

TIROXINA E TOLERÂNCIA AO ESFORÇO

UM MODELO EXPERIMENTAL

Thiago Montes Fidale
Alexandre Gonçalves
Hugo Ribeiro Zanetti
Fernanda Rodrigues de Souza
Leandro Teixeira Paranhos Lopes
Elmiro Santos Resende



Thiago Montes Fidale
Alexandre Gonçalves
Hugo Ribeiro Zanetti
Fernanda Rodrigues de Souza
Leandro Teixeira Paranhos Lopes
Elmiro Santos Resende

TIROXINA E TOLERÂNCIA AO ESFORÇO:
UM MODELO EXPERIMENTAL

1ª Edição Eletrônica

Uberlândia / Minas Gerais
Navegando Publicações
2017



Navegando Publicações



NAVEGANDO

www.editoranavegando.com

editoranavegando@gmail.com

Uberlândia – MG

Brasil

Conselho Editorial

Anselmo Alencar Colares – UFOPA

Carlos Lucena – UFU

Carlos Henrique de Carvalho – UFU

Dermeval Saviani – Unicamp

Fabiane Santana Previtalli – UFU

Gilberto Luiz Alves – UFMS

João dos Reis Silva Júnior – Ufscar

José Carlos de Souza Araújo – Uniube/UFU

José Claudinei Lombardi – Unicamp

José Luis Sanfelice – Univás/Unicamp

Lívia Diana Rocha Magalhães – UESB

Mara Regina Martins Jacomeli – Unicamp

Miguel Perez – Universidade Nova Lisboa – Portugal

Ricardo Antunes – Unicamp

Robson Luiz de França – UFU

Teresa Medina – Universidade do Minho – Portugal

Tristan MacCoaw – Universit of London

Copyright © by autores, 2017.

D395 – Fidale, Thiago Montes; et al. Tiroxina e tolerância ao esforço: um modelo experimental. Uberlândia: Navegando Publicações, 2017.

ISBN: 978-85-92592-85-1

1. Educação 2. Saúde. 3. Tiroxina I. Thiago Montes Fidale; Alexandre Gonçalves; Hugo Ribeiro Zanetti; Fernanda Rodrigues de Souza; Leandro Teixeira Paranhos Lopes; Elmiro Santos Resende. II. Navegando Publicações. Título.

CDD – 610

Preparação/ Revisão – Lurdes Lucena

Arte Capa – Carlos Lucena

Índices para catálogo sistemático

Medicina 610

Educação 370

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Hipertrofia Cardíaca	1
1.2 Hipertireoidismo	4
1.3 Hipertireoidismo e Hipertrofia Cardíaca	5
1.4 Aminoácido Leucina	7
1.5 Leucina e Miocárdio	8
1.6 Creatinaquinase e Hipertireoidismo	9
1.7 Justificativa	9
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivos Específicos	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Animais	10
3.2 Desenho esquemático do protocolo experimental	11
3.3 Protocolo Experimental	11
3.4 Adaptação ao PowerLab	14
3.5 Aferições da Pressão Arterial Sistólica (PAS) e Frequência Cardíaca (FC)	14
3.6 Indução do Hipertireoidismo	18
3.7 Teste de Esforço	19
3.8 Eutanásia dos animais e coleta de sangue	19
3.9 Análises laboratoriais	20
3.10 Peso do coração	20
3.11 Preparação histológica	20
3.12 Análises microscópicas da fibra muscular cardíaca	21
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
5. RESULTADOS	22
6. DISCUSSÃO	38
6.1 Hipertrofia Cardíaca	38
6.2 Creatina quinase	41

6.4 Frequência cardíaca e pressão arterial sistólica	43
6.3 Tolerância ao Esforço	44
7. CONCLUSÃO	44
8. REFERÊNCIAS	45

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Imagem 1: Vias de sinalização intracelular	3
Imagem 2: Disposição do rato no contêiner e colocação do esfignomanômetro de cauda para a aferição da PAS e da FC utilizando o PowerLab 4/25	15
Imagem 3: Gráfico da pressão de pulso (parte superior), PAS enquanto o esfignomanômetro é desinsuflado e FC (parte inferior) obtida utilizando o PowerLab 4/25T	16
Imagem 4: Pressão arterial obtida em imagem através do esfignomanômetro de cauda adaptado para ratos utilizando o PowerLab 4/25T	16
Imagem 5: Pressão de pulso obtida em imagem através do esfignomanômetro de cauda adaptado para ratos utilizando o PowerLab 4/25T	17
Imagem 6: Frequência cardíaca obtida em imagem através do esfignomanômetro de cauda adaptado para ratos utilizando o PowerLab 4/25T	17
Imagem 7: Disposição do equipamento no momento da coleta de dados	18
Imagem 8: Teste de esforço	19
Imagem 9: Análise do diâmetro transversal dos cardiomiócitos dos ratos utilizando o software HL Image (Western Vision)	21
Imagem 10: Vias de sinalização intracelular e possível ação da leucina	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Divisão dos animais no grupo 7D e subgrupos	12
Tabela 2– Divisão dos animais no grupo 28D e subgrupos	13
Tabela 3 – Peso Corporal Total Grupo 7D	13
Tabela 4 – Peso Corporal Total Grupo 28D	14
Tabela 5 – Peso do coração e do ventrículo esquerdo Grupo 7D	22
Tabela 6 – Peso do coração e do ventrículo esquerdo Grupo 28D	24
Tabela 7 – Diâmetro transversal dos cardiomiócitos Grupo 28D	27
Tabela 8 – Concentrações séricas de T3, T4 e TSH Grupo 7D	28
Tabela 9 – Concentrações séricas de CK–NAC e CK–MB, Grupo 7D	30
Tabela 10 – Concentrações séricas de T3, T4, CK–NAC e CK–MB, Grupo 28D	32
Tabela 11 – Teste de Esforço Grupo 28D	34
Tabela 12 – Frequência cardíaca e pressão arterial Grupo 28D	37

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Peso absoluto do coração Grupo 7D	23
Gráfico 2: Peso relativo do coração Grupo 7D	23
Gráfico 3: Peso do ventrículo esquerdo Grupo 7D	24
Gráfico 4: Peso absoluto do coração Grupo 28D	25
Gráfico 5: Peso relativo do coração Grupo 28D	26
Gráfico 6: Peso do ventrículo esquerdo Grupo 28D	26
Gráfico 7 – Diâmetro transversal dos cardiomiócitos, Grupo 28D	27
Gráfico 8: Concentrações de T3 no Grupo 7D	29
Gráfico 9: Concentrações de T4 no Grupo 7D	29
Gráfico 10: Concentrações de TSH no Grupo 7D	30
Gráfico 11: Concentrações de CK-NAC no Grupo 7D	31
Gráfico 12: Concentrações de CK-MB no Grupo 7D	31
Gráfico 13: Concentrações de T3 no Grupo 28D	32
Gráfico 14: Concentrações de T4 no Grupo 28D	33
Gráfico 15: Concentrações de CK-NAC no Grupo 28D	33
Gráfico 16: Concentrações de CK-MB no Grupo 28D	34
Gráfico 17: Teste de esforço inicial, dia 0 Grupo 28D	35
Gráfico 18: Teste de esforço sétimo dia de experimento, Grupo 28D	35
Gráfico 19: Teste de esforço décimo quarto dia de experimento, Grupo 28D	36
Gráfico 20: Teste de esforço vigésimo primeiro dia de	36

experimento, Grupo 28D

Gráfico 21: Teste de esforço último dia do experimento, Grupo 28D 37

Gráfico 22: Frequência cardíaca, Grupo 28D 38

Gráfico 23: Pressão arterial sistólica, Grupo 28D 38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HC = Hipertrofia Cardíaca

MAPK = *Mitogen Activated Protein Kinases*

AKT. = *Proteína quinase B*

ERK = *Extracellular Signal-Regulated Kinases*

JNK = *Jun N-terminal kinase*

PI3K = *Fosfatidil-inositol 3 kinase*

PDK1 = *Phosphoinositide-dependent protein kinase*

S6k = *Ribosomal protein S6 kinase*

4E-BP1 = *Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E-Binding Protein 1*

mTOR = *Mammalian target of rapamycin*

eEF2k = *Eukaryotic elongation factor kinase 2*

p38 = *Mitogen-activated protein kinase*

T3 = Triiodotironina

T4 = Tiroxina

TRH = Hormônio liberador da tireotropina

TSH = Hormônio estimulador da tireoide

SERCA2 = Ca^{++} ATPase

HT = Hiper tireoidismo

TR α = Receptores nucleares para tiroxina

TER = Elemento responsivo de T3

CK = Creatina quinase

CK-BB = Creatina quinase predominantemente cerebral

CK-MB = Creatina quinase predominante miocárdica

CK-MM = Creatina quinase predominante músculo esquelética

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – HIPERTROFIA CARDÍACA

A hipertrofia cardíaca (HC) decorre do aumento do comprimento e/ou do diâmetro transversal dos cardiomiócitos, comumente acompanhado da proliferação de tecido conjuntivo intersticial. Vários mecanismos fisiopatológicos estão relacionados ao processo adaptativo hipertrófico do miocárdio como a sobrecarga hemodinâmica crônica, treinamento físico e ação de substâncias por ativação de vias de sinalização intracelular envolvidas no crescimento celular (FRANCHINI, 2001).

A HC pode ser classificada funcionalmente como fisiológica ou patológica. Na hipertrofia fisiológica, existe um equilíbrio entre a capacidade de produzir energia e a capacidade contrátil da massa hipertrofiada dos cardiomiócitos. Isto se deve ao aumento simultâneo do número de cristas mitocondriais. Na hipertrofia patológica, parece ocorrer redução da razão entre o volume mitocondrial e o volume de miofibrilas por cardiomiócito, instalando-se, cronicamente, a insuficiência cardíaca que compromete os processos adaptativos que atuam na manutenção do débito cardíaco, predispondo a um déficit de relaxamento, falência contrátil e instabilidade elétrica (LEVY, 1990; LORELL, 2000; ANVERSA *et al.*, 1976).

Quanto aos aspectos anatomopatológicos, a hipertrofia concêntrica é caracterizada pelo aumento do diâmetro transversal da fibra muscular cardíaca, sem aumento significativo no número de cardiomiócitos, o que faz aumentar a espessura da parede muscular com discreta redução ou manutenção do tamanho das câmaras cardíacas. É comum, tanto em modelos experimentais quanto em humanos, os cardiomiócitos apresentarem multiplicação do material proteico com aumento do número de sarcômeros em série e de mio-

fibrilas por sarcômero (GROSSMAN *et al.*, 1975; ANVERSA *et al.*, 1984; VLIEGEN *et al.*, 1995).

A resposta hipertrófica do miocárdio é dependente, em grande parte, do estímulo mecânico induzido pela sobrecarga hemodinâmica, fato que se repete em, praticamente, todos os modelos experimentais. Os mecanismos de mecanotransdução em miócitos cardíacos consistem na leitura da tensão na membrana celular pelas integrinas, onde a estrutura deformável do citoesqueleto transmite força e tensão para as estruturas intracelulares, fornecendo a base física para a transdução do sinal mecânico em sinal bioquímico hipertrófico conduzido por moléculas sinalizadoras intracelulares (MANIOTIS *et al.*, 1997; JANMEY, 1998; FRANCHINI, 2001).

De maneira geral os mecanismos envolvidos na HC agem por meio de ativação de vias de crescimento intracelular pela regulação da transcrição gênica. Duas importantes vias de sinalização intracelulares associadas ao crescimento celular são as vias das MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases) e proteína quinase B/AKT.

As proteínas quinases ativadas por mitógenos – MAPK, são quinases reguladas por sinais extracelulares - ERK $\frac{1}{2}$ (Extracellular Signal-Regulated Kinases) ou proteínas quinase ativadas por estresse, como a quinase c-Jun N-terminal (JNK) e a P38 (NISHIDA, 1993). A família das ERK medeia a diferenciação e o crescimento celular, enquanto a JNK e a P38 atuam nos mecanismos de apoptose em resposta ao estresse (KYAW *et al.*, 2004).

Outra importante via proliferativa é a via da proteína quinase B, também chamada de AKT. Estas enzimas fosforilam uma grande variedade de substratos intracelulares que regulam o crescimento, o metabolismo e a sobrevivência celular (DEBOSCH *et al.*, 2006). A AKT ativa um importante fator que promove o crescimento tecidual, a mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) (INOKI, LI *et al.*, 2002). A via do fosfatidil inositol-3-quinase (PI3K/AKT) está ativa no coração de ratos em resposta à sobrecarga de pressão e também por fatores neuroendócrinos (OH *et al.*, 1998; BERTAGNOLLI, 2008).

Outras vias intracelulares que desempenham importante papel na determinação morfofuncional da hipertrofia cardíaca patológica são as vias apoptóticas, como a via das caspases e da família bcl2. Durante o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca patológica, verifica-se perda gradativa do número de cardiomiócitos, o que permite o maior desenvolvimento das células remanescentes e a proliferação fibroblástica (IWATA *et al.*, 2005).

As vias de sinalização intracelular relacionadas à tiroxina, leucina e ao estresse estão apresentadas na Imagem 1.

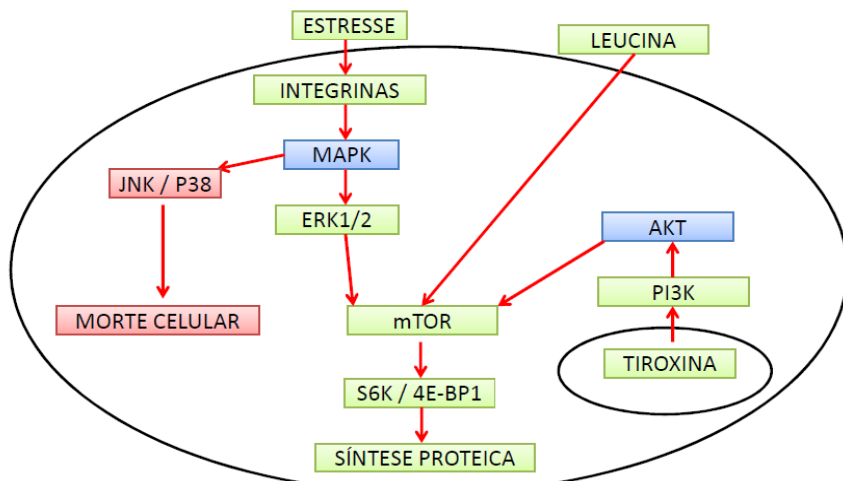


Imagem 1 – Vias de sinalização intracelular para a síntese proteica e atuação da leucina, (PI3K), fosfatidil-inositol 3 quinase; (PKD1), phosphoinositide-dependent protein kinase; (S6k), ribosomal protein S6 kinase; (4E-BP1), Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E-Binding Protein 1; (mTOR), mammalian target of rapamycin; (AKT-PI3K), Fosfatidil-inositol 3 quinase; (MAPK), proteína quinase ativado por mitógenos; (ERK 1/2), quinase reguladora de sinais extracelulares; Jun N-terminal kinase (JNK); (p38) mitogen-activated protein kinase (MAPK) family members.

No entanto, as vias intracelulares anabólicas e catabólicas ainda são pouco conhecidas e parece agirem em interações muito complexas, estando envolvidas com inúmeras moléculas que podem

influenciar umas às outras, dificultando a compreensão do exato funcionamento de tais vias.

1.2 – HIPERTIREOIDISMO

Os hormônios triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) tem seu controle no eixo hipotálamo-hipofisário. Neste controle tem papel importante o hormônio hipotalâmico liberador da tireotropina (TRH) que estimula a adeno-hipófise a sintetizar e liberar o hormônio estimulador da tireoide (TSH) e este estimula a síntese e secreção de T3 e T4 (CORVILAIN *et al.* 2000; SAAD *et al.* 2007).

O aumento das concentrações de hormônios da tireoide nos líquidos corporais, diminui a secreção de TSH pela adeno-hipófise, por feedback negativo sobre o hipotálamo e sobre a própria hipófise. Estudos com radioimunoensaio revelam que as concentrações sanguíneas de TSH são inferiores aos valores normais em quase todos os pacientes com hipertireoidismo (GUYTON, 2011).

Os efeitos fisiológicos dos hormônios tireóideos se resumem em aumentar a transcrição nuclear de grande número de genes, causando um aumento generalizado da atividade funcional em todo o corpo, aumentando a taxa metabólica de todos os tecidos corporais, o consumo basal de O₂ e a produção de calor. O metabolismo pode ficar 60 a 100% acima do normal e seus efeitos incluem aumento da frequência cardíaca, do débito cardíaco e diminuição da resistência vascular sistêmica, dentre outros (DILLMANN, 2010).

Outro fator relevante no quadro clínico do hipertireoidismo é uma fraqueza muscular progressiva associada a uma atrofia muscular generalizada, comprometendo a qualidade de vida e a realização de tarefas cotidianas (DILLMANN, 2010).

Graves (1835) e Basedow (1840) foram os primeiros a reconhecer esses acometimentos musculares como sintomas da doença e, desde então, diversas síndromes neuromusculares foram descritas em pacientes em tireotoxicose.

1.3 – HIPERTIREOIDISMO E HIPERTROFIA CARDÍACA

As funções cardíacas apresentam alterações por ação direta do T3 ou por variações hemodinâmicas impostas pelo hormônio, provocando o aumentando o débito cardíaco, cronotropismo e inotropismo, gerando adaptações hipertróficas no coração. Estas modificações podem levar a um quadro de insuficiência cardíaca (AMIDI *et al.* 1968; GRAETTINGER *et al.* 1959; SKELTON *et al.* 1970; GEMMILL 1958; SANDIER *et al.* 1959).

Os hormônios tireoidianos interagem com receptores nucleares específicos, que são fatores de transcrição ativados por ligantes, modificando e ampliando a transcrição gênica. Um atributo dos receptores de T3 é que eles residem no núcleo e estão associados ao elemento responsivo de T3 (TER) do DNA (KAHALY *et al.*, 2005). Todo o conteúdo proteico das células cardíacas pode ser alterado pelo excesso de HT. Um aspecto interessante está ligado ao comportamento das chamadas proteínas contráteis, representadas pela miosina e pela actina. A miosina cardíaca é composta por um par de cadeias pesadas (α e β) e dois pares de cadeias leves. São identificados três tipos de isoenzimas da miosina (V1, V2 e V3) que possuem os mesmos pares de cadeias leves, variando apenas em relação às pesadas ($\alpha\alpha$ nas V1; $\alpha\beta$ nas V2 e $\beta\beta$ nas V3), o que lhes confere características diferentes em relação à capacidade de hidrolisar ATP (OPIE, 2001).

A cadeia α tem alta capacidade de desfosforilar o ATP, enquanto, na cadeia β , essa ação é baixa (V1>V2>V3). Assim, três diferentes moléculas de ATPase cardíaca podem existir: $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ e $\alpha\beta$. As isoformas da miosina são re-expressas em cardiomiócitos hipertrofiados e podem ser utilizadas como marcadores de hipertrofia cardíaca, podendo diferenciar-se de acordo com a natureza do estímulo hipertrófico, que pode ser mecânico, nervoso, hormonal ou genético (SIMPSON *et al.*, 1989).

Das isoformas dos receptores tireoideanos nucleares, tanto a α quanto a β regulam a transcrição gênica da cadeia pesada de miosina (α e β), da $\text{Ca}^{++}\text{ATPase}$ (SERCA2) e de fosfolambam (CINI *et al.*, 2009). Portanto, esses receptores alteram a função cardíaca e a ablação deles provoca anormalidade contrátil (DILLMANN, 2010).

No hipertireoidismo, ocorre aumento na expressão do gene da cadeia α da miosina, o que leva a maior capacidade de contratilidade do miocárdio, independente das respostas hemodinâmicas. (MESSIAS *et al.*; 1999).

Os hormônios tireoidianos provocam adaptações cardíacas que incluem o aumento da síntese de proteínas contráteis, ativação adicional das vias metabólicas, mudanças na geometria das câmaras cardíacas e neovascularização com redução de fibrose (OJAMAA, 2010). Sua ação ocorre, portanto, por efeitos diretos sobre o tecido cardíaco, em particular sobre os cardiomiócitos, e por efeitos hemodinâmicos que modificam a carga imposta ao coração (CINI *et al.*, 2009).

A hipertrofia dos cardiomiócitos induzida pelo HT resulta da ativação diferencial de vias de sinalização intracelular com envolvimento de proteínas sinalizadoras envolvidas nos mecanismos de crescimento/sobrevivência celulares (KENESSEY, 2006; OJAMAA, 2010).

Estudos em diversos modelos experimentais com hormônio tireoidiano tem mostrado a participação da via PI3K/AKT/mTOR, onde o T3 se liga aos receptores nucleares $\text{TR}\alpha$ e ativa esta via produzindo hipertrofia cardíaca (KUZMAN *et al.*, 2005; KENESSEY, 2006; DILLMANN, 2010).

O excesso de hormônios tireoidianos parece provocar diferentes adaptações no coração de acordo com o tempo de exposição ao hormônio, levando, a princípio, a uma hipertrofia fisiológica por meio das vias da proteína quinase B (PBK/AKT) e pela quinase ativada por sinal extracelular (ERK $\frac{1}{2}$), porém, cronicamente, há início

de sinalização apoptótica pela ativação da via de morte celular dependente das caspases (FERNANDES, 2010).

1.4 – AMINOÁCIDO LEUCINA

A leucina pertence ao grupo dos aminoácidos de cadeia ramificada e alifática (BCAA), que são reguladores do metabolismo proteico muscular in vivo (KOBAYASHI *et al.* 2006). A suplementação de leucina é utilizada como terapia nutricional em situação de desuso muscular na tentativa de reverter o quadro de proteólise induzido por diversos acometimentos clínicos. É empregada, assim, como estratégia anabólica e/ou anticatabólica devido sua ação no metabolismo das proteínas (ELEY *et al.*, 2007; HAN *et al.*, 2007; VENTRUCCI *et al.*, (2001) SHAH *et al.*, 2000).

Estudos pioneiros de Shah *et al.* (2000) demonstraram que a suplementação de leucina em ratos é capaz de estimular marcadamente a síntese proteica na musculatura esquelética, ativando a via de sinalização intracelular da mTOR. O mecanismo pelo qual a suplementação de leucina ativa a proteína quinase mTOR ainda é desconhecido mas acredita-se na existência de receptores de membrana sensíveis a estimulação da leucina.

A leucina aumenta a síntese proteica através de mecanismos pós-transcrição, aumentando a eficiência traducional, intensificando, assim, a taxa de tradução dos RNAm já existentes, desenovelando estruturas secundárias na região não traduzida do RNAm e aumentando o acoplamento do RNAm ao ribossomo (KIMBALL; JEFFERSON, 2006; PROUD 2007).

O mecanismo de ação da leucina no processo de síntese proteica dá-se pela fosforilação da proteína quinase p70S6k, induzindo, assim, a fosforilação da proteína ribossômica (S6), o fator de iniciação eucariótico (eIF4B) e a proteína envolvida no processo de alongamento do processo de tradução, Eukaryotic elongation factor ki-

nase 2 (eEF2k). Altera, assim, a iniciação e o alongamento de outras classes de RNAm (KIMBALL; JEFFERSON, 2006).

1.5 – LEUCINA E MIOCÁRDIO

Escobar *et al.* (2005) estudaram os efeitos dos aminoácidos BCAAs no músculo cardíaco e esquelético e seus resultados sugerem que a infusão pós-prandial de leucina, atua como um sinal nutricional para estimular a síntese protéica nos músculos cardíaco e esquelético de porcos recém-nascidos, aumentando a disponibilidade do fator de iniciação eucariótica (eIF4B), proteína que participa da síntese proteica.

Canedo *et al.* (2010) mostraram, em um experimento *in vitro*, que após a perfusão de leucina (10 mM) no coração de ratos adultos, ocorreu ativação da via p70S6K. Também foi avaliado, *in vivo*, que a injeção de leucina em ratos provoca um aumento de até quatro vezes da atividade da via p70S6k e mTOR cardíaca.

Estudos relacionados a condições de desuso muscular, em tratamentos com dexametasona e em situações de processos tumorais, condições estas que levam ao aumento da proteólise e diminuição da síntese proteica, demonstraram que a suplementação nutricional com leucina é eficaz na reversão de tais acometimentos (ELEY *et al.*, 2007; HAN *et al.*, 2007; KOBAYASHI *et al.*, 2006; VENTRUCCI *et al.*, (2001) e SHAH *et al.*, 2000).

Segundo Zanchi *et al.* (2009), atualmente a suplementação com leucina deixou de ser considerada apenas uma estratégia de oferta de aminoácidos essenciais ramificados e apresenta-se como uma promissora terapia anti-catabólica, inibindo a proteólise muscular. Tal possibilidade se deve aos potentes efeitos fisiofarmacológicos que a suplementação de leucina provoca nos sistemas de síntese e degradação proteica.

1.6 – CREATINAQUINASE E HIPERTIREOIDISMO

A creatina quinase (CK) é um dímero proteico composto de duas subunidades, B e M, separadas em três isoformas distintas: *CK-BB*, predominantemente cerebral, *CK-MB*, predominantemente miocárdica e *CK-MM*, que predomina no músculo esquelético (HORDER *et al.*, 1991). A determinação das concentrações séricas de CK é usada como um auxiliar para diagnóstico na distrofia muscular progressiva (EBASHI *et al.*, 1959) e variações de suas concentrações apresentam-se como um importante marcador clínico para lesão muscular muitas vezes presentes nas disfunções da tireóide (ROSALKI, 1970; MELTEZER, 1971).

Por sua vez, os hormônios tireoidianos modulam a síntese geral da fosfocreatina (PCr), aumentam a taxa de fosforilação oxidativa mitocondrial, regulam a atividade total da CK e a distribuição de suas isoenzimas (SEPPET *et al.* 1994).

Estudos mostraram que a administração crônica de grandes quantidades de hormônios tireoidianos parece provocar mudanças no perfil das isoformas de creatina quinase caracterizadas pela alteração das concentrações das isoenzimas *CK-BB* e *CK-MM*, como resultado da ação direta do hormônio (BIRK, 1989).

1.7 – JUSTIFICATIVA

A insuficiência cardíaca é uma complicação comum no hipertireoidismo que provoca diferentes adaptações no coração, de conformidade com o tempo de exposição ao hormônio. O presente estudo se justifica pelo possível efeito protetor da leucina sobre o miocárdio, conforme discutido acima. Isto poderia representar possíveis potenciais de intervenção em diferentes condições de dano cardíaco, no sentido de proteger o coração contra os efeitos lesivos desencadeados.

2 – OBJETIVOS

Analisar os efeitos da leucina na hipertrofia cardíaca, concentração de creatina quinase e na tolerância ao esforço, em ratos Wistar, na presença de excesso de hormônio tireoidiano.

2.1 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar, neste modelo, a ação da leucina:

- no peso do coração, peso do ventrículo esquerdo e diâmetro transversal dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo;
- nas concentrações de TSH, T3 e T4 sanguíneas de ratos Wistar aos quais o hormônio tireoidiano foi administrado;
- nas concentrações de CK-NAC (creatinaquinase total) e sua fração MB;
- na tolerância ao esforço;
- na pressão arterial sistólica e frequência cardíaca.

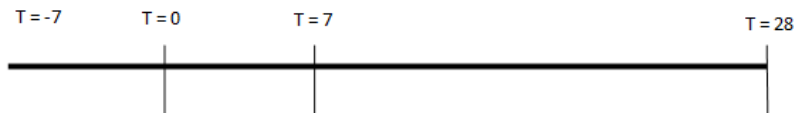
3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – ANIMAIS

O experimento foi realizado no Laboratório de Medicina Experimental da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Foram utilizados no estudo 75 ratos, da linhagem Wistar, machos, provenientes do laboratório de práticas cirúrgicas da UFU.

O experimento teve duração total de trinta e cinco dias, sendo sete dias de adaptação e 28 dias de experimento. Durante o período experimental, as condições ambientais do laboratório foram semelhantes, no que se refere à temperatura, nível de ruído e luminosidade, com fotoperíodos de 12 horas de ciclo claro e escuro.

3.2 – DESENHO ESQUEMÁTICO DO PROTOCOLO EXPERIMENTAL



T = - 7 (dias): Período de adaptação dos animais ao ambiente do laboratório.

T = 0: Pesagem, coleta do sangue e eutanásia dos animais dos grupos C0-7 e C0-28. Início do protocolo experimental dos demais grupos.

T = 7 (dias): Pesagem, coleta do sangue e eutanásia dos animais dos grupos C-7, H-7, L-7 e HL-7.

T = 28 (dias): Final do protocolo experimental. Pesagem, coleta do sangue e eutanásia dos animais dos grupos C-28, H-28, L-28 e HL-28.

3.3 – PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA-UFU), conforme o parecer nº193/11.

Os 75 animais foram divididos em dois grandes grupos: grupo 7D, composto por 25 animais com oito semanas de vida que foram submetidos ao protocolo experimental por 7 dias e grupo 28D, composto por 50 animais, com 10 semanas de vida que foram submetidos ao protocolo experimental por 28 dias.

Os 25 animais do grupo 7D foram subdivididos, aleatoriamente, em cinco grupos, conforme tabela 1.

Tabela 1 – Divisão dos animais no grupo 7D e subgrupos.

Grupo	GRUPO 7D				
	C0-7	C-7	H-7	HL-7	L-7
Sub Grupo					
Idade	8 semanas	8 semanas	8 semanas	8 semanas	8 semanas
N ^o	5 animais	5 animais	5 animais	5 animais	5 animais
Suplementação	-	-	-	Leucina	Leucina
Hormônio	-	-	Tiroxina	Tiroxina	-

Grupo 7D. *Idade dos animais; Número de animais por subgrupo; Suplementação com leucina para os grupos de estudo; Hormônio, Tiroxina para grupos em hipertireoidismo experimental.*

Os grupos ficaram assim constituídos:

Grupo controle (C0-7), composto por cinco animais com acesso livre à ração comercial RHOSTER®, de acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G).

Grupo controle (C-7), composto por cinco animais com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G).

Grupo hormônio (H-7), composto por cinco animais em hipertireoidismo experimental e com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G).

Grupo leucina (L-7), composto por cinco animais com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G) suplementada com leucina 5%.

Grupo hormônio e leucina (HL-7), composto por cinco animais em hipertireoidismo experimental com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G), suplementada com leucina 5%.

Os 50 animais do grupo 28D foram subdivididos aleatoriamente em cinco grupos e mantidos separados, conforme a tabela 2.

Tabela 2 – Divisão dos animais no grupo 28D e subgrupos.

Grupo	GRUPO 28D				
Sub Grupo	C0-28	C-28	H-28	HL-28	L-28
Idade	10 semanas	10 semanas	10 semanas	10 semanas	10 semanas
Nº	10 animais	10 animais	10 animais	10 animais	10 animais
Suplementação	-	-	-	Leucina	Leucina
Hormônio	-	-	Tiroxina	Tiroxina	-

Grupo 28D. *Idade dos animais; Número de animais por subgrupo; Suplementação, Leucina para grupos suplementados; Hormônio, Tiroxina para grupos em hipertireoidismo experimental.*

Grupo controle (C0-28), composto por 10 animais com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G).

Grupo controle (C-28), composto por 10 animais com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G).

Grupo hormônio (H-28), composto por 10 animais em hipertireoidismo experimental e com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G).

Grupo leucina (L-28), composto por 10 animais com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G), suplementada com leucina 5%.

Grupo hormônio e leucina (HL-28), composto por 10 animais em hipertireoidismo experimental com acesso livre à ração comercial RHOSTER® (AIN-93G), suplementada com leucina 5%.

Todos os animais tiveram acesso livre à água.

A média e desvio padrão referentes ao peso corporal total inicial e peso corporal total final do Grupo 7D estão dispostos na tabela 3.

Tabela 3 – Peso Corporal Total Grupo 7D.

Grupos	N	Peso corporal (dia 0), g	Peso corporal (final), g
C0-7	5	323,2 ± 22,3	
C-7	5	326,2 ± 15,8	348,2 ± 7,3
H-7	5	305,4 ± 23,6	318,8 ± 22,8*
L-7	5	312,0 ± 9,8	328,2 ± 10,4
HL-7	5	301,4 ± 9,5	318,4 ± 12,6*

*Valores expressos em média ± desvio padrão para, peso corporal inicial (dia 0) e peso corporal final (final); *P<0,05 em relação ao Grupo C-7.*

Os valores de média e desvio padrão referente ao peso corporal total inicial e peso corporal total final do Grupo 28D estão dispostos na tabela 4.

Tabela 4 – Peso Corporal Total Grupo 28D.

Grupos	N	Peso corporal (dia 0), g	Peso corporal (final), g
C0-28	10	371,2 ± 22,3	
C-28	10	360,8 ± 39,7	412,9 ± 28,8
H-28	10	389,8 ± 30,2	426,8 ± 33,4
L-28	10	379,0 ± 25,7	432,5 ± 35,1
HL-28	10	361,3 ± 34,8	414,4 ± 41,7

Valores expressos em média ± desvio padrão para, peso corporal inicial (dia 0) e peso corporal final (final).

3.4 – ADAPTAÇÃO AO POWERLAB

A adaptação dos animais ao PowerLab, para verificação da pressão arterial sistólica e frequência cardíaca, aconteceu durante uma semana, na qual os 50 animais do grupo 28D foram submetidos às condições da avaliação, ficando confinados no contêiner por um tempo de 10 minutos, por 3 dias consecutivos, conforme ilustrado na imagem 2.

3.5 – AFERIÇÕES DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA (PAS) E FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC)

A PAS e a FC foram aferidas, na última semana experimental, utilizando-se um esfigmomanômetro de cauda para ratos, conectado ao PowerLab 4/25T ADInstruments® e o software LabChart 7 ADInstruments®. Para o registro dessas variáveis, os ratos foram aquecidos em gaiolas individuais e colocados dentro de um contêiner, conforme imagens 2 e 7.

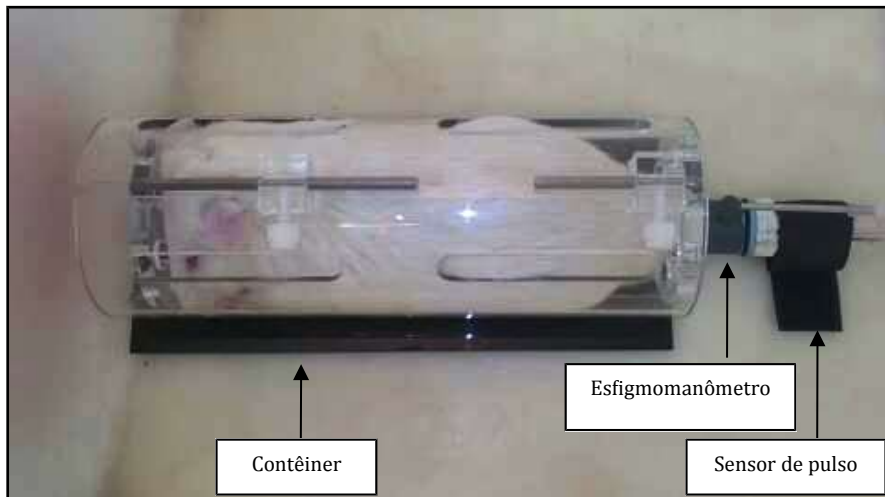


Imagem 2: Disposição do rato no contêiner e colocação do esfigmomanômetro de cauda para a aferição da PAS e da FC utilizando o PowerLab 4/25T.

Posteriormente, colocou-se o esfigmomanômetro na parte proximal da cauda do animal e um sensor de pulso distalmente situado. O manguito foi insuflado até que o fluxo sanguíneo da artéria caudal fosse ocluído. Ao ser desinsuflado, o primeiro pico de pulso detectado pelo sensor e visualizado no monitor foi utilizado como ponto para leitura da pressão arterial e frequência cardíaca, conforme demonstrado nas imagens de 3 a 6.

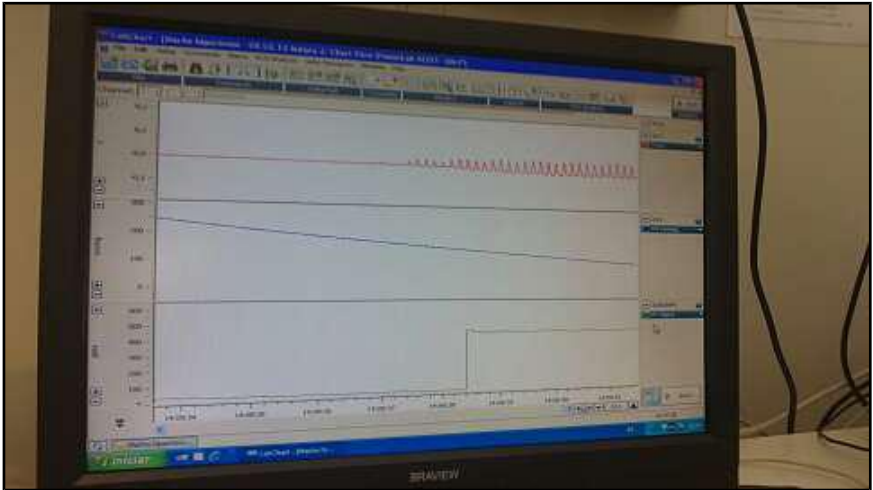


Imagem 3: Gráfico da pressão de pulso (parte superior), PAS enquanto o esfigmomanômetro é desinsuflado e FC (parte inferior) obtida utilizando-se o PowerLab 4/25T.

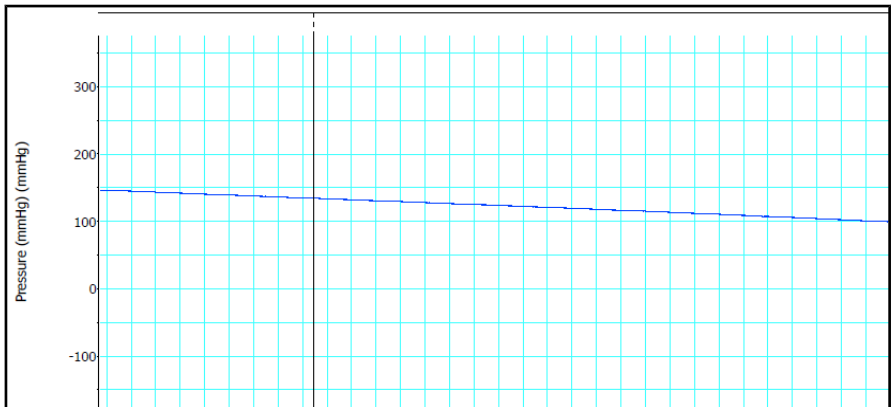


Imagem 4: Pressão arterial obtida em imagem através do esfigmomanômetro de cauda adaptado para ratos utilizando-se o PowerLab 4/25T.

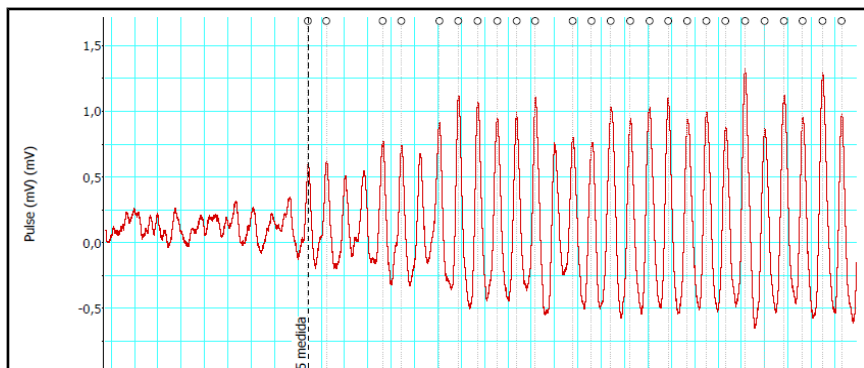


Imagem 5: Pressão de pulso obtida em imagem através do esfigmomanômetro de cauda adaptado para ratos utilizando-se o PowerLab 4/25T.

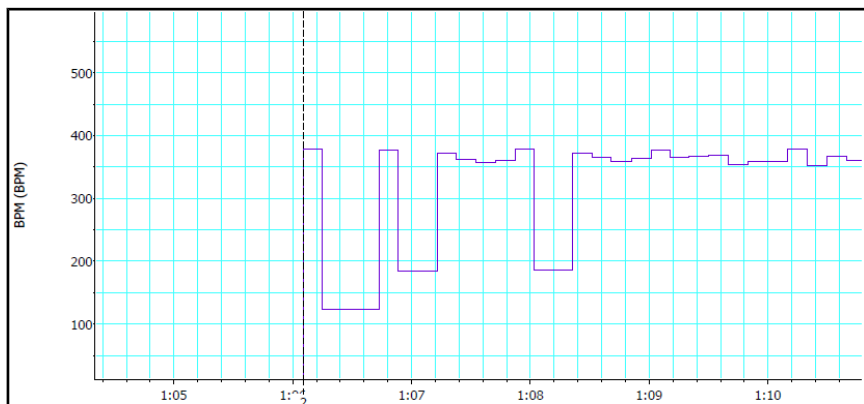


Imagem 6: Frequência cardíaca obtida em imagem através do esfigmomanômetro de cauda adaptado para ratos utilizando-se o PowerLab 4/25T.

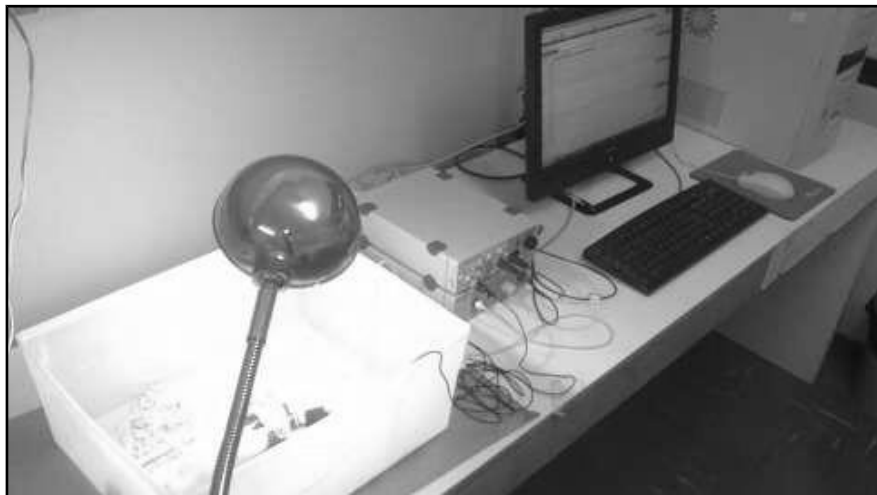


Imagem 7: Disposição do equipamento no momento da coleta de dados.

Para registro da PAS e da FC, foram realizadas cinco medidas consecutivas, considerando-se a média dos valores obtidos como a pressão aferida. Estes procedimentos foram realizados ao final do protocolo experimental, em todos os animais do grupo 28D.

3.6 – INDUÇÃO DO HIPERTIREOIDISMO

Todos os animais dos grupos H-7, HL-7, H-28 e HL-28 receberam, durante o período experimental, por meio de gavagem, a dose diária de 20 μ g/100 gramas de peso corporal, diluída em suspensão aquosa, administrando-se o volume de 2ml/kg de peso, de T4 a 0,01%. A solução foi obtida a partir de 10 comprimidos de 100 μ g de T4 (levotiroxina sódica) diluídos em 10ml de água destilada (ENGELMAN *et al.* 2001; FERNANDES *et al.* 2007). Todos os animais dos demais grupos passaram pelo mesmo procedimento, diariamente, porém recebendo apenas a mesma quantidade de solução salina no lugar da solução de hormônio.

3.7 – TESTE DE ESFORÇO

O teste de esforço (natação) foi realizado por todos os ratos do grupo 28D, no último dia da semana de adaptação, e repetido a cada 7 dias, até o fim do experimento, totalizando-se 5 testes. A intensidade do teste utilizando-se peso adicional, foi fixada em 7,0% do peso corporal do rato que, segundo PRADA (2004), corresponde a uma intensidade supra limiar de lactato. Essa carga foi presa à cauda do animal e este foi colocado em um tanque individual com água no qual nadava até a exaustão, conforme a imagem 8.



Imagem 8: *Teste de esforço.*

3.8 – EUTANÁSIA DOS ANIMAIS E COLETA DE SANGUE

Ao final de 7 dias, todos os animais do grupo 7D, e ao final de 28 dias, todos os animais do grupo 28D, foram pesados em balança Marte® AS 500, anestesiados com uma dose de 0,1 ml/100g de Cetamina a 10% associado à Xilasina 2%, 0,1 ml/100g, para a coleta de sangue através de punção cardíaca. Posteriormente, os animais foram submetidos à eutanásia.

3.9 – ANÁLISES LABORATORIAIS

Após a punção cardíaca, as amostras de sangue foram colocadas em tubos de ensaio VACUETTE® com gel separador, e levadas ao laboratório clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia para análises.

Para a quantificação da CK-NAC e CK-MB foram utilizados kit CK-NAC e CK-MB Liquiform 60 ml, da marca LABTEST®. Para determinação do T3, T4 e TSH foram utilizados os kits da marca INTERKIT® e a análise foi feita através do método de imunoabsorção ligado à enzima (ELISA).

3.10 – PESO DO CORAÇÃO

O coração foi removido, realizando-se a abertura anterior do tórax do animal, sendo, a seguir, lavado em água destilada e, posteriormente, armazenado em formol a 10%.

Após 72 horas em formol, foi separado o ventrículo esquerdo associado ao septo interventricular, e pesado em balança de precisão da marca Marte®, AY220. O peso relativo do coração foi determinado dividindo-se o peso absoluto do coração em miligramas (mg) pelo peso corporal total do animal obtido no dia da eutanásia, e o resultado foi expresso em gramas (g).

3.11 – PREPARAÇÃO HISTOLÓGICA

A preparação histológica foi feita incluindo-se o material em parafina, o bloco foi cortado em micrótomo com espessura de 5 micra, sendo dois cortes colocados em cada lâmina. Posteriormente, procedeu-se à hidratação (desparafinização) dos cortes e as lâminas foram coradas com hematoxilina de Harris e eosina/floxina, sendo o material desidratado (diafanização) no final.

3.12 –ANÁLISES MICROSCÓPICAS DA FIBRA MUSCULAR CARDÍACA.

Foram obtidos cinco cortes de cada ventrículo e medidos, em cada corte, os menores diâmetros de cinco células cortadas perpendicularmente e identificadas em cinco campos microscópicos diferentes. As medidas foram feitas em condições que não permitiam a identificação prévia a qual grupo o corte pertencia.

A medida dos diâmetros das células foi realizada em imagens digitalizadas capturadas a partir de microscópio binocular Olympus BX40, com objetiva de 40x, acoplado à câmera Olympus OLY-200 ligada a um computador através de placa digitalizadora Data Translation 3153. As mensurações foram realizadas utilizando-se o software HL Image (Western Vision), conforme ilustrado na imagem 9.

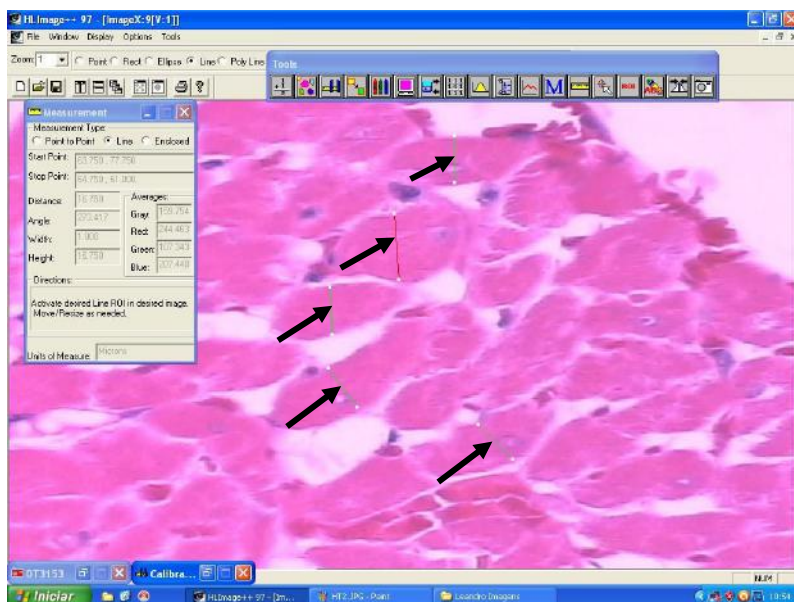


Imagem 9: Medida do diâmetro transversal dos cardiomiócitos dos ratos utilizando o software HL Image (Western Vision)

4 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados experimentais foram expressos em média \pm desvio padrão. As comparações entre os grupos foram realizadas por análise de variância (ANOVA) de duas vias, complementada pelo teste de Tukey, se necessário. O nível de significância foi estabelecido para valores de $p < 0,05$.

5 – RESULTADOS

Na tabela 5 e gráficos 1, 2 e 3, observam-se os valores de média e desvios padrão relativos ao peso absoluto do coração, peso relativo do coração e peso do ventrículo esquerdo no Grupo 7D.

Tabela 5 - Peso do coração e do ventrículo esquerdo em gramas no Grupo 7D.

Grupos	N	Peso absoluto do coração, g	Peso relativo do coração, mg/g	Peso ventricular esquerdo, g
C0-7	5	1,31 \pm 0,10	4,10 \pm 0,55	0,73 \pm 0,07
C-7	5	1,20 \pm 0,10	3,73 \pm 0,28	0,63 \pm 0,05
H-7	5	1,46 \pm 0,08*	4,66 \pm 0,56*	0,77 \pm 0,07*
HL-7	5	1,26 \pm 0,11†	3,95 \pm 0,22	0,61 \pm 0,03†
L-7	5	1,25 \pm 0,10†	3,82 \pm 0,36†	0,66 \pm 0,06‡

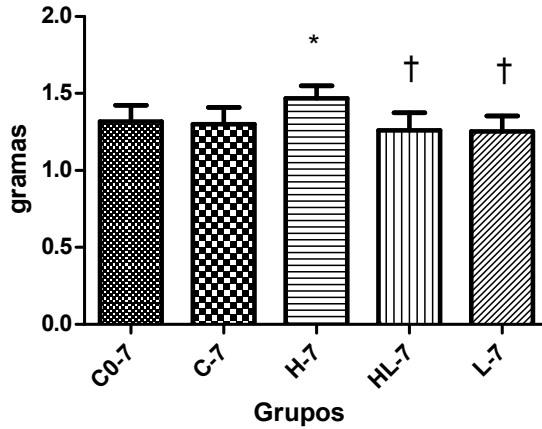
Valores expressos em média \pm desvio padrão para: peso absoluto do coração, peso relativo do coração e peso do ventrículo esquerdo; * $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7, † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7 e ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-7.

Houve diferença estatisticamente significativa no peso absoluto do coração quando se comparou o grupo H-7 aos grupos C-7 (18,13%) e HL-7 (14,11%) com o maior peso absoluto encontrado no grupo H-7 nas duas situações. Quanto ao peso relativo do coração, houve diferença estatisticamente significativa ao comparar-se o grupo H-7 ao grupo C-7 (19,43%), com o maior peso relativo presente no grupo H-7.

Houve diferença estatisticamente significativa para o peso do ventrículo esquerdo, na comparação entre o H-7 e os grupos C-7

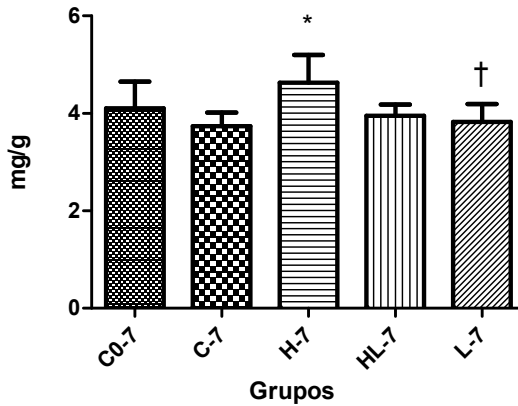
(18,4%) e HL-7 (20,23%), com o grupo H-7 apresentando o maior peso do ventrículo.

Gráfico 1 – Peso absoluto do coração Grupo 7D em gramas.



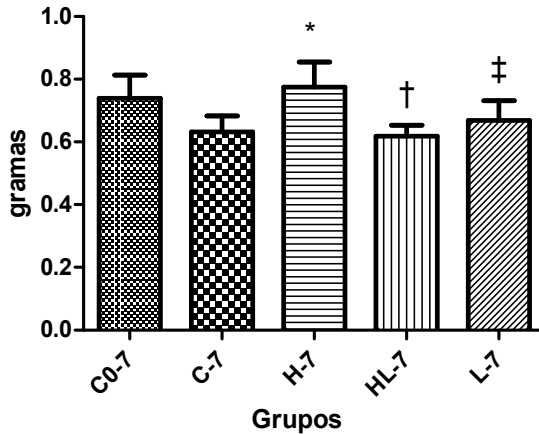
* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7 e † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7.

Gráfico 2 – Peso relativo do coração Grupo 7D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7 e † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7.

Gráfico 3 – Peso do ventrículo esquerdo Grupo 7D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7, † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7 e ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-7.

Na tabela 6 e gráficos 4, 5 e 6, estão apresentados os valores de média e desvios padrão relativos ao peso absoluto do coração, peso relativo do coração e peso do ventrículo esquerdo no Grupo 28D.

Tabela 6 – Peso do coração e do ventrículo esquerdo Grupo 28D.

Grupos	N	Peso absoluto do coração, g	Peso relativo do coração, mg/g	Peso ventricular esquerdo, g
C0-28	10	1,21 ± 0,09	3,46 ± 0,20	0,80 ± 0,05
C-28	10	1,46 ± 0,06‡	3,56 ± 0,22	0,89 ± 0,05‡
H-28	10	1,66 ± 0,14‡*	3,90 ± 0,33‡	0,99 ± 0,08‡*
HL-28	10	1,51 ± 0,12‡†	3,70 ± 0,26	0,92 ± 0,06‡
L-28	10	1,44 ± 0,10‡†	3,36 ± 0,31†	0,91 ± 0,10‡

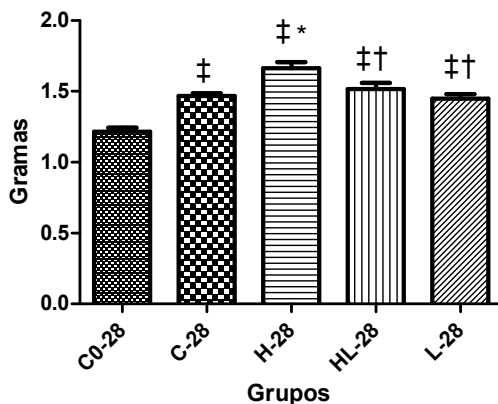
Valores expressos em média ± desvio padrão para peso absoluto do coração, peso relativo do coração e peso do ventrículo esquerdo; * $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28, † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28 e ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-28.

Houve diferença estatisticamente significativa para o peso absoluto do coração ao comparar-se o grupo H-28 aos grupos C0-28 (26,89%), C-28 (11,73%), HL-28 (8,72%) e L-28 (12,81%), com o grupo H-28 apresentando o maior peso absoluto; diferença significativa

também foi encontrada ao comparar-se o grupo C0-28 aos demais grupos, C-28 (20,7%), HL-28 (19,90%) e L-28 (16,14%), com o menor peso absoluto apresentado por C0-28. Quanto ao peso relativo do coração, houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou o grupo H-28 aos grupos C0-28 (11,28%) e grupo L-28 (13,84%), com o maior peso apresentado pelo grupo H-28.

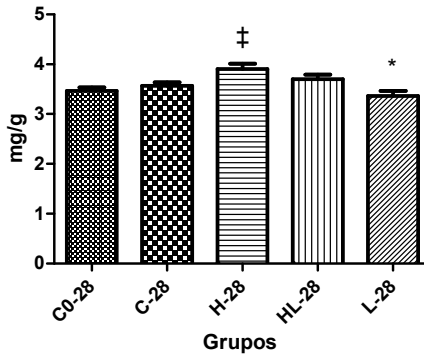
Houve diferença significativa para o peso do ventrículo esquerdo na comparação do grupo H-28 com o grupo C-28 (10,15%), com o maior peso do ventrículo apresentado pelo grupo H-28, e na comparação do grupo C0-28 aos demais grupos C-28 (9,61%), H-28 (18,79%), HL-28 (12,55%) e L-28 (11,69%), com o menor peso do ventrículo apresentado pelo grupo C0-28 em todas as situações.

Gráfico 4 – Peso absoluto do coração em gramas no Grupo 28D



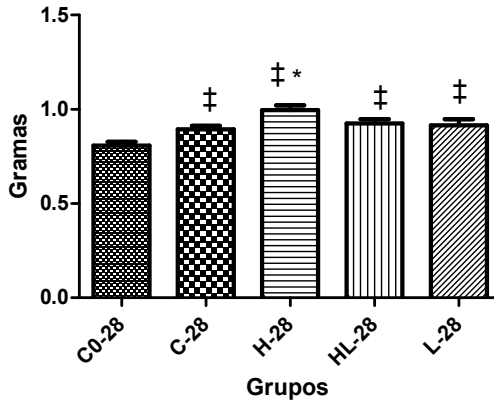
* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28, † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28 e ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-28.

Gráfico 5 – Peso relativo do coração Grupo 28D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28, † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28 e ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-28.

Gráfico 6 – Peso do ventrículo esquerdo em gramas Grupo 28D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28, † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28 e ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-28.

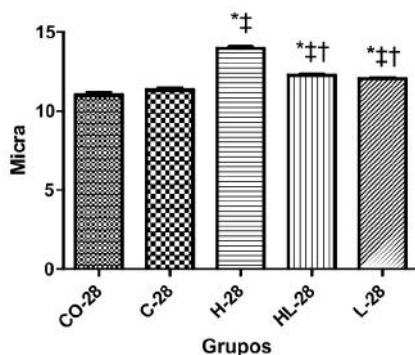
A tabela 7 e o gráfico 7 apresentam os valores das médias e desvios padrão referentes ao diâmetro transversal dos cardiomiócitos dos animais do grupo 28D.

Tabela 7 - Diâmetro transversal dos cardiomiócitos Grupo 28D.

Grupos	N	Diâmetro transversal dos cardiomiócitos em micra
C0-28	10	11005 ± 507
C-28	10	11327 ± 195
H-28	10	13963 ± 147 *‡
HL-28	10	12269 ± 179 *‡†
L-28	10	12033 ± 85 *‡†

Valores expressos em média ± desvio padrão para o diâmetro transversal dos cardiomiócitos; * $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28; † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28 e ‡ $p < 0,05$, em relação ao Grupo C0-28.

Houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou o grupo H-28 aos demais grupos: C0-28 (21,18%), C-28 (18,87%), HL-28 (12,13%) e L-28 (13,82%), com o maior diâmetro transversal apresentado por H-28 em todas as situações. Também encontrou-se diferenças significantes ao se comparar o grupo HL-28 aos grupos C0-28 (10,30%) e C-28 (7,67%), e ao comparar-se o grupo L-28 aos grupos C0-28 (8,16%) e C-28 (8,13%), com os maiores diâmetros celulares encontrados nos grupos HL-28 e L-28.

Gráfico 7 – Diâmetro transversal dos cardiomiócitos, Grupo 28D.

* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28 e † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28, ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-28.

A tabela 8 e os gráficos 8, 9 e 10, apresentam os valores das médias e desvios padrão referentes às concentrações séricas de T3, T4 e TSH no grupo 7D.

Tabela 8 – Concentrações séricas de T3, T4 e TSH Grupo 7D.

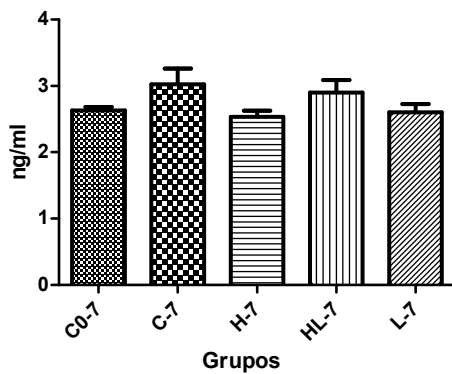
Grupos	N	T3 (ng/ml)	T4 (µg/dl)	TSH (ng/ml)
C0-7	5	2,63 ± 0,12	5,99 ± 0,95	
C-7	5	3,02 ± 0,52	6,52 ± 1,09	1,45 ± 0,35
H-7	5	2,53 ± 0,20	8,22 ± 1,09‡	0,39 ± 0,07*
HL-7	5	2,90 ± 0,42	10,63 ± 0,72‡†*	0,42 ± 0,08*
L-7	5	2,60 ± 0,28	7,88 ± 1,10‡§	1,36 ± 0,29‡§

Valores expressos em média ± desvio padrão para triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) e hormônio estimulador da tireoide (TSH); * $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7; † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7; ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-7 e § $p < 0,05$ em relação ao grupo HL-7.

Não houve diferenças estatisticamente significantes para a triiodotironina (T3) entre os grupos em nenhuma situação analisada. Houve diferença estatisticamente significativa para a tiroxina (T4), quando comparamos o grupo C0-7 aos grupos H-7 (27,19%), e HL-7 (43,67%), com as menores concentrações presentes em C0-7; também foram encontradas diferenças significantes ao comparar-se o grupo HL-7 aos grupos C-7 (38,63%), H-7 (22,62%) e L-7 (25,89%), com HL-7 apresentando a maior concentração de T4.

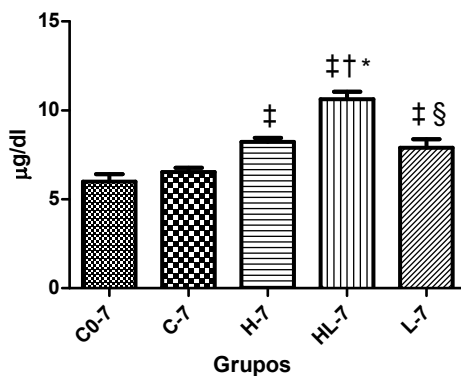
Houve diferenças significantes para o TSH quando se comparou o grupo C-7 aos grupos H-7 (73,79%) e HL-7 (71,03%), com as maiores concentrações presentes no grupo controle C-7. Ainda para o TSH, houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou os grupos L-7 aos grupos H-7 (71,32%) e HL-7 (69,11%), com as maiores concentrações em L-7 nas duas situações.

Gráfico 8 – Concentrações de T3 no Grupo 7D.



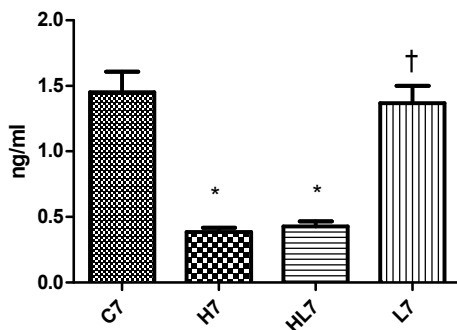
* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7, $\dagger p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7 e $\ddagger p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-7.

Gráfico 9 – Concentrações de T4 no Grupo 7D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7, $\dagger p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7 e $\ddagger p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-7.

Gráfico 10 – Concentrações de TSH no Grupo 7D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7, † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7 e ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-7.

A tabela 9 e os gráficos 11 e 12, apresentam os valores das médias e desvio padrão referentes às concentrações séricas de CK-NAC e CK-MB para o grupo 7D.

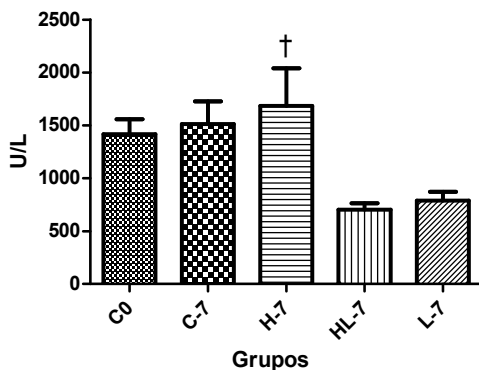
Tabela 9 – Concentrações séricas de CK-NAC e CK-MB, Grupo 7D.

Grupos	N	CK-NAC (U/L)	CK-MB (U/L)
C0-7	5	1415 ± 319	996 ± 182
C-7	5	1510 ± 482	1005 ± 314
H-7	5	1682 ± 796	934 ± 363
HL-7	5	704 ± 133 †	533 ± 43*‡
L-7	5	788 ± 180	538 ± 112*‡

Valores expressos em média ± desvio padrão para creatina quinase (CK-NAC) e creatina quinase fração MB (CK-MB); * $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7; † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7; ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-7 e § $p < 0,05$ em relação ao grupo HL-7.

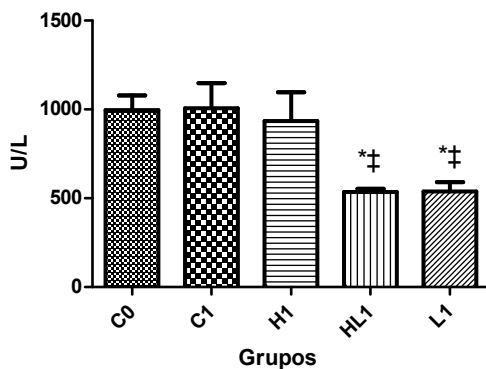
Para a CK-NAC, houve diferenças significantes quando se comparou o grupo H-7 com o grupo HL-7 (53,4%), com H-7 apresentando as maiores concentrações. Houve diferença para a CK-MB quando se comparou o grupo C0-7 aos grupos HL-7 (43,38%) e L-7 (42,33%), com as maiores concentrações em C0-7 nas duas situações. Também houve diferença significativa quando se comparou o grupo C-7 aos grupos HL-7 (46,90%) e L-7 (46,43%), com C-7 apresentando as maiores concentrações.

Gráfico 11 – Concentrações de CK-NAC no Grupo 7D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-7.

Gráfico 12 – Concentrações de CK-MB no Grupo 7D.



$\dagger p < 0,05$ em relação ao Grupo H-7 e $\ddagger p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-7.

A tabela 10 e os gráficos de 13 a 16 apresentam os valores das médias e desvios padrão referentes às concentrações séricas de T3, T4, CK-NAC e CK-MB no grupo 28D.

Tabela 10 - Concentrações séricas de T3, T4, CK-NAC e CK-MB, Grupo 28D.

Grupos	N	T3 (ng/ml)	T4 ($\mu\text{g/dl}$)	CK-NAC (U/L)	CK-MB (U/L)
C0-28	10			1657 \pm 748	1484 \pm 384
C-28	10	1,98 \pm 0,47	4,76 \pm 0,83	1413 \pm 482	1150 \pm 518
H-28	10	2,29 \pm 0,87	12,56 \pm 3,45 *‡	2020 \pm 1122	1957 \pm 562*
HL-28	10	2,31 \pm 0,59	12,46 \pm 2,32*‡	1755 \pm 1650	1208 \pm 314†
L-28	10	2,06 \pm 0,53	5,09 \pm 1,19	1332 \pm 746	1126 \pm 588†

Valores expressos em média \pm desvio padrão para triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), creatina quinase fração NAC (CK-NAC) e creatina quinase fração MB (CK-MB); * $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28; † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28 e ‡ $p < 0,05$ em relação ao Grupo C0-28.

Não houve diferença estatisticamente significativa para as concentrações de triiodotironina (T3), entre os grupos em nenhuma das situações analisadas. Para a tiroxina (T4), houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou o grupo C-28 aos grupos H-28 (62,10%), e HL-28 (61,79%), com as menores concentrações em C-28 nas duas situações.

Para a CK-NAC, não houve diferença significativa em nenhuma das situações analisadas. Encontrou-se diferença significativa para a CK-MB ao comparar-se o grupo H-28 aos grupos C-28 (41,23%), HL-28 (38,28%) e L-28 (42,47%), com as maiores concentrações encontradas em H-28.

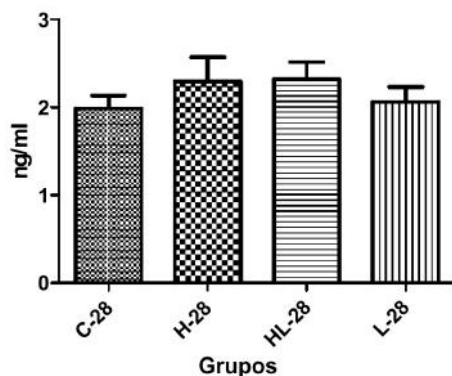
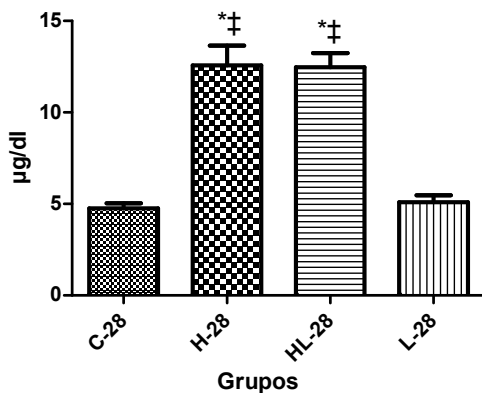
Gráfico 13 – Concentrações de T3 no Grupo 28D.

Gráfico 14 – Concentrações de T4 no Grupo 28D.

* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28 e † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28.

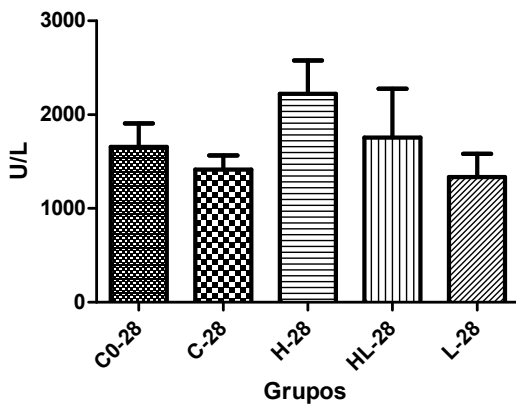
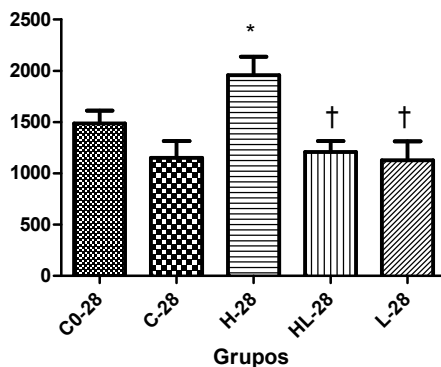
Gráfico 15 – Concentrações de CK-NAC no Grupo 28D.

Gráfico 16 – Concentrações de CK-MB no Grupo 28D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28 e † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28.

A tabela 11 e os gráficos de 17 a 21 apresentam tempos referentes aos testes de esforço realizados pelo grupo 28D.

Tabela 11 – Teste de Esforço Grupo 28D.

Grupos	N	T0 (seg)	T7(seg)	T14(seg)	T21(seg)	T28(seg)
C-28	10	112 ± 23	108 ± 27	110 ± 16	123 ± 40	152 ± 39
H-28	10	106 ± 26	142 ± 60	207 ± 40*	216 ± 112*	146 ± 35
HL-28	10	96 ± 22	150 ± 35	155 ± 44†	188 ± 81	231 ± 91+*
L-28	10	113 ± 26	102 ± 34	134 ± 39†	159 ± 29	168 ± 56

Valores expressos em média ± desvio padrão dos tempos no teste de esforço inicial (T0), teste de esforço 7 dias (T7), teste de esforço 14 dias (T14), teste de esforço 21 dias (T21) e teste de esforço 28 dias (T28); * $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28 e † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28.

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos no teste inicial (T0) e nem no teste realizado no sétimo dia do experimento (T7) em nenhuma das situações analisadas.

No terceiro teste, realizado no décimo quarto dia do experimento (T14), houve diferenças estatisticamente significantes quando comparamos o grupo H-28 aos grupos C-28 (46,65%), HL-28 (25,30%) e L-28 (35,54%), com os maiores tempos apresentados pelo grupo H-28 nas três situações analisadas.

Houve diferença significativa no quarto teste de esforço (T21), realizado com vinte e um dias de experimento, quando comparamos o grupo H-28 ao grupo C-28 (42,71%), com o maior tempo de natação apresentado pelo grupo H-28.

No último teste (T28) realizado no vigésimo oitavo dia, houve diferenças estatisticamente significantes quando ao comparou-se o grupo HL-28 aos grupos C-28 (28,64%) e H-28 (36,91%), com os maiores tempos de natação apresentados pelo grupo HL-28 nas duas situações.

Gráfico 17 – Teste de esforço inicial (dia 0) no Grupo 28D.

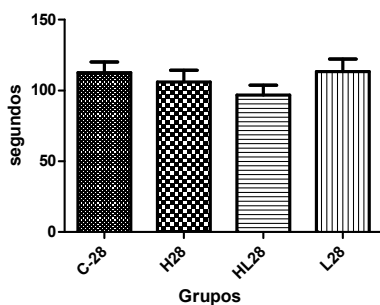


Gráfico 18 – Teste de esforço sétimo dia de experimento no Grupo 28D.

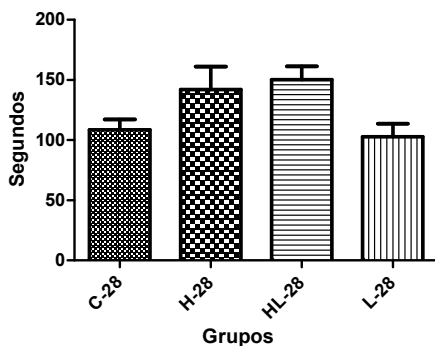
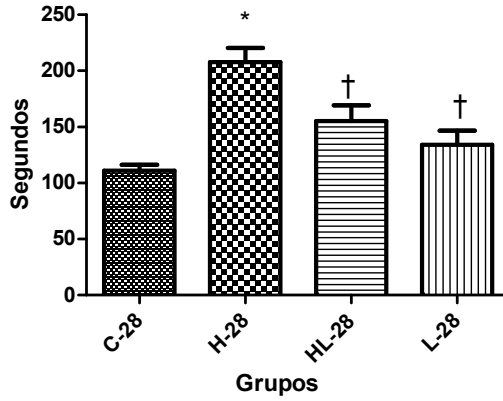
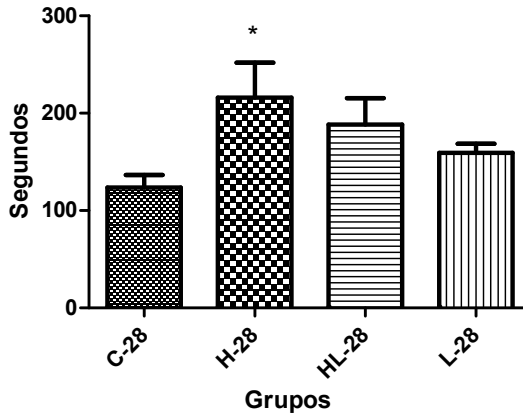


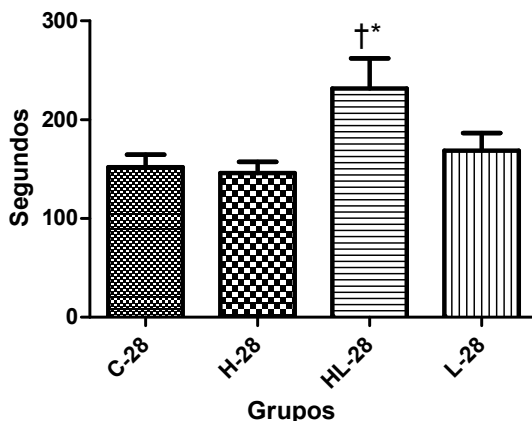
Gráfico 19 – Teste de esforço décimo quarto dia de experimento, no Grupo 28D.

* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28 e † $p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28.

Gráfico 20 – Teste de esforço vigésimo primeiro dia de experimento, no Grupo 28D.

* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28.

Gráfico 21 – Teste de esforço último dia do experimento, no Grupo 28D.



* $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28 e $†p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28.

A tabela 12 e os gráficos 22 e 23 apresentam os valores das médias e desvios padrão referentes à frequência cardíaca e pressão arterial sistólica dos animais do grupo 28D.

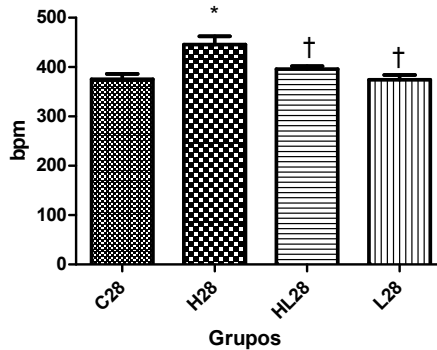
Tabela 12 - Frequência cardíaca e pressão arterial no Grupo 28D.

Grupos	N	Frequência cardíaca, bpm	Pressão arterial, mm/Hg
C-28	10	375 ± 34	114 ± 80
H-28	10	445 ± 53*	115 ± 80
HL-28	10	395 ± 19†	110 ± 130
L-28	10	374 ± 29†	112 ± 90

Valores expressos em média ± desvio padrão para peso absoluto do coração, peso relativo do coração e peso do ventrículo esquerdo; * $p < 0,05$ em relação ao Grupo C-28 e $†p < 0,05$ em relação ao Grupo H-28.

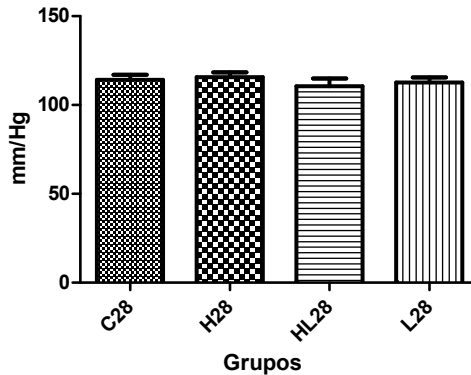
Para a frequência cardíaca, houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou o grupo H-28 aos grupos C-28 (15,83%), HL-28 (11,20%) e L-28 (15,92%) com os maiores valores apresentados por H-28. Não houve diferenças estatisticamente significativas para a pressão arterial sistólica em nenhuma das situações analisadas.

Gráfico 22 – Frequência cardíaca, Grupo 28D.



* $P < 0,05$ em relação ao Grupo C-28 e † $P < 0,05$ em relação ao Grupo H-28.

Gráfico 23 – Pressão arterial sistólica, Grupo 28D.



6 – DISCUSSÃO

6.1 – HIPERTROFIA CARDÍACA

Nos modelos de hipertireoidismo em ratos Wistar para reproduzir a cardiopatia observada nestas condições e investigar os mecanismos de hipertrofia mediada pelo hormônio tireoideano, os estudos encontraram um aumento do peso do coração e uma hiper-

trofia ventricular, tanto esquerda quanto direita (VAN LIERE *et al.* 1969; GERDES *et al.* 1987).

No presente estudo, o peso absoluto do coração nos grupos em hipertireoidismo experimental, H-7 e H-28, apresentaram valores significativamente maiores quando comparados aos seus respectivos grupos controles, C-7 (18,13%) e C-28 (11,73%). Quanto ao peso do ventrículo esquerdo, os grupos H-7 e H-28 também apresentaram valores significativamente maior que os grupos, C-7 (18,4%) e C-28 (10,15%), sugerindo que o modelo experimental de hipertireoidismo aplicado tanto por um período de 7 dias quanto de 28 dias promoveu a hipertrofia cardíaca com aumento do peso do coração e do ventrículo esquerdo dos ratos.

Hu e cols (2003), encontraram resultados semelhantes aos do presente estudo, após 7 dias de exposição dos animais a uma dose de 100µg/100g/dia de T4. Nestas condições, os ratos em hipertireoidismo experimental apresentaram um peso absoluto do coração e do ventrículo esquerdo 15% maior, quando comparados ao grupo controle, em acordo, portanto, com os nossos achados.

O peso relativo do coração mostrou-se 19,43% maior no grupo H-7 que o grupo controle C-7. Estudos utilizando calorimetria indireta demonstraram que o gasto energético de pacientes com hipertireoidismo encontra-se significativamente elevado e que a demanda calórica extra, é suprida principalmente pela maior oxidação de lipídios, podendo provocar adaptações morfológicas e reduzir o peso corporal (NORRELUND *et al.*, 1999).

Também foram observadas no presente estudo, mudanças no diâmetro transversal dos cardiomiócitos. Valores significativamente maiores foram encontrados no grupo em hipertireoidismo experimental H-28 quando comparado ao seu controle C-28 (18,87%), evidenciando que o modelo utilizado por 28 dias modificou o padrão de metabolismo proteico das células musculares.

Quanto aos efeitos do hormônio tireoideano no tecido cardíaco, é preciso considerar que as proteínas cardíacas responsivas ao

hormônio estão presentes nos miócitos, os quais constituem um terço do número total de células do miocárdio e são responsáveis por 75% do volume muscular total. Estas células também contém a maior parte das proteínas cardíacas e do ácido ribonucleico existentes no coração. (OPPENHEIMER *et al.*, 1987).

Observou-se também aumento no diâmetro transversal dos cardiomiócitos nos grupos L-28 e HL-28, quando comparados ao grupo controle C-28. Estudos (ESCOBAR *et al.*, 2005; CANEDO *et al.*, 2010) sugerem que a leucina atua como um sinal nutricional para estimular a síntese proteica no músculo cardíaco, aumentando a disponibilidade do fator de iniciação eucariótica (eIF4B) e ativando a via p70S6K e mTOR cardíaca.

Um achado importante do presente estudo é a relação da leucina com a hipertrofia cardíaca induzida pelo hipertireoidismo. Encontramos um peso absoluto do coração significativamente maior em H-7 e H-28 quando comparados respectivamente a HL-7 (14,11%), e HL-28 (8,72%); também, o peso do ventrículo esquerdo foi 20% maior no grupo H-7 quando comparado ao grupo HL-7 e o diâmetro transversal dos cardiomiócitos no grupo H-28 foi significativamente maior quando comparado ao HL-28 (12,13%). Estes resultados indicam uma ação da leucina como inibidor da hipertrofia cardíaca induzida pelo hormônio. As implicações clínicas deste fato, aqui descrito pela primeira vez, são, no entanto, desconhecidas.

Possivelmente, a leucina tenha ação inibitória na atividade da PI3-K induzida pela tiroxina (imagem 10), efeito este decorrente da ativação da mTOR, que inibe a sinalização da tiroxina por fosforilação do receptor hormonal. Entretanto, a leucina não apresenta nenhum efeito descrito na fosforilação da proteína quinase B (PKB ou Akt), envolvidas na via da tiroxina. Curiosamente, um efeito semelhante foi observado relacionando a leucina à ação da insulina (TREMBLAY *et al.*, 2005; TORRES-LEAL *et al.* 2010) mas, a relação eventual com o mecanismo da leucina são, no máximo, de natureza especulativa.

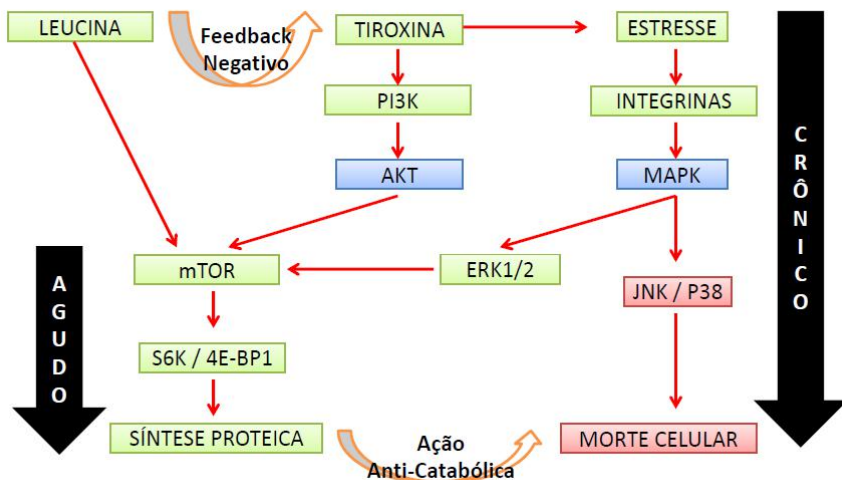


Imagem 10: Vias de sinalização intracelular e possível ação da leucina, (PI3K), fosfatidil-inositol 3 kinase; (PDK1), phosphoinositide-dependent protein kinase; (S6k), ribosomal protein S6 kinase; (4E-BP1), Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E-Binding Protein 1; (mTOR), mammalian target of rapamycin; (AKT-PI3K), Fosfatidil-inositol 3 quinase; (MAPK), proteína quinase ativado por mitógenos; (ERK 1/2), quinase reguladora de sinais extracelulares; Jun N-terminal kinase (JNK); (p38) mitogen-activated protein kinase (MAPK) family members.

6.2 – CREATINA QUINASE

A creatina quinase está presente no músculo esquelético, cardíaco e tecido cerebral, conforme descrito anteriormente, e o aumento de sua concentração sérica é um marcador de lesão celular. A CK-MB está confinada quase que exclusivamente no tecido cardíaco e concentrações elevadas deste biomarcador são de grande significado para diagnóstico de dano miocárdico (HORDER et al. 1991).

Observou-se no presente estudo que não houve mudanças estatisticamente significantes na concentração sérica da CK-NAC e de sua fração MB, comparando-se o grupo H-7 com o grupo C-7. Resultados semelhantes foram descritos por Prakash *et al.* (2007) em pacientes com hipertireoidismo clínico. Estes resultados parecem in-

dicar que no modelo experimental utilizado, o hormônio tireoidiano administrado por sete dias, não altera as concentrações da creatina quinase e de sua fração MB, provavelmente por não induzir danos teciduais expressivos.

As concentrações séricas de CK-MB foram significativamente maiores no grupo H-28 quando comparado ao grupo C-28 (41,23%), sugerindo que o hormônio tireoidiano administrado por 28 dias pode induzir danos teciduais expressivos no coração, elevando a concentração da creatina quinase, possivelmente por ativação da via de apoptose JNK/p38 (imagem-10), devido ao estresse cardíaco imposto pelo excesso do hormônio.

O hipertireoidismo leva ao aumento da permeabilidade passiva do sarcolema a creatina e, como resultado, ocorre desacoplamento do PCr mitocondrial. Como a taxa de utilização da energia no estado de repouso está aumentada, uma diminuição do PCr intracelular, aumenta a susceptibilidade do miocárdio à hipóxia e a possíveis danos dela decorrentes (SEPPET *et al.* 1994).

Outro achado importante se refere à concentração sérica da creatina quinase nos grupos suplementados com leucina. Observou-se que os valores de CK-NAC foram menores no grupo HL-7 quando comparados aos do grupo H-7 (53,4%). Quanto à CK-MB, observou-se que os grupos L-7 e HL-7 apresentaram concentrações séricas mais baixas do que o grupo H-7 (46,43% e 46,90%, respectivamente). Os grupos L-28 e HL-28, também apresentaram valores de CK-MB significativamente menores do que o grupo H-28 (42,47% e 38,28%, respectivamente), sugerindo uma ação moduladora da leucina. Esta ação pode estar ligada a efeitos anabólicos ou anti-catabólicos no metabolismo das proteínas (CANEDO *et al.* 2010; KOBAYASHI *et al.* 2006).

Escobar *et al.* (2005) estudaram os efeitos da leucina no miocárdio de porcos, e seus resultados mostraram que a infusão deste aminoácido atua como um sinal nutricional para estimular a síntese

proteica, podendo gerar respostas anabólicas e anti catabólicas no coração.

6.3 – TOLERÂNCIA AO ESFORÇO

Em um estudo clássico, Ramsey (1966) demonstrou que metade dos pacientes com hipertireoidismo, em um grupo de 54 voluntários, apresentou histórico de fraqueza muscular, apresentando, como sintomas, dificuldades para subir escadas ou levantar os braços acima da cabeça e, frequentemente, necessitavam de ajuda para realizar tarefas que anteriormente realizavam sozinhos.

O hormônio tireoidiano leva à maior contratilidade do miocárdio, aumento do fluxo sanguíneo e oferta de oxigênio (GONÇALVES *et al.*, 2006). Contudo, essa maior força de contração somente é garantida em elevações pequenas do hormônio, uma vez que o excesso provoca aumento da catálise de proteínas contráteis. Por sua vez, o paciente com hipertireoidismo, apresenta baixa tolerância ao esforço em razão da manutenção dos níveis de hormônios tireoidianos elevados por tempo prolongado, o que gera prejuízo na capacidade de trabalho do coração, no fluxo sanguíneo e na oferta de oxigênio. Esses efeitos são acentuados pela alta catálise de proteínas contráteis.

Observou-se, no presente estudo, que o grupo H-28 apresentou um aumento significativo no desempenho durante o teste de esforço, quando comparado ao grupo C-28, nadando um tempo 46,65% maior no T14 e 42,71% maior no T21, porém com queda de desempenho no T28, sugerindo que o hipertireoidismo aumentou a tolerância ao esforço, possivelmente por alterações fisiológicas e metabólicas, porém, cronicamente provocou a queda dessa tolerância, talvez devido à degradação das proteínas contráteis e déficit energético.

Argov *et al.* (1998) e Kaminsky *et al.* (1991) relacionam o hormônio da tireoide com a ação do músculo esquelético e com a regu-

lação da atividade enzimática no metabolismo aeróbio e anaeróbio da glicose, o qual influencia diretamente a atividade mitocondrial e o fornecimento de ATP para o músculo esquelético.

6.4 – FREQUÊNCIA CARDÍACA E PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

Quanto à influência da tiroxina na hemodinâmica, observa-se que, no hipertireoidismo, há aumento da pressão sistólica e diminuição da pressão diastólica com aumento na pressão de pulso. No entanto, a pressão arterial média não se altera. A elevação da pressão sistólica é explicada pelo incremento do fluxo sanguíneo provocado pelo aumento do débito cardíaco. A diminuição da pressão diastólica deve-se à vasodilatação periférica provocada pelo maior relaxamento da musculatura lisa das artérias (KLEIN et al., 1994).

Observamos, no presente estudo, que o modelo experimental de hipertireoidismo não causou mudanças na pressão arterial sistólica dos animais, porém, aumentou, de forma significativa, a frequência cardíaca dos animais do grupo H-28, quando comparados ao grupo controle C-28 (15,83%), possivelmente devido à maior demanda metabólica periférica em decorrência da presença dos hormônios tireoidianos.

O grupo HL-28 apresentou frequência cardíaca mais elevada do que o grupo controle C-28, porém sem diferença estatisticamente significativa. Possivelmente a leucina exerce alguma influência na hemodinâmica dos ratos, porém, essa relação é ainda desconhecida tendo em vista a quantidade de variáveis envolvidas na regulação da frequência cardíaca.

7 – CONCLUSÃO

Em ratos tratados com hormônio tireoidiano ocorre, hipertrofia cardíaca com aumento do peso do ventrículo esquerdo, aumento

da frequência cardíaca e elevação das concentrações séricas de CK-MB após 28 dias.

A associação de leucina ao hormônio parece modular a hipertrofia cardíaca induzida além de reduzir as concentrações séricas de CK-NAC e CK-MB por mecanismos ainda desconhecidos.

A tiroxina aumenta o desempenho da natação de ratos após uma terapia de 14 e 21 dias porém com queda de performance em 28 dias.

8 – REFERÊNCIAS

AMIDI, M. *et al.* Effect of the thyroid state on myocardial contractility and ventricular ejection rate in man. **Circulation Research**, Baltimore, v.38, p.229-239, 1968.

ANVERSA P, LOUD AV, VITALI-MAZZA L. Morphometry and autoradiography of early hypertrophic changes in the ventricular myocardium of adult rat. An electron microscopic study. **Lab Invest: a Journal of Technical Methods and Pathology**, Kansas, v.35, p. 475-83, 1976.

ANVERSA P. *et al.* Structural compensatory mechanism in rat heart in early spontaneous hypertension. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, Bethesda, v.246, n.6, p.H739-H746, 1984.

ARGOV, Z. *et al.* Effects of thyroid hormones on skeletal muscle bioenergetics. In vivo phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy study of humans and rats. **J Clin Invest**, Michigan, v.81, p.1695-701, 1988

BASEDOW K. A. VON. Exophthalmus durch Hypertrophie des Zellgewebes in der Augenhöhle. **Wochenschrift für die gesammte Heilkunde**, Berlin, v.6 p.197-204; 220-228, 1840.

BERTAGNOLLI, M. **Associação do estresse oxidativo cardíaco com vias de sinalização intracelulares relacionadas com a hipertrofia cardíaca fisiológica e patológica.** 2008. 187 f. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Instituto de ciências básicas da saúde, Programa de Pós-graduação em ciências biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2008.

BIRK, H. *et al.* Thyroxine-induced redistribution of creatine kinase isoenzymes in rat cardiomyocyte cultures. **Cel and Mol Life Sciences**, Verlag, v.45 n.6, p.591-594, 1989.

CANEDO, C. S. *et al.* Activation of the cardiac mTOR/p70S6k pathway by leucine requires PDK1 and correlates with PRAS40 phosphorylation. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, Bethesda, v.298, p.761-769, jan. 2010.

CINI, G. *et al.* Thyroid hormones and the cardiovascular system: pathophysiology and interventions. **Biomed Pharmacother**, Maryland Heights, v.63, n.10, p.742-53, Dec 2009.

CORVILAIN, B. *et al.* Stimulation by iodide of H₂O₂ generation in thyroid slices from several species. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, Bethesda, v.278, n.4, p. 692-9, Apr 2000.

DEBOSCH, B. *et al.* AKT2 regulates cardiac metabolism and cardiomyocyte survival. **J Biol Chem**, Maryland, v.281, n.43, p.32841-51. Oct 2006.

DILLMANN, W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. **Heart Fail Rev**, New York, v.15, n.2, p.125-132, Mar 2010.

EBASHI, S. *et al.* High Creatine Phosphokinase activity of sera of progressive muscular dystrophy patients. **Bioch J**. Tokyo, v. 46 p. 103, 1959.

ELEY, H. L.; RUSSELL, S. T.; TISDALE, M. J. Effect of branched-chain amino acids on muscle atrophy in cancer cachexia. **Biochemistry Journal**, Great Britain, v.407, n.1, p.113-20, 2007.

ENGELMAN, M. F. B. *et al.* Estudo Morfométrico do Fígado de Ratos Submetidos a Doses Supra-Fisiológicas de Tiroxina. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v.45, n.2, p.173-179, 2001.

ESCOBAR, J. *et al.* DAVIS, T.A. Regulation of cardiac and skeletal muscle protein synthesis by individual branched-chain amino acids in neonatal pigs. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, Bethesda, v.290, p.612–621, nov. 2005.

FERNANDES, M. L. M. P. *et al.* Efeitos da espironolactona sobre as alterações miocárdicas induzidas pelo hormônio tireoideano em ratos. **Arq Bras de Cardiol**, São Paulo, v.89 n.6, p. 398-402, 2007.

FERNANDES, R. O. **Hipertrofia cardíaca induzida pelo hipertireoidismo experimental: Papel do estado redox sobre proteínas envolvidas em vias de sinalização intracelular para crescimento, sobrevivência e morte celular.** 2010. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Fisiologia) – Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre, 2010.

FRANCHINI, K. G. Hipertrofia cardíaca: mecanismos moleculares. **Rev Bras Hipertens**, Rio de Janeiro, v.8, p.125-42, 2001.

GEMMILL, C. L. Cardiac hypertrophy in rats and mice given 3,3',5-triiodo-L-thyronine orally. **Am J Physiol**, Bethesda, v.195 p.385-390, 1958.

GERDES, A. M.; MOORE, J. A.; HINES, J. M. Regional changes in myocyte size and number in propranolol-treated hyperthyroid rats. **Lab Invest**, Kansas v.57, p.708-713, 1987.

GONÇALVES, A. *et al.* Influência dos Hormônios Tireoidianos sobre o Sistema Cardiovascular, Sistema Muscular e a Tolerância ao Esforço: uma Breve Revisão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v.87, n.3, Set. 2006.

GRAETTINGER, J. S. *et al.* A correlation of clinical and hemodynamic studies in patients with hyperthyroidism with and without congestive heart failure. **J Clin Invest**, Durham, v.38 p.1316-1327, 1959.

GRAVES, R. J. **Clinical Lectures London Medical and Surgical Journal**. v.7. p.516-517, 1835.

GROSSMAN W.; JONES D.; MCLAURIN L. P. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. **J Clin Invest**, Michigan, v.56 p.56-64, 1975.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12 ed. Rio de Janeiro, Elsevier; 2011. 725 p.

HAN, B. *et al.* Leucine supplementation mitigates atrophy of non-weight-bearing skeletal muscle in rats. **The FASEB Journal**, Bethesda, V.21, n.6, p.895-3, 2007.

HORDER, M.; ELSER, R. C.; GERHARDT, W. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes: Part 7. IFCC method for creatine kinase. **Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem**, Berlin, v.29, p.435-56, 1991.

HU, L.W. *et al.* Thyroxine-induced cardiac hypertrophy: influence of adrenergic nervous system versus renin-angiotensin system on myocyte remodeling. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, Bethesda, v.285, p.1473-1480, 2003.

INOKI, K. Y. LI. *et al.* TSC2 is phosphorylated and inhibited by AKT and suppresses mTOR signaling. **Nat Cell Biol**, London, v.4, n.9, p.648-57, Sep, 2002.

IWATA, M., R. COWLING. *et al.* Angiotensin-(1-7) binds to specific receptors on cardiac fibroblasts to initiate antifibrotic and antitrophic effects. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, Bethesda, v.289, n.6, p.H2356-63, Dec, 2005.

JANMEY P. A. The cytoskeleton and cell signaling: component localization and mechanical coupling. **Physiol Rev**, Bethesda, v.78 p.763-81, 1998.

KAMINSKY, P. *et al.* A ³¹p nmr study of different hypothyroid states in rat leg muscle. **Am J Physiol**, Bethesda, v.261 p.706-12, 1991.

KAHALY, G. J.; DILLMANN, W. H. Thyroid hormone action in the heart. **Endocr Rev**, Stanford University, v.26, n.5, p.704-728, Aug 2005.

KENESSEY, A.; OJAMAA, K. Thyroid hormone stimulates protein synthesis in the cardiomyocyte by activating the AKT-mTOR and

p70S6k pathways. **J Biol Chem, Maryland** v.281, n.30, p.20666-20672, Jul 28 2006.

KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S. New functions for amino acids: effects on gene on transcription and translation. **Journal of nutrition**, Bethesda, v.83, n.2, p.500S-507S, 2006.

KLEIN, I.; OJAMAA, K. Thyrotoxicosis and the heart. **Endocrinology & Metabolism Clinics of North America**, Maryland, v.27, n.1, p.51-62, 1998.

KLEIN I, OJAMAA K. Thyroid hormone and the cardiovascular system: from theory to practice. **JClin Edndocrinol Metab**, Bethesda, v.78 p.1026-7, 1994.

KOBAYASHI, H. *et al.* Modulations of Muscle Protein Metabolism by Branched-Chain Amino Acids in Normal and Muscle-Atrophying Rats. **Am Society for Nutrit**, Bethesda, v.136 n.1, p.234S-6S, jan. 2006.

KUZMAN, J. A. *et al.* L-Thyroxine activates AKT signaling in the heart. **J Mol Cell Cardiol**, Manchester, v.39, n.2, p.251-258, Aug 2005.

KYAW, M. M. YOSHIZUMI, *et al.* Atheroprotective effects of antioxidants through inhibition of mitogen-activated protein kinases. **Acta Pharmacol Sin**, Shanghai, v.25, n.8, p.977-85, Aug, 2004.

LEVY, D. *et al.* Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. **N Engl J Med**, England, v.322 p.1561-6, 1990.

LORELL, B. H.; CARABELLO, B. A. Left ventricular hypertrophy. Pathogenesis, detection and prognosis. **Circulation Research**, Baltimore v.102 p.470-9, 2000.

MANIOTIS, A. J.; CHEN, C. S.; INGBER, D. E. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. **Proc Natl Acad Sci**, Stanford university, v.94 p.849-54, 1997.

MELTEZER, H. Y. Factors affecting creatine phosphokinase levels in the general population. The role of race, activity and age. **Clin Chem Acta**, New York, v.33, p.165-72, 1971.

MESSIAS, E. R. R.; CARMONA, M. J. C.; AULER, J. R. Hormônios Tireóideos e Cirurgia Cardíaca. **Rev Bras de Anestesiol**, Rio de Janeiro, v.403, n.49, p.6, 1999.

NISHIDA, E. E Y. GOTHO. The MAP kinase cascade is essential for diverse signal transduction pathways. **Trends Biochem Sci**, Cambridge, v.18, n.4, p.128-31, apr, 1993

NORRELUND H. *et al.* Muscle mass and function in thyrotoxic patients before and during medical treatment. **Clin Endocrinol**, Malden, v.51 p.693-9, 1999.

OH, H. Y. FUJIO, et al. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase through glycoprotein 130 induces protein kinase B and p70S6 kinase phosphorylation in cardiac myocytes. **J Biol Chem**, Maryland v.273, n.16, Apr, p.9703-10, 1998.

OJAMAA, K. Signaling mechanisms in thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy. **Vascular Pharmacology**, Los Angeles, v.52, n.3-4, p.113-119, 2010.

OPIE, L. H. Normal and abnormal cardiac function: mechanism of cardiac contraction and relaxation. **Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine**. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 2001. p. 443-78.

OPPENHEIMER, J. H.; SCHWARTZ, H. L.; MARIASH, C. N. Advances in our understanding of thyroid hormone at the cellular level. **Endocr Rev**, Stanford University, v.8 p.288-308, 1987.

PRAKASH, A.; LAL, A.K.; NEGI, K.S. Serum Creatine Kinase Activity in Thyroid Disorders. **JK Science**, Jammu, v. 9, n. 1, marc. 2007.

PRADA, F. J. A. *et al.* Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **R. bras. Ci. e Mov**, Brasilia, v.12, n12, p. 29-34, junho, 2004.

PROUD, C. G. Amino acids and mTOR signaling in anabolic function. **Biochemical society transactions**, Great Britain, v.35, n.5, p.1187-90, 2007.

RAMSEY, I. D. Muscle Dysfunction in hyperthyroidism. **Lancet**, v.29 p.931-4, 1966.

ROSALKI, S. B. Enzyme assays in diseases of the heart and skeletal muscle. **J Clin Pathol**, London, v.24 p.60-70, 1970.

SAAD, M. J. A. *et al.* **Endocrinologia**. Sao Paulo: Atheneu., 2007.

SANDIER, G.; WILSON, G. M. The production of cardiac hypertrophy by thyroxine in the rat. **Q J Exp Physiol**, Bethesda, v.41, p.282-289, 1959.

SEPPET, E. K.; SAKS, V. A. Thyroid hormones and the creatine kinase system in cardiac cells. **Mol and Cel Biochem**, Netherland, v.133, n.1, p.299-309, mai. 1994.

SHAH, O. J. *et al.* Glucocorticoids oppose translational control by leucine in skeletal muscle. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v.279, n.5, p.E1185-90, 2000.

SIMPSON, P. C. *et al.* Transcription of early developmental isogenes in cardiac myocyte hypertrophy. **J Mol Cell Cardiol**, University of Manchester, v.21, p.79-89, 1989.

SKELTON, C.L. *et al.* Augmentation of myocardial oxygen consumption in hyperthyroid cats. **Circulation Research**, Baltimore, v.27 p.301-309, 1970.

TORRES-LEAL, F. L. *et al.* Aspectos atuais do efeito da leucina sobre o controle glicêmico e a resistência à insulina. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr**, São Paulo, v.35, 2010.

TREMBLAY, F. *et al.* A. Activation of the mammalian target of rapamycin pathway acutely inhibits insulin signaling to AKT and glucose transport in 3T3-L1 and human adipocytes. **Endocrinology**, Stanford, v.146, n.3, p.1328-1337, 2005.

VAN LIERE, E. J.; SIZEMORE, D. A.; HUNNELL, J. Size of cardiac ventricles in experimental hyperthyroidism in the rat. **Proc Soc Exp Biol Med**, Upstake, v. 132 p. 663-665, 1969.

VENTRUCCI, G.; MELLO, M. A.; GOMES-MARCONDES, M. C. Effect of a leucine-supplemented diet on body composition changes in pregnant rats bearing walker 256 tumor. **Brasillian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v.34, n.3, p.333-8, 2001.

VLIEGEN, H. W, *et al.* Polyploidy of myocyte nuclei in pressure-overloaded human hearts: a flow cytometric study in left and right ventricular myocardium. **Am J Cardiovasc Pathol**, Cambridge, v.5 p.2731-42, 1995.

ZANCHI, N. E.; NICASTRO, H.; LANCHI, A. H. JR. Potential antiproteolytic effects of L-leucine: observations of in vitro and in vivo studies. **Nutr. Metab**, London, v.5 p.20, 2008.

Esperamos que esse livro contribua para o debate político e filosófico sobre a educação. Afirmamos que caso seja infringido qualquer direito autoral, imediatamente, retiraremos a obra da internet. Reafirmamos que é vedada a comercialização deste produto.

Título	Tiroxina e tolerância ao esforço: um modelo experimental
Autores	Thiago Montes Fidale; Hugo Ribeiro Zanetti; Alexandre Gonçalves; Fernanda Rodrigues de Souza; Leandro Teixeira Paranhos Lopes; Elmiro Santos Resende
Revisão	Lurdes Lucena
Páginas	57
Formato	A5
1ª Edição	

Navegando Publicações
CNPJ – 18274393000197



www.editoranavegando.com
editoranavegando@gmail.com
Uberlândia – MG
Brasil

A insuficiência cardíaca é uma complicação comu no hipertireoidismo que provoca diferentes adaptações no coração, de conformidade com o tempo de exposição ao hormônio. O presente estudo se justifica pelo possível efeito protetor da leucina sobre o miocárdio. Isto representa possíveis potenciais de intervenção em diferentes condições de dano cardíaco, no sentido de proteger o coração contra os efeitos lesivos desencadeados.

