-HOSCH; DICKEY, 2006; VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014; DOCHERTY et al., 2020). Quando adicionamos a esta análise a comparação da massa do coração indexada ao peso corporal não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $P=0,08$ ) embora tenha havido uma forte tendência à redução apenas no DXARNI.

Um comentário adicional deve ser feito. Quando observados em conjunto os grupos de tratamento, apenas o DXARNI mostrou diferença estatisticamente significativa quando comparado com o grupo DX para as três variáveis de peso analisadas (peso corporal final, variação do peso, entre o início e fim do experimento, e peso do coração).

O grau de cardiotoxicidade e a sua duração produzem remodelação cardíaca (VARDENY; MILLER; SOLOMON, 2014; DOCHERTY et al., 2020), estas com repercussões hemodinâmicas mais ou menos acentuadas que ocorrem de conformidade com o desbalanceamento entre o grau de fibrose intersticial e de hipertrofia produzida nos cardiomiócitos. A remodelação consiste na mudança na espessura das paredes, na geometria das cavidades cardíacas e na sua função mecânica. O conjunto de hipertrofia e dilatação definem a remodelação que pode ser concêntrica ou excêntrica, respectivamente, dependendo da predominância de um ou de outro aspecto.

As alterações e o grau de remodelação cardíaca no modelo utilizado no presente estudo tem sido descrito como sendo indutor de cardiopatia dilatada cursando com grande comprometimento estrutural (SIMÕES et al., 2018). Parece certo, portanto, que o grau de acometimento do coração pela administração de doxorubicina, além de ser cumulativo e tempo-dependente, também é dose-dependente e doses maiores podem provocar comportamento patológico diferente variando desde um comprometimento funcional leve, com FEVEp ou FEVElr, até situações extremas de grave comprometimento da função ventricular com redução expressiva da FEVE (CAMPOS et al., 2011).

As medidas diastólicas obtidas com o ecocardiograma do ventrículo esquerdo e correspondentes ao SIVd, PPVEd, DIVEd e VFVEd apresentaram comportamento diferente entre si. Constatou-se que o grupo que recebeu doxorubicina, isoladamente têm a espessura do SIV maior em relação ao grupo ARNI indicando um padrão de relaxamento comprometido e/ou alguma alteração tecidual adicional, proveniente de uma possível remodelação cardíaca. Embora não tenha sido verificada diferença estatisticamente significativa em relação ao controle, o emprego do ARNI isoladamente diminuiu a espessura septal em relação ao DX. Esta alteração septal pode ser explicada pela disfunção que a cardiotoxicidade causa e que pode ocorrer em situações de edema intersticial e fibrose cardíaca, ou ainda, pela perda ou



desorganização das miofibrilas, alterações no metabolismo do cálcio e degeneração do miocárdio (METTLER; YOUNG; WARD, 1977; CAMPOS et al., 2011). Como não houve diferença estatisticamente significativa do grupo DXARNI em relação ao controle, parece possível que tenha havido um efeito protetor do ARNI. Não foram encontrados relatos semelhantes na literatura alcançada, fato que indica a necessidade de outros estudos para se verificar como este efeito é produzido pelo medicamento.

Não foram observadas alterações septais na sístole reforçando nossa tese de que o envolvimento do coração em resposta à doxorrubicina é predominantemente diastólico, quando as condições experimentais utilizadas são semelhantes às nossas quanto ao modelo experimental com ratos Wistar, à dose de doxorrubicina e o tempo decorrido para a observação ecocardiográfica. As alterações diastólicas parecem acometer o coração de forma diferente conforme o segmento da parede ventricular esquerda observado, pois nada foi encontrado no que diz respeito à espessura da parede posterior. Embora a explicação para tal fato ainda não esteja clara, este padrão de resposta não é inédito, por exemplo, na cardiopatia chagásica crônica que apresenta áreas hipertróficas intercaladas com áreas de adelgaçamento em diferentes segmentos do ventrículo esquerdo (SIMÕES et al., 2018).

As análises relativas ao diâmetro transversal do ventrículo esquerdo no grupo DX não mostram dilatação diastólica, o que caracterizaria o modelo de cardiopatia dilatada. O volume final diastólico do ventrículo esquerdo também não é aumentado no grupo DX. Estes parâmetros que identificariam a cardiopatia dilatada também não são acompanhados de dilatação sistólica mostrando, mais uma vez, a inexistência de redução do volume ejetado e, por consequência, da fração de ejeção do ventrículo esquerdo. A ausência de alterações da FEVE, do volume ejetado por batimento do ventrículo esquerdo (SV) e da fração de estiramento do ventrículo esquerdo (FS%) em qualquer dos grupos comprova esta afirmação. Ainda mais, o volume final sistólico é menor no grupo DX em relação ao controle denotando melhor desempenho sistólico do ventrículo esquerdo.

Uma observação a mais nos mostra que o grupo DXARNI apresenta volume final diastólico do ventrículo esquerdo ainda menor do que o grupo C indicando o estabelecimento da disfunção diastólica e um remodelamento ventricular reverso incipiente.

Vários aspectos podem estar envolvidos na disfunção cardíaca que se instalou e muitos deles ainda não são bem conhecidos. É provável que, com a dose de doxorubicina utilizada e no tempo de evolução em que ocorreram as observações no nosso estudo, as limitações de movimentos no sarcômero decorrentes de alterações no metabolismo do cálcio e conseqüente prejuízo ao deslizamento de seus filamentos e à redução do movimento diastólico estejam envolvidas nos resultados encontrados (HASENFUSS, 1998; HAMDANI et al., 2008). A perda parcial da complacência ventricular produzida pela fibrose e pelo edema intersticial inflamatório podem também ser determinantes na disfunção cardíaca (SUTHAHAR et al., 2020). A investigação de tais possibilidades não fizeram parte do nosso protocolo experimental e deverão ser enfocadas em futuros estudos.

A redução do espaço interno da cavidade ventricular durante a diástole também ocorreu com a doxorubicina, o que teve como produto a redução do VFVEd. Neste cenário, as modificações produzidas nos grupos de tratamento DXVAL e DXARNI tornam-se ainda mais relevantes ao mostrarem discreto aumento do DIVEd em relação ao grupo DX. Esse resultado pode ser observado no aumento dos valores do VFVEd, que nos grupos de tratamento tiveram volumes maiores quando comparados ao grupo DX, porém sem diferença significativa.

A vasodilatação produzida pelo bloqueio dos receptores AT1 pela valsartana e potencializada pelos inibidores da neprilisina pode melhorar a FEVE, o que ocorre por meio da diminuição do edema intersticial, da morte celular, da fibrose muscular, do estresse oxidativo e da redução da resistência periférica (LU et al., 2018; YANG et al., 2019). Em nosso modelo experimental não ocorreram diferenças significativas na fração de ejeção e os resultados sobre a FEVE e a FS% obtidos nos grupos DXVAL e DXARNI não foram estatisticamente diferentes dos demais grupos de estudo.

Ao comparar as variáveis relacionadas à sístole ventricular, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as medidas obtidas do SIVs, PPVEs e DIVEs. Os valores das medidas do SIVs foram muito próximos nos diversos grupos. Os grupos C e DX se mantiveram semelhantes e os grupos com as medicações de tratamento tiveram apenas uma leve diminuição das espessuras. Uma hipótese é que esse achado possa ter acontecido devido à diminuição no edema intersticial causado pela doxorubicina e melhorado pelos medicamentos utilizados no

estudo (LU et al., 2018; YANG et al., 2019), visto que os valores da FS%, SIVs e PPVEs foram próximos nos grupos estudados.

Uma classificação atual da IC leva em conta a medida do valor percentual da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE). Em humanos, para valores iguais ou maiores que 50% a IC, se presente, é classificada como tendo fração de ejeção preservada (ICFEp) (LU et al., 2018; ROHDE et al., 2018). A aplicação dessa classificação em ratos Wistar ainda precisa ser padronizada. Mesmo na ausência de tal padronização, com a dose de doxorubicina utilizada neste estudo, a cardiotoxicidade teve como característica a preservação da FEVE e os valores de todos os grupos foram maiores que 60%. Não existiram diferenças estatísticas entre o percentual da FEVE nem da fração de encurtamento sistólico ventricular (FS%) e nem houve tendência nítida de tais alterações entre os valores encontrados nos diferentes grupos. Esses fatos reforçam nossa afirmação que ratos Wistar expostos à dose cumulativa de 7,5 mg/kg de peso corporal de doxorubicina e avaliados duas semanas após o encerramento da administração do quimioterápico têm FEVE preservada.

Contrariamente aos nossos achados, alguns estudos anteriores também em ratos Wistar mostraram leve redução da FEVE e da FS%, quando a cardiotoxicidade pela doxorubicina foi induzida em protocolos semelhantes ao nosso. Porém, mesmo diminuídos em relação ao controle, ainda assim os animais mantiveram valores de FEVE que poderia ser considerada como preservada (FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008; VOLKOVA; RUSSELL, 2011; CAMPOS et al., 2011). Sabe-se que os efeitos que levam a essa diminuição da FEVE são dose-dependentes (VOLKOVA; RUSSELL, 2011). Tais achados não foram obtidos nesse estudo no qual a média da FEVE encontrada no grupo DX (65,75%) foi mais elevada embora sem atingir nível de significância estatística em relação aos demais grupos experimentais. Tal achado não permite afirmar que não tenha havido cardiotoxicidade devida à doxorubicina uma vez que isso pode ser observado em outros efeitos detectados no ecocardiograma dos grupos que receberam o quimioterápico. Persiste aqui a nossa observação que, provavelmente, a cardiotoxicidade em ratos Wistar produzida pela dose cumulativa utilizada no presente estudo (atingindo-se 7,5 mg/kg em administrações de doses fracionadas administradas via intraperitoneal três vezes/semana, durante duas semanas e com resultados obtidos por ecocardiografia convencional após duas

semanas do término das aplicações) produz disfunção cardíaca de padrão ICFEp e não de ICFEr. Novos estudos deverão contemplar melhor essa visão do problema e, ainda, caso seja confirmado o padrão de ICFEp, proporcionar um modelo de estudo para uma situação que até hoje ainda permanece sem tratamento claramente definido nas diretrizes.

Como a fração de encurtamento sistólico ventricular (FS%) também não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (os resultados foram muito próximos entre si), este é mais um indício que a FEVE foi realmente preservada em nosso modelo.

Finalmente, os resultados observados indicam efeitos diastólicos importantes do sacubitril-valsartana na disfunção do ventrículo esquerdo e na remodelação cardíaca observada após administração de doxorubicina em ratos Wistar, sugerindo também sua participação na remodelação reversa do VE.

## **VIII IMPORTÂNCIA E LIMITAÇÕES DO ESTUDO:**

Nosso estudo tem importância ao demonstrar a predominância do comprometimento diastólico na cardiotoxicidade produzida experimentalmente com a doxorubicina. Este achado permitirá novos estudos referentes aos mecanismos fisiopatológicos que podem estar envolvidos na gênese e evolução da ICFEp, além de criar oportunidades para testes terapêuticos com agentes farmacológicos já disponíveis e de outros ainda em desenvolvimento.

As limitações de modelos experimentais decorrem principalmente das dificuldades encontradas na transposição e generalização dos resultados para outras populações e nas restrições derivadas de alguns métodos de imagem, principalmente quando se trata de pequenos animais. Os parâmetros mais utilizados na detecção de alterações diastólicas são a medida do fluxo diastólico transmitral ( $E/e'$ ) e a aferição das pressões na artéria pulmonar. Além disso, o volume atrial esquerdo também pode funcionar como um indicador substituto da pressão diastólica aumentada no seu interior.<sup>55</sup> Infelizmente, uma limitação importante decorrente do método de imagem utilizado é a não realização da aferição destes indicadores.

Outro aspecto que pode contribuir para confirmar a presença de insuficiência diastólica é a detecção de fibrose miocárdica. Os exames histológicos ainda estão em

processamento e deverão trazer estas informações adicionais uma vez que a fibrose é um indicador de dificuldades diastólicas. Também não foi realizada a dosagem dos peptídeos natriuréticos, fato que poderia facilitar a interpretação dos resultados obtidos.

## **IX CONCLUSÃO:**

O estudo confirma a hipótese de que o sacubitril-valsartana é útil, melhorando parâmetros funcionais diastólicos e estruturais do coração alterados após a exposição experimental à doxorubicina, sugerindo também sua participação na remodelação reversa do VE.

Os resultados também confirmam que no presente estudo os efeitos cardiotoxicos da doxorubicina consistem de alterações predominantemente diastólicas e apontam no sentido da utilização do modelo em futuros estudos referentes à fisiopatologia e a testes farmacológicos na ICFEp.

## XI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BOCCHI, E. A.; MARCONDES-BRAGA, F. G.; FERREIRA, S. M. A. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 93, n. 1, p. 1-71, 2009. Disponível em <<https://www.scielo.br/j/abc/a/XrJZJKL945HZqpd3dZgdPrf/?format=pdf&lang=pt>>.

HAYWARD, R.; HYDOCK, D. S. Doxorubicin cardiotoxicity in the rat: an in vivo characterization. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 46, n. 4, p. 20-32, 2007. PMID: 17645292

SIVESKI-ILISKOVIC, N.; KAUL, N.; SINGAL, P. K. Probuocol promotes endogenous antioxidants and provides protection against adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. **Circulation**, v. 89, n. 6, p. 2829–2835, 1994. doi: 10.1161/01.cir.89.6.2829.

BOCCHI, E. A.; MARCONDES-BRAGA, F. G.; BACAL, F.; et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Atualização da Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 98, n. 1, p. 1-33, 2012.

VOLKOVA, M.; RUSSELL, R. Anthracycline Cardiotoxicity: Prevalence, Pathogenesis and Treatment. **Current Cardiology Reviews**, v. 7, n. 4, p. 214-220, 2011. doi: 10.2174/157340311799960645

TERADA, S.; YOKOZEKI, T.; KAWANAKA, K, et al. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. **J Appl Physiol.**, v. 90, n. 6, p. 2019–2024, 2001. doi: 10.1152/jappl.2001.90.6.2019

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos - DBCA**. 2013. 50 p. Disponível em: <[http://www.sbc.org.br/conteudo/view?ID\\_CONTEUDO=65](http://www.sbc.org.br/conteudo/view?ID_CONTEUDO=65)> Acesso em 09 de novembro de 2017.

CAMPOS, E. C.; O'CONNELL, J. L.; MALVESTIO, L. M.; et al. Calpain-mediated dystrophin disruption may be a potential structural culprit behind chronic doxorubicin-induced cardiomyopathy. **European journal of pharmacology**, v. 670, n. 2, p. 541-553, 2011. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.09.021

TEICHHOLZ, L. E.; KREULEN, T.; HERMAN, M. V.; GORLIN, R. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence or absence of asynergy. **The American journal of cardiology**, v. 37, n. 1, p. 7-11, 1976. doi: 10.1016/0002-9149(76)90491-4.

LU, H. L.; TONG, M. S.; CHEN, K. H.; et al. Entresto therapy effectively protects heart and lung against transverse aortic constriction induced cardiopulmonary syndrome injury in rat. **American Journal of Translational Research**, v. 10, n. 8, p. 2290–2305,

2018. Disponível em  
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6129517/pdf/ajtr0010-2290.pdf>>.

NOVARTIS. Portal Novartis. **Entresto: Comprimidos**. Responsável técnico: Flavia Regina Pegorer. São Paulo: Novartis Pharma Stein AG, Stein, Suíça ou Novartis Singapore Pharmaceutical, Cingapura ou Novartis Farma S.p.A., Torre Annunziata, Itália 1997. 1 bula de remédio (2 p.). Disponível em: <https://portal.novartis.com.br/UPLOAD/lmgConteudos/3770.pdf>. Acesso em 04 Jul. 2020.

SACKS, C. A.; JARCHO, J. A.; CURFMAN, G. D. Paradigm Shifts in Heart-Failure Therapy - A Timeline. **N Engl J Med.**, v. 371, p. 989-991, 2014. DOI: 10.1056/NEJMp1410241.

HERAN, B. S.; MUSINI, V. M.; BASSETT, K. Angiotensin receptor blockers for heart failure. **The Cochrane Library**, v. 4, p. 0-79, 2012. doi: 10.1002/14651858.CD003040.pub2

SOUZA, F. R.; GONÇALVES, D. L. N.; PULICI, E. C. C.; et al. Resposta Hipertrófica da Associação de Hormônio Tireoidiano e de Exercício Físico no Coração de Ratos. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 102, n. 2, p. 187-191, 2014. <https://doi.org/10.5935/abc.20130243>

VON HOFF, D. D.; LAYARD, M. W.; BASA, P, et al. Risk Factors for Doxorubicin-Induced Congestive Heart Failure. **Annals of Internal Medicine**, v. 91, n. 5, p. 710-717, 1979. doi: 10.7326/0003-4819-91-5-710

GHARANEI, M.; HUSSAIN, A.; JAMES, R. S.; JANNEH, O.; MADDOCK, H. Investigation into the cardiotoxic effects of doxorubicin on contractile function and the protection afforded by cyclosporin A using the work-loop assay. **Toxicology in Vitro**, v. 28, n. 5, p. 722–731, 2014. doi: 10.1016/j.tiv.2014.01.011

DODD, D. A.; ATKINSON, J. B.; OLSON, R. D.; et al. Doxorubicin cardiomyopathy is associated with a decrease in calcium release channel of the sarcoplasmic reticulum in a chronic rabbit model. **J. Clin. Invest.**, v. 91, p. 1697–1705, 1993. doi: 10.1172/JCI116379

MINOTTI, G.; MENNA, P.; SALVATORELLI, E.; CAIRO, G.; GIANNI, L. Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. **Pharmacol Rev.**, v. 56, n. 2, p. 185-229, 2004. doi: 10.1124/pr.56.2.6.

ALLEN, A. The cardiotoxicity of chemotherapeutic drugs. **Semin. Oncol.**, v. 19, n. 5, p. 529-42, 1992. PMID: 1411651.

YANG, C. C.; CHEN, Y. T.; CHEN, C. H.; et al. The therapeutic impact of entresto on protecting against cardiorenal syndrome-associated renal damage in rats on high protein diet. **Biomed Pharmacother**, v.116, p.108954, 2019. doi: 10.1016/j.biopha.2019.108954.

METTLER, F. P.; YOUNG, D. M.; WARD, J. M. Adriamycin-induced cardiotoxicity (Cardiomyopathy and Congestive Heart Failure) in Rats. **Cancer Res.**, v. 37, (8 Pt 1), p. 2705-13, 1977. PMID: 872096.

GAZEWOOD, J. D.; TURNER, P. L. Heart failure with preserved ejection fraction: Diagnosis and Management. **Am Fam Physician**, v. 96, n. 9, p. 582-588, 2017. Disponível em <<https://www.aafp.org/afp/2017/1101/p582.html>>.

ROHDE, L. E. P.; MONTERA, M. W.; BOCCHI, E. A.; et al. Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica e Aguda. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 111, n. 3, p. 436-539, 2018. doi: 10.5935/abc.20180190

FERNANDES, A. D. F.; FERNANDES, G. C.; MAZZA, M. R.; et al. Insuficiência Cardíaca no Brasil Subdesenvolvido: Análise de Tendência de dez anos. **Arq Bras Cardiol.**, v. 114, n. 2, p. 222-231, 2020. <https://doi.org/10.36660/abc.20180321>

DOCHERTY, K. F.; VADUGANATHAN, M.; SOLOMON, S. C.; MCMURRAY, J. J. V. Sacubitril/Valsartan: Neprilysin Inhibition 5 Years After PARADIGM-HF. **JACC: Heart Failure**, v. 8, n. 10, p. 800-810, 2020. doi: 10.1016/j.jchf.2020.06.020

SOLOMON, S. D.; MCMURRAY, J. J. V.; ANAND, I. S.; et al. Angiotensin–neprilysin inhibition in heart failure with preserved ejection fraction. **N Engl J Med.** 381: 1609-1620, 2019. DOI: 10.1056/NEJMoa1908655

VARDENY, O.; MILLER, R.; SOLOMON, S. D. Combined Neprilysin and Renin-Angiotensin System Inhibition for the Treatment of Heart Failure. **JACC: Heart Failure**, v. 2, n. 6, p. 663–670, 2014. doi: 10.1016/j.jchf.2014.09.001.

SANJULIANI, A. F.; TORRES, M. R. S. G.; PAULA, L. N.; BASSAN, F. B. Eixo renina-angiotensina-aldosterona: Bases Fisiológicas e Fisiopatológicas. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, UERJ, v. 10, p. 20-30, 2011. Disponível em <<https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/revistahupe/article/view/8857/6743>>.

FYHRQUIST, F.; SAIJONMAA, O. Renin-angiotensin system revisited. **Journal of Internal Medicine**, v. 264, n. 3, p. 224-236, 2008. doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.01981.x

DANIELS, L. B.; MAISEL, A. S. Natriuretic peptides. **J Am Coll Cardiol.**, v. 50, n. 25, p. 2357-68, 2007. doi: 10.1016/j.jacc.2007.09.021.

POTTER, L. R.; ABBEY-HOSCH, S.; DICKEY, D. M. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. **Endocr Rev.**, v. 27, n. 1, p. 47-72, 2006. doi: 10.1210/er.2005-0014.

LAUTNER, R. Q.; DORNELAS, H. G. P.; SILVA, J. G. B. P. C. P.; ARAÚJO, G. H. S.; SILVA, I. M. Novas angiotensinas e suas implicações fisiológicas. **HU rev.**, v. 45, n. 2, p. 212-221, 2019. DOI: <https://doi.org/10.34019/1982-8047.2019.v45.25929>

CAMPBELL, D. J. Vasopeptidase inhibition: A double-edged sword. **Hypertension**, v. 41, p. 383-389, 2003. doi: 10.1161/01.HYP.0000054215.71691.16



COATS, A. J. S. Omapatrilat- the story of Overture and Octave. **Int J Cardiol.**, v. 86, n. 1, p. 1-4, 2002. doi: 10.1016/s0167-5273(02)00389-3

PACKER, M.; CALIFF, R. M.; KONSTAM, M. A.; et al. Comparison of omapatrilat and enalapril in patients with chronic heart failure: the Omapatrilat Versus Enalapril Randomized Trial of Utility in Reducing Events (OVERTURE). **Circulation**, v. 106, n. 8, p. 920-926, 2002. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000029801.86489.50>

KOSTIS, J. B.; PACKER, M.; BLACK, H. R. Omapatrilat and enalapril in patients with hypertension: the Omapatrilat Cardiovascular Treatment vs. Enalapril (OCTAVE) trial. **Am J Hypertens.**, v. 17, n. 2., p. 103-111, 2004. doi: 10.1016/j.amjhyper.2003.09.014.

KHAN, M. S.; FELKER, G. M.; PIÑA, I. L.; et al. Reverse Cardiac Remodeling Following Initiation of Sacubitril/Valsartan in Patients With Heart Failure With and Without Diabetes. **JACC Heart Fail.**, v. 9, n. 2, p. 137-145, 2021. doi: 10.1016/j.jchf.2020.09.014..

NISHIKIMI, T.; MAEDA, N.; MATSUOKA H. The role of natriuretic peptides in cardioprotection. **Cardiovasc Res.**, v. 69, n. 2, p. 318-28, 2006. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.10.001.

AZAD, N.; KATHIRAVELU, A.; MINOOSEPEHER, S.; HEBERT, P.; FERGUSON, D. Gender differences in the etiology of heart failure: A systematic review. **Journal of Geriatric Cardiology**, v. 8, n. 1, p. 15-23, 2011. doi: 10.3724/SP.J.1263.2011.00015

ASCENSÃO, A.; OLIVEIRA, P. J.; MAGALHÃES, J. Exercise As A Beneficial Adjunct Therapy During Doxorubicin Treatment—Role Of Mitochondria In Cardioprotection. **Int J Cardiol.**, v. 156, n. 1, p. 4-10, 2012. doi: 10.1016/j.ijcard.2011.05.060.

ROCHETTE, L.; GUENANCIA, C.; GUDJONCIK, A.; et al. Anthracyclines/trastuzumab: new aspects of cardiotoxicity and molecular mechanisms. **Trends Pharmacol Sci.**, v. 36, n. 6, p. 326-48, 2015. doi: 10.1016/j.tips.2015.03.005.

SINGAL, P. K.; LI, T.; KUMAR, D.; DANELISEN, I.; ILISKOVIC, N. Adriamycin-induced heart failure: mechanisms and modulation. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 207, n. (1-2), p. 77-86, 2000. doi: 10.1023/a:1007094214460.

MCDONAGH, T. A.; METRA, M.; ADAMO, M.; et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. **European Heart Journal**, v. 42, n. 36, p. 3599-3726, 2021. doi: 10.1093/eurheartj/ehab368.

MADDOX, T. M.; JANUZZI, J. L.; ALLEN, L. A.; et al. 2021 Update to the 2017 ACC Expert Consensus Decision Pathway for Optimization of Heart Failure Treatment: Answers to 10 Pivotal Issues About Heart Failure With Reduced Ejection Fraction. **J**

**Am Coll Cardiol.**, v. 77, n. 6, p. 772-810, 2021.  
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.022>

MARCONDES-BRAGA, F. G.; MOURA, L. A. Z.; ISSA, V. S.; et al. Atualização de Tópicos Emergentes da Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca – 2021. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 116, n. 6, p. 1174-1212, 2021. DOI: 10.36660/abc.20210367

ANKER, S. D.; BUTLER, J.; FILIPPATOS, G.; et al. Empagliflozin in Heart Failure with a Preserved Ejection Fraction. **N Engl J Med.**, v. 385, p.1451-1461, 2021. DOI: 10.1056/NEJMoa2107038

MCMURRAY, J. J. V.; PACKER, M.; DESAI, A. S.; et al. Angiotensin–Neprilysin Inhibition versus Enalapril in Heart Failure. **N Engl J Med.**, v. 371, p. 993-1004, 2014. DOI: 10.1056/NEJMoa1409077

SEHN, E.; MCDONALD, T.; LINDBLAD, A. J. Sacubitril-valsartan: novel therapy for heart failure. **Canadian Family Physician**, v. 63, n. 9, p. 697, 2017. PMID: 28904036

SIMÕES, M. V.; ROMANO, M. M. D.; SCHMIDT, A.; MARTINS, K. S. M.; MARINETO, J. A. Cardiomiopatia da Doença de Chagas. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 31, n. 2, p. 173-189, 2018. DOI: 10.5935/2359-4802.20180011

HASENFUSS, G. Alterations of calcium-regulatory proteins in heart failure. **Cardiovascular Research**, v. 37, n. 2., p. 279-289, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(97\)00277-0](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(97)00277-0)

HAMDANI, N.; KOOIJ, V.; DIJK, S. V.; et al. Sarcomeric dysfunction in heart failure. **Cardiovascular Research**, v. 77, n. 4, p. 649–658, 2008. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvm079>

SUTHAHAR, N.; MEIJERS, W. C.; SILLJÉ, H. H. W.; de BOER, R. A. From Inflammation to Fibrosis—Molecular and Cellular Mechanisms of Myocardial Tissue Remodelling and Perspectives on Differential Treatment Opportunities. **Curr Heart Fail Rep.**, v. 14, n. 4., p. 235-250, 2017. doi: 10.1007/s11897-017-0343-y

HAJJAR, L. A.; COSTA, I. B. S. S.; LOPES, M. A. C. Q.; et al. Diretriz Brasileira de Cardio-oncologia – 2020. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 115, n. 5, p. 1006-1043, 2020. DOI: 10.36660/abc.20201006

RESENDE, E. S.; FIGUEIREDO, J. F.; KASINSKI, N. Coração e regulação dos líquidos orgânicos. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 91, n. 1, p. 57-60, 1987.

THEVENARD, R. S. Ecocardiografia e função diastólica. **Braz. J. Cardiovasc. Surg.**, v. 20, n. 1, p. 1-2, 2005. DOI: 10.1590/S0102-76382005000100003



Universidade Federal de Uberlândia

– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



## CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Alterações morfológicas e funcionais cardíacas em ratos Wistar com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina após tratamento com a associação de sacubitril valsartana e exercício físico.”, protocolo nº 031/19, 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 **06 de Setembro de 2019**.

(We certify that the project entitled “Alterações morfológicas e funcionais cardíacas em ratos Wistar com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina após tratamento com a associação de sacubitril valsartana e exercício físico.”, protocol 031/19, 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 06th, 2019).

Vigência do Projeto	Início: 01/10/2019 Término: 01/02/2020
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Rato Isogênico Wistar
Número de animais	70
Peso / Idade	250g/ 2 meses
Sexo	Macho
Origem / Local	Rede de Biotérios – UFU (REBIR – UFU)
Local onde serão mantidos os animais:	Rede de Biotérios – UFU (REBIR – UFU)

Uberlândia, 10 de Setembro de 2019.

  
**Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
Comissão de Ética na Utilização de Animais /UFU  
Coordenador da CEUA  
Portaria Nº 542 DE 10 DE MAIO DE 2019