

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISILOGIA

Vanessa Duarte Ortiz

**INFLUÊNCIA DA COADMINISTRAÇÃO DE CARVEDILOL E DOS HORMÔNIOS  
DA TIREOIDE SOBRE A SINALIZAÇÃO APOPTÓTICA, BETA-ADRENÉRGICA,  
INFLAMATÓRIA E CARDIOPROTETORA NO CORAÇÃO PÓS-INFARTO**

Porto Alegre

2022

Vanessa Duarte Ortiz

**INFLUÊNCIA DA COADMINISTRAÇÃO DE CARVEDILOL E DOS HORMÔNIOS  
DA TIREOIDE SOBRE A SINALIZAÇÃO APOPTÓTICA, BETA-ADRENÉRGICA,  
INFLAMATÓRIA E CARDIOPROTETORA NO CORAÇÃO PÓS-INFARTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito para obtenção do grau de Doutor em Fisiologia.

Orientador: Dr. Alex Sander da Rosa Araujo.

Coorientador: Dr. Alexandre Luz de Castro

Porto Alegre

2022

### CIP - Catalogação na Publicação

Ortiz, Vanessa Duarte

INFLUÊNCIA DA COADMINISTRAÇÃO DE CARVEDILOL E DOS HORMÔNIOS DA TIREOIDE SOBRE A SINALIZAÇÃO APOPTÓTICA, BETA-ADRENÉRGICA, INFLAMATÓRIA E CARDIOPROTETORA NO CORAÇÃO PÓS-INFARTO / Vanessa Duarte Ortiz. -- 2022. 126 f.

Orientador: Alex Sander da Rosa Araujo.

Coorientador: Alexandre Luz de Castro.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Infarto agudo do miocárdio. 2. T3 e T4. 3. Carvedilol. 4. Apoptose. 5. Inflamação. I. Araujo, Alex Sander da Rosa, orient. II. Castro, Alexandre Luz de, coorient. III. Título.

Vanessa Duarte Ortiz

**INFLUÊNCIA DA COADMINISTRAÇÃO DE CARVEDILOL E DOS HORMÔNIOS DA TIREOIDE SOBRE A SINALIZAÇÃO APOPTÓTICA, BETA-ADRENÉRGICA, INFLAMATÓRIA E CARDIOPROTETORA NO CORAÇÃO PÓS-INFARTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito para obtenção do grau de Doutor em Fisiologia.

Aprovado em: 01 de Junho de 2022.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Eloísa da Silveira Loss – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

---

Prof. Dra. Caroline Dani – Centro Universitário Metodista do IPA

---

Prof. Dr. Pedro Dal Lago – Universidade Federal de ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, **Eliane**, por sua paciência, seu carinho e seu exemplo de perseverança e de positividade, qualidades que foram fundamentais para me apoiar nos tempos de pandemia os quais nortearam boa parte do período deste doutorado. Obrigada, mãe, por ser meu alicerce e meu porto seguro.

Ao meu pai, **Ademar**, por ter sido sempre meu grande incentivador e apoiador das minhas escolhas, por ter me incentivado desde criança a seguir o caminho dos estudos e do trabalho. Obrigada, pai, por ser meu grande amigo e parceiro durante toda essa trajetória e, também, por me fazer acreditar nos meus sonhos e nunca desistir deles apesar das adversidades.

Ao meu orientador, **professor Alex Sander da Rosa Araujo**, por todo apoio, incentivo, paciência, companheirismo, dedicação e orientação. Obrigada, sor, por todas as conversas presenciais e por telefone, pelos ensinamentos e concelhos, pelas discussões aprofundadas sobre fisiologia e por ser esse grande exemplo de professor. Obrigada por me acompanhar em mais essa etapa acadêmica e por todos esses anos de parceria.

Ao meu coorientador, **professor Alexandre Luz de Castro**, por toda paciência, companheirismo, apoio, ensinamentos e orientação. Obrigada, Xande, por ser, acima de tudo, um grande amigo e ser um grande exemplo pra mim de colega, de professor, de pesquisador e de ser humano. Obrigada por me ensinar praticamente tudo que eu sei em relação às práticas de laboratório e à pesquisa no geral.

À professora **Adriane Belló-Klein**, pelo carinho, apoio e generosidade em relação às pessoas em seu entorno. Obrigada, profe, por sua dedicação em manter o desenvolvimento do nosso laboratório e por ser um exemplo de professora e pessoa para todos nós alunos.

À **Tânia Regina Gattelli Fernandes Piedras**, pela ajuda, ensinamentos, carinho e amizade ao longo de todos esses anos.

A todos os **colegas de laboratório** que estiveram juntos direta ou indiretamente nesta jornada. Obrigada por todo carinho e pela ajuda nos experimentos e nas discussões científicas.

Aos **meus amigos**, por todo apoio, pelos desabafos coletivos, por todos os momentos de descontração e de parceria ao longo de todos esses anos. Um agradecimento especial aos

meus amigos de longa data, Elisa, Luiza, Diego, Dani e Nati, por estarem sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins.

À **banca avaliadora** dessa tese, pelo interesse e tempo disponibilizado.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia**, Departamento de Fisiologia e à UFRGS, pelas oportunidades e todo suporte oferecido para realização deste trabalho.

Aos **órgãos de fomento** CNPq, CAPES e FAPERGS pelo apoio financeiro a este trabalho de pesquisa.

## RESUMO

**Introdução:** Após o infarto agudo do miocárdio (IAM), o coração sofre o remodelamento ventricular (RV) o qual é marcado por dilatação ventricular, redução da espessura de parede, hipertrofia e disfunção cardíaca. Vários mecanismos contribuem para o RV adverso pós-infarto, como a apoptose, a inflamação e a estimulação sustentada dos receptores beta1-adrenérgicos ( $\beta$ 1-AR). Entretanto, vias de sinalização de proteínas, como a Akt e o fator induzido por hipóxia 1-alfa (HIF-1 $\alpha$ ), contribuem para a cardioproteção. Nesse contexto, torna-se fundamental o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para o IAM, como a coadministração de carvedilol e dos hormônios da tireoide (HT), que visam melhorar a homeostase celular no coração pós-infarto. **Objetivos:** Analisar a influência da coadministração de carvedilol e dos HT sobre a sinalização apoptótica, beta-adrenérgica, inflamatória e cardioprotetora no coração pós-IAM, bem como sobre a hemodinâmica cardíaca e as alterações estruturais envolvidas no RV adverso. **Metodologia:** Ratos Wistar machos foram alocados em cinco grupos (n = 7/grupo): grupo sham (SHAM), grupo infartado (IM), grupo infartado tratado com carvedilol (IM+C), grupo infartado tratado com HT (IM+HT) e grupo infartado cotratado com carvedilol e HT (IM+C+HT). Todos os animais receberam seus respectivos tratamentos por gavagem durante 12 dias. Ao final do tratamento, os animais passaram pela análise ecocardiográfica e, posteriormente, pela análise hemodinâmica. Ao fim desta análise, os animais foram eutanasiados e o ventrículo esquerdo (VE) coletado para análises morfométricas e de Western blot. O pulmão e fígado foram coletados para análises de congestão pulmonar e congestão hepática, respectivamente. Análise estatística: teste ANOVA de uma via, seguido pelo pós-teste Student-Newman-Keuls (dados paramétricos); teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn (dados não-paramétricos). **Resultados:** Todos os grupos infartados apresentaram dilatação ventricular em relação ao grupo SHAM. Apenas o grupo IM apresentou perda da espessura da parede posterior sistólica, aumento do índice de tensão de parede, elevação do peptídeo natriurético atrial, redução da pressão sistólica do VE e do índice de contratilidade e aumento da pressão diastólica do VE comparado ao grupo SHAM. Já os grupos IM+C, IM+HT e IM+C+TH não apresentaram alteração desses parâmetros em relação ao grupo SHAM. O grupo IM+HT apresentou aumento do  $\beta$ 1-AR em comparação aos grupos IM e IM+C, enquanto o grupo IM+C+HT revelou redução do  $\beta$ 1-AR em relação aos grupos SHAM e IM+HT. Os grupos

IM+HT e IM+C+HT revelaram redução da Bax, aumento da Akt, redução das proteínas inflamatórias MyD88 e NLRP3 e aumento do HIF-1 $\alpha$  e da isoforma alfa do receptor dos HT (TR $\alpha$ ). **Conclusão:** No grupo infartado cotratado, os HT foram responsáveis por diminuir a sinalização apoptótica e inflamatória e por aumentar a expressão de proteínas cardioprotetoras; enquanto o carvedilol parece ter colaborado para a redução da resposta humoral simpática pós-infarto através da redução dos  $\beta$ 1-AR. Portanto, a coadministração de carvedilol e dos HT apresentou efeitos benéficos complementares importantes para uma melhor homeostase celular no coração pós-infarto. Desta forma, tais efeitos em conjunto contribuíram para a preservação da morfologia e da hemodinâmica cardíaca verificada no grupo infartado cotratado, evitando, conseqüentemente, o desenvolvimento do RV adverso.

*Palavras-chave:* Infarto agudo do miocárdio. Hormônios da tireoide. Carvedilol. Bax. Akt. Receptor beta1-adrenérgico. Inflamação. NLRP3. HIF-1 $\alpha$ .



## ABSTRACT

**Introduction:** After acute myocardial infarction (AMI), the heart undergoes ventricular remodeling (VR), which is marked by ventricular dilation, wall thickness reduction, hypertrophy and cardiac dysfunction. Several mechanisms contribute to adverse post-infarction VR, such as apoptosis, inflammation, and sustained stimulation of beta1-adrenergic receptors ( $\beta$ 1-AR). However, signaling pathways of proteins, such as Akt and hypoxia-induced factor 1-alpha (HIF-1 $\alpha$ ), contribute to cardioprotection. In this context, it is essential to develop new therapeutic strategies for AMI, such as the co-administration of carvedilol and thyroid hormones (TH), which aim to improve cellular homeostasis in the infarcted heart.

**Objectives:** To analyze the influence of co-administration of carvedilol and TH on apoptotic, beta-adrenergic, inflammatory and cardioprotective signaling in the post-AMI heart, as well as on cardiac hemodynamics and structural changes involved in adverse VR.

**Methodology:** Male Wistar rats were allocated into five groups (n = 7/group): sham group (SHAM), infarcted group (MI), infarcted group treated with carvedilol (MI+C), infarcted group treated with TH (MI+TH), and infarcted group co-treated with carvedilol and TH (MI+C+TH). All animals received their respective treatments by gavage for 12 days. At the end of treatment, the animals were submitted to echocardiographic analysis and, later, to haemodynamic analysis. At the end of this analysis, the animals were euthanized and the left ventricle (LV) was collected for morphometric and Western blot analyses. The lung and liver were collected for analysis of pulmonary congestion and hepatic congestion, respectively. Statistical analysis: One-way ANOVA, followed by Student-Newman-Keuls post-test (parametric data); Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's post-test (non-parametric data).

**Results:** All infarcted groups presented ventricular dilatation in relation to the SHAM group. Only the MI group showed loss of systolic posterior wall thickness, increased wall tension index, elevation of atrial natriuretic peptide, reduced LV systolic pressure and contractility index, and increased LV diastolic pressure compared to the SHAM group. On the other hand, the MI+C, MI+TH, and MI+C+TH groups showed no change in these parameters in relation to the SHAM group. The MI+TH group showed an increase in  $\beta$ 1-AR compared to the MI and MI+C groups, while the MI+C+TH group showed a reduction in  $\beta$ 1-AR in relation to the SHAM and MI+TH groups. The MI+TH and MI+C+TH groups showed reduced Bax, increased Akt, reduced inflammatory proteins MyD88 and NLRP3, and increased HIF-1 $\alpha$  and

alpha isoform of TH receptor ( $TR\alpha$ ). **Conclusion:** In the co-treated infarcted group, TH were responsible for decreasing apoptotic and inflammatory signaling and for increasing the expression of cardioprotective proteins; while carvedilol seems to have contributed to the reduction of the post-infarction sympathetic humoral response through the  $\beta$ 1-AR downregulation. Therefore, the co-administration of carvedilol and TH showed important complementary beneficial effects for a better cellular homeostasis in the post-infarction heart. Thus, these effects together contributed to the preservation of cardiac morphology and hemodynamics, observed in the co-treated infarcted group, consequently preventing the development of adverse VR.

*Keywords:* Acute myocardial infarction. Thyroid hormones. Carvedilol. Bax. Akt. Beta1-adrenergic receptor. Inflammation. NLRP3. HIF-1 $\alpha$ .

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** – Ilustração representativa da trombose coronariana como principal causa do IAM

**Figura 2** – Ilustração representativa do IAM do tipo 2 causado por eventos que levam ao desequilíbrio da oferta e demanda de oxigênio

**Figura 3** – Remodelamento ventricular após o IAM

**Figura 4** – Fases do remodelamento ventricular após o IAM

**Figura 5** – Resposta do sistema nervoso simpático após o IAM e seu efeito agudo e crônico sobre o coração

**Figura 6** – Sinalização beta1-adrenérgica no coração em situações de doenças cardiovasculares

**Figura 7** – Apoptose: via extrínseca e via intrínseca

**Figura 8** – Fases do reparo cardíaco após o IAM

**Figura 9** – Inflamação inicial e tardia após o IAM

**Figura 10** – Estrutura do inflamassoma NLRP3

**Figura 11** – Vias de inflamação analisadas neste trabalho: via do TLR4/NF- $\kappa$ B e via do NLRP3 inflamassoma.

**Figura 12** – Via de sinalização da Akt no coração

**Figura 13** – Regulação da atividade do HIF-1 $\alpha$

**Figura 14** – Esquema cronológico do protocolo experimental deste trabalho

**Figura 15** – Resumo esquemático dos principais achados deste trabalho

**Figura 16** – Resumo esquemático do possível mecanismo intracelular dos efeitos da coadministração de carvedilol e dos hormônios da tireoide no coração pós-infarto

## **LISTA DE QUADROS**

**Quadro 1** – Classificação clínica do IAM de acordo com fatores desencadeantes

**Quadro 2** – Etiologia do IAM

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADH – Hormônio antidiurético
- AI – Área de infarto
- ANP – Peptídeo natriurético atrial
- ANOVA – Análise de variância
- Apaf1 – Fator 1 de ativação da protease apoptótica
- ASC – proteína associada à apoptose contendo um domínio CARD
- ATP – Adenosina trifosfato
- BRE – Bloqueio de ramo esquerdo
- CaMKII – Proteína cinase dependente de cálcio/calmodulina
- CAs – Catecolaminas
- CAPRICORN – *Carvedilol Post-Infarct Survival Control in LV Dysfunction*
- CEUA – Comissão de Ética do Uso de Animais
- CK – Creatinocinase
- CK-MB – Creatinocinase MB
- CREAL – Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório
- cTnI – Troponina cardíaca I
- cTnT – Troponina cardíaca T
- D.P. – Desvio padrão
- DAMPs – Padrões moleculares associados a dano
- DCV – Doenças cardiovasculares
- DIC – Doença isquêmica do coração
- dP/dt máxima – derivada de contração
- dP/dt mínima – derivada de relaxamento
- ECG – Eletrocardiograma
- EPO – Eritropoietina

ERO – Espécies reativas de oxigênio

EUA – Estados Unidos

FasL – Ligante Faz

GSDMD – Gasdermina D

GSH – Glutathiona reduzida

GSSG – Glutathiona oxidada

HIF – Fator induzível por hipóxia

HIF-1 $\alpha$  – Fator induzido por hipóxia 1-alfa

HIF-1 $\beta$  – Fator induzido por hipóxia 1-beta

HO-1 – Heme-oxigenase 1

HRE – Elementos responsivos à hipóxia

HT – Hormônios da tireoide

IAM – Infarto agudo do miocárdio

IAMCST – IAM com elevação do segmento ST

IAMSST – IAM sem elevação do segmento ST

IC – Insuficiência cardíaca

ICBS – Instituto de Ciências Básicas da Saúde

IL-1 $\beta$  – Interleucina 1 beta

iNOS – Óxido nítrico sintase induzível

ITP – Índice de tensão da parede

JNK – c-Jun N-terminal quinase

KCl – Cloreto de potássio

LDL – lipoproteína de baixa densidade

MAPK – Proteínas quinases ativadas por mitógenos

MyD88 – Proteína de resposta primária da diferenciação mieloide 88

NF- $\kappa$ B – Fator nuclear kappa B

N-GSDMD – Porção N-terminal das gasdermina D

NLRs – Receptores similares ao domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo

NLRP3 – Receptor similar ao domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo contendo domínio de pirina 3

PE – Perímetro endocárdico total

PHD – Enzima do domínio prolil-4-hidroxilase

PKA – Proteína cinase A

PKB – Proteína cinase B

PMSF – Fluoreto de fenilmetilsulfonil

pro-IL-1 $\beta$  – Pro-interleucina1 beta

PRRs – Receptores de reconhecimento de padrões

PVDF – Difluoreto de polivinilideno

RAH – Região de acinesia do movimento sistólico e/ou região da hipocinesia

RIPA – Ensaio de radioimunoprecipitação

RV – Remodelamento ventricular

SDS-PAGE – Poliacrilamida monodimensional de dodecil sulfato de sódio

SIM – Sistema de Informação sobre Mortalidade

SNS – Sistema nervoso simpático

SRAA – Sistema renina-angiotensina-aldosterona

T3 – 3,5,3'-triodotironina

T4 – 3,5,3',5'-tetraiodotironina ou tiroxina

tBid – Bid truncada

THIRST – *Thyroid Hormone Replacement Therapy in ST elevation myocardial infarction*

TLR4 – Receptor do tipo Toll 4

TLRs – Receptores do tipo Toll

TNF-1 $\alpha$  – Fator de necrose tumoral  $\alpha$

TRAF6 – Fator 6 associado ao receptor do fator de necrose tumoral

TRE – Elementos responsivos ao hormônio da tireoide

TRs – Receptores dos hormônios da tireoide

TR $\alpha$  – Isoforma alfa do receptor dos hormônios da tireoide

TR $\beta$  – Isoforma beta do receptor dos hormônios da tireoide

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VE – Ventrículo esquerdo

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

VHL – Proteína von Hippel-Lindau

$\beta$ 1-AR – Receptor beta1-adrenérgico

$\beta$ 2-AR – Receptor beta2-adrenérgico

$\beta$ 3-AR – Receptor beta3-adrenérgico

$\alpha$ 1-AR – Receptor alfa1-adrenérgico

$\beta$ -AR – Receptores beta-adrenérgicos



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
1.1 INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO .....	19
1.1.1 Epidemiologia .....	19
1.1.2 Definição, classificação e etiologia.....	19
1.1.3 Fatores de risco.....	23
1.1.4 Manifestações clínicas e diagnóstico .....	23
1.1.5 Consequências fisiopatológicas imediatas após a isquemia aguda miocárdica ....	24
1.1.6 Remodelamento ventricular pós-infarto.....	25
1.1.7 Sinalização beta-adrenérgica no coração pós-infarto .....	29
1.1.8 Apoptose no coração pós-infarto.....	31
1.1.9 Inflamação no coração pós-infarto .....	33
1.1.10 Proteínas cardioprotetoras.....	38
1.1.10.1 Akt.....	38
1.1.10.2 HIF-1 $\alpha$ .....	40
1.1.13 Tratamento no IAM .....	42
1.2 PROPOSTA TERAPÊUTICA: COADMINISTRAÇÃO DE CARVEDILOL E DOS HORMÔNIOS DA TIREOIDE.....	43
1.2.1 Hormônios da tireoide .....	43
1.2.2 Carvedilol.....	45
1.2.3 Coadministração de carvedilol e dos hormônios da tireoide .....	46
<b>2 HIPÓTESES</b> .....	<b>47</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>47</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	47
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	47
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>48</b>

4.1 ANIMAIS .....	48
4.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	49
4.3 MODELO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO.....	49
4.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	50
4.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTOS.....	51
4.6 ECOCARDIOGRAFIA .....	52
4.7 HEMODINÂMICA CARDÍACA .....	53
4.8 EUTANÁSIA E COLETA DE ÓRGÃOS .....	53
4.9 ANÁLISES MORFOMÉTRICAS.....	54
4.10 HOMOGENEIZAÇÃO DO VE E ANÁLISE DE PROTEÍNAS TOTAIS PELO MÉTODO DE LOWRY.....	54
4.11 ANÁLISE PROTEICA POR WESTERN BLOT .....	55
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	56
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>57</b>
5.1 ARTIGO I: Efeitos da coadministração do carvedilol e dos hormônios da tireoide sobre proteínas apoptóticas e de sobrevivência no coração após infarto agudo do miocárdio.....	58
5.2 ARTIGO II: Influência do carvedilol e dos hormônios da tireoide sobre proteínas inflamatórias e o fator cardioprotetor HIF-1 $\alpha$ no coração infartado. ....	82
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>105</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>114</b>
<b>9 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>116</b>
<b>10 ANEXOS .....</b>	<b>125</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

### 1.1.1 Epidemiologia

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas a causa principal de morte no mundo, compreendendo 32% de todas as mortes globais (World Health Organization, 2021). De acordo com o último estudo da Carga Global de Doenças de 2019 (Global Burden of Disease Study 2019), a prevalência de casos de DCV praticamente dobrou de 271 milhões em 1990 para 523 milhões em 2019, enquanto o número total de mortes por DCV aumentou de 12,1 milhões em 1990 para 18,6 milhões em 2019 (ROTH *et al.*, 2020). Nesse contexto, a doença isquêmica do coração (DIC) representa 49,2% das causas de morte por DCV (ROTH *et al.* 2020).

No Brasil, de acordo com o banco de dados do Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM) de 2017, a proporção de mortalidade pelas DCV compreende 27,3% do total de mortes, com maior proporção na região Sudeste e menor proporção na região Norte. Dentre as DCV, a DIC é responsável por 32,1% do total de mortes no Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2020). A principal manifestação clínica da DIC é o infarto agudo do miocárdio (IAM) (MANFROI *et al.*, 2002).

### 1.1.2 Definição, classificação e etiologia

O IAM é definido como a morte súbita do tecido cardíaco causada por uma isquemia aguda do miocárdio (THYGESSEN *et al.*, 2018; FRANGOIANNIS, 2015). Considerando sua fisiopatologia e contexto clínico, o IAM é classificado em cinco tipos como demonstrado no Quadro 1 (NICOLAU *et al.*, 2021).

Na maioria dos casos, o IAM é causado pela oclusão trombótica da artéria coronária decorrente da ruptura de uma placa aterosclerótica (FRANGOIANNIS, 2015). No entanto, além da aterotrombose, existem diversas outras causas que podem levar à lesão miocárdica que posteriormente acarretam no IAM. O Quadro 2 resume essas causas (NICOLAU *et al.*, 2021).

**Quadro 1 – Classificação clínica do IAM de acordo com fatores desencadeantes**

<b>Classificação (tipos)</b>	<b>Descrição</b>
Tipo 1	IAM espontâneo relacionado com isquemia miocárdica secundária a evento coronariano como ruptura ou erosão de placa aterosclerótica coronariana
Tipo 2	IAM secundário à isquemia por desequilíbrio de oferta/demanda de oxigênio pelo miocárdio, não relacionado diretamente à aterotrombose coronariana
Tipo 3	Morte súbita na presença de sintomas sugestivos de isquemia acompanhada por novas alterações isquêmicas no eletrocardiograma (ECG) ou fibrilação ventricular e que ocorre antes de os biomarcadores serem coletados ou de sua elevação. Ou IAM confirmado por necrópsia
Tipo 4 <sup>a</sup>	IAM associado à intervenção coronariana percutânea $\leq$ 48h – definido pelo aumento de troponina maior que 5 vezes do percentil 99 do limite da normalidade ou 20% de níveis basais já aumentados, associado a um dos achados a seguir: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nova alteração isquêmica no ECG</li> <li>• Nova onda Q patológica no ECG</li> <li>• Exame de imagem evidenciando nova alteração de contratilidade ou perda de miocárdio viável de padrão consistente com isquemia miocárdica</li> <li>• Achados angiográficos com complicações que levem à limitação do fluxo coronário (dissecção, oclusão de vaso epicárdico, perda de circulação colateral e embolização distal)</li> </ul>
Tipo 4b	IAM associado à trombose de <i>stent</i> documentada por angiografia ou necrópsia IAM
Tipo 4c	IAM relacionado à reestenose <i>intra</i> stent ou pós-angioplastia na ausência de outras lesões ou trombo intracoronário que o justifiquem
Tipo 5	IAM associado à cirurgia de revascularização miocárdica $\leq$ 48h – definido pelo aumento maior que 10 vezes do percentil 99 do limite da normalidade ou 20% de níveis basais já aumentados, associado a um dos achados a seguir: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nova onda Q patológica no ECG</li> <li>• Exame de imagem evidenciando nova alteração de contratilidade ou perda de miocárdio viável com padrão de etiologia isquêmica</li> <li>• Achado angiográfico que evidencie oclusão de novo enxerto ou artéria coronária nativa</li> </ul>

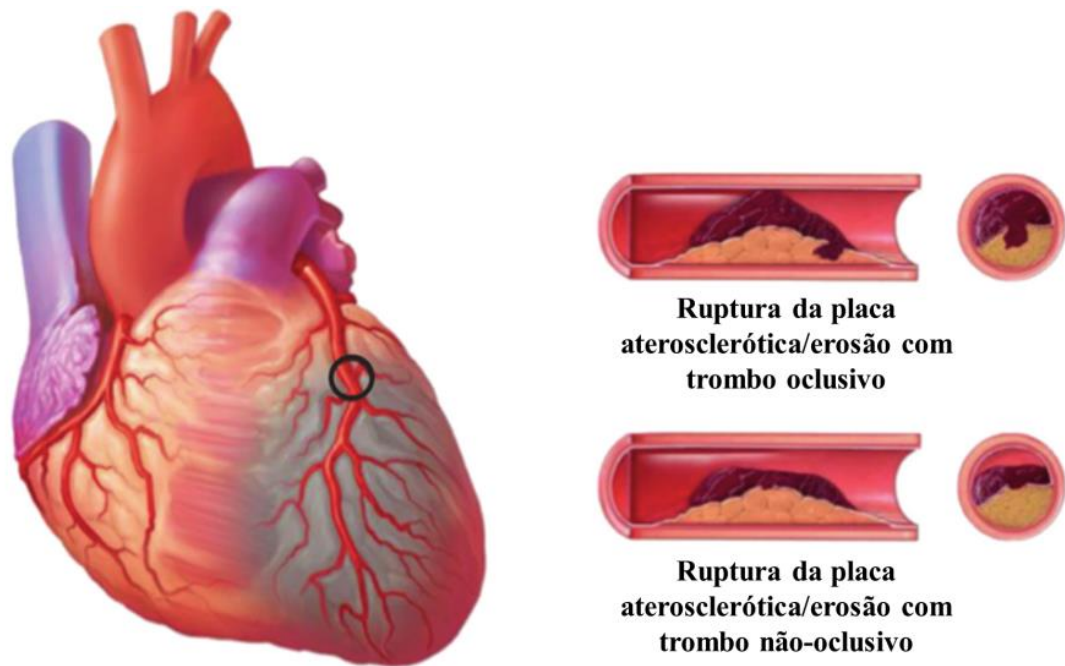
Fonte: NICOLAU *et al.*, 2021.

**Quadro 2 – Etiologia do IAM**

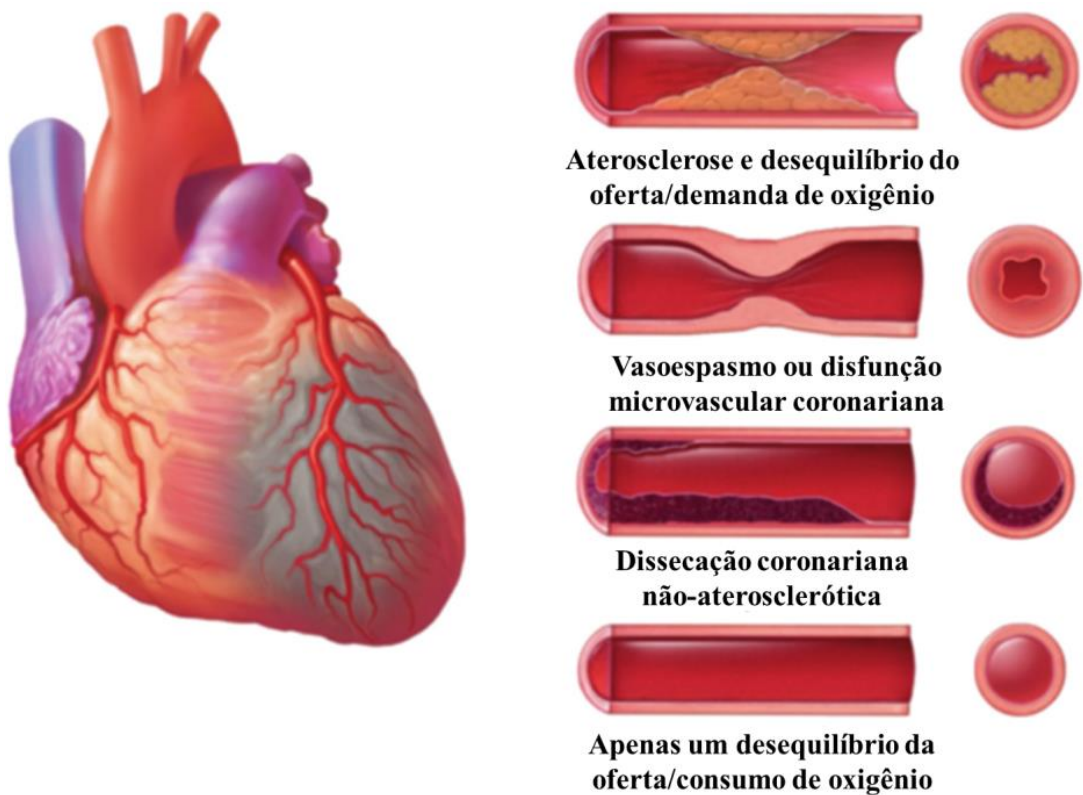
<b>Causas de lesão miocárdica de etiologia isquêmica</b>
Ruptura ou erosão de placa aterosclerótica com trombose.
<p>Lesão miocárdica relacionada com isquemia miocárdica por desequilíbrio entre oferta/consumo de oxigênio.</p> <p style="padding-left: 40px;">Redução na perfusão miocárdica:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Espasmo arterial coronariano</li> <li>• Doença coronariana microvascular</li> <li>• Embolismo coronariano</li> <li>• Dissecção coronariana</li> <li>• Bradiarritmia sustentada</li> <li>• Hipotensão ou choque</li> <li>• Falência respiratória</li> <li>• Anemia grave</li> </ul> <p style="padding-left: 40px;">Aumento no consumo de oxigênio:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Taquiarritmia sustentada</li> <li>• Crise hipertensiva</li> </ul>

Fonte: Adaptado de NICOLAU *et al.*, 2021.

Considerando a classificação e a etiologia do IAM apresentadas acima, será destacado nesta introdução a classificação do IAM do tipo 1 e do tipo 2. O IAM do tipo 1 é causado pela ruptura ou pela erosão da placa aterosclerótica a qual pode levar à formação de trombo oclusivo ou de trombo não-oclusivo no lúmen da artéria coronária (Figura 1). Já o mecanismo determinante do IAM do tipo 2 envolve o desequilíbrio entre a oferta e o consumo de oxigênio. Esse desequilíbrio pode ser causado pela redução da perfusão miocárdica (causas: presença de aterosclerose sem oclusão coronariana, vasoespasmo coronariano, disfunção microvascular coronariana, embolismo coronariano, dissecação coronariana, bradicardia sustentada, hipotensão ou choque, falência respiratória, anemia grave) ou pelo aumento do consumo de oxigênio (causas: taquiarritmia sustentada, crise hipertensiva) (THYGESSEN *et al.*, 2018; NICOLAU *et al.*, 2021) (Figura 2). Por conseguinte, tanto no IAM do tipo 1, quanto no IAM do tipo 2, ocorre redução da perfusão do miocárdio suficientemente capaz de levar à necrose dos cardiomiócitos (BOATENG e SANBORN, 2013).



**Figura 1.** Ilustração representativa da trombose coronariana como principal causa do IAM. O IAM causado por trombose coronariana é classificado como IAM do tipo 1 (adaptada de THYGESEN *et al.*, 2018).



**Figura 2.** Ilustração representativa do IAM do tipo 2 causado por eventos que levam ao desequilíbrio da oferta e demanda de oxigênio (adaptada de THYGESEN *et al.*, 2018).

### 1.1.3 Fatores de risco

Em relação aos fatores de risco para o IAM, estes podem ser divididos em três categorias: fatores de risco não-modificáveis (idade, gênero e histórico familiar), fatores de risco modificáveis (fumo, consumo de álcool, falta de atividade física, dieta inadequada, hipertensão, diabetes, dislipidemias e síndrome metabólica) e fatores de risco emergentes (calcificação da artéria coronária, elevados níveis de proteína C reativa, de fibrinogênio, de homocisteína, de lipoproteína (a) e de lipoproteína de baixa densidade - LDL) (BOATENG e SANBORN, 2013).

Em 2019, os principais fatores de risco para as DCV foram elencados na seguinte ordem decrescente de influência para o desenvolvimento de tais doenças: pressão sanguínea sistólica alta, riscos dietéticos, altos níveis de LDL, poluição do ar, índice de massa corporal, tabagismo, alto nível plasmático de glicose em jejum, disfunção renal, temperatura não ideal, outros riscos ambientais, uso de álcool e baixo nível de atividade física (ROTH *et al.*, 2020).

### 1.1.4 Manifestações clínicas e diagnóstico

As manifestações clínicas de pacientes com IAM são diversas, porém de 75% a 85% dos pacientes exibem dor torácica como sintoma predominante. Essa dor, geralmente prolongada (maior do que 20 minutos), pode ser desencadeada por exercício ou por estresse, ou mesmo em estado de repouso, e é comumente intensa, podendo estar associadas a outros sintomas, como dispneia, náuseas e vômitos (PIEGAS *et al.*, 2009). Ademais, embora essa dor seja tipicamente de localização subesternal, ela pode irradiar para os dermatomos correspondentes (C7-T4) que suprem os nervos aferentes para os mesmos segmentos da medula espinal que o coração; logo, a dor pode irradiar para o epigástrio, ombros, braços, costas (região interescapular), maxilar inferior e pescoço (BOATENG e SANBORN, 2013).

O diagnóstico do paciente com suspeita de IAM inclui a análise do seu histórico clínico, exame físico, eletrocardiograma (ECG), biomarcadores cardíacos [ex.: troponina cardíaca I (cTnI), troponina cardíaca T (cTnT), creatinocinase MB (CK-MB), creatinocinase (CK) e mioglobina] e radiografia do tórax (BOATENG e SANBORN, 2013).

### 1.1.5 Consequências fisiopatológicas imediatas após a isquemia aguda miocárdica

No cenário do IAM, a isquemia miocárdica provoca mudanças metabólicas [ex.: déficit energético pela depleção de adenosina trifosfato (ATP) e acúmulo de metabólitos, como de lactato] responsáveis por gerar marcantes perturbações no equilíbrio iônico (ex.: aumento da concentração extracelular de potássio). Tais mudanças iônicas levam a alterações eletrofisiológicas significativas no coração, como a inexcitabilidade e bloqueio de condução elétrica. Nesse contexto, a principal consequência funcional pós-infarto é a rápida depressão da função sistólica cardíaca, observada segundos após o insulto isquêmico. Além da disfunção sistólica, a isquemia miocárdica também induz a disfunção diastólica devido à redução da complacência ventricular (FRANGOIANNIS, 2015).

Alguns minutos depois do insulto isquêmico, verifica-se mudança na ultraestrutura dos cardiomiócitos, depleção dos grânulos de glicogênio citoplasmáticos, distorção do sistema tubular transversal e inchaço mitocondrial. Períodos maiores do que 20 minutos de isquemia severa geram a morte celular de um número crescente de cardiomiócitos. Quando a duração do insulto isquêmico for menor que 20 minutos, essas alterações podem ser completamente revertidas através da recuperação do fluxo sanguíneo coronariano e, assim, evitar a morte dos cardiomiócitos. No entanto, um período de isquemia prolongado induz mudanças irreversíveis nos cardiomiócitos (FRANGOIANNIS, 2015).

A necrose dos cardiomiócitos e a matriz extracelular danificada promovem a liberação de sinais de alarme endógenos, conhecidos como padrões moleculares associados a dano (DAMPs). Os DAMPs são responsáveis por ativar células do sistema imune inato e a consequente resposta inflamatória no miocárdio pós-infarto. A resposta inflamatória decorrente do IAM é importante para o processo de remoção das células mortas e da matriz extracelular danificada, bem como para a cicatrização da área infartada. Entretanto, uma resposta inflamatória excessiva favorece o remodelamento ventricular adverso e o desenvolvimento de insuficiência cardíaca (IC) (FANG *et al.*, 2015; ONG *et al.*, 2018).

Além da resposta inflamatória, durante as primeiras 72 horas, os pacientes com IAM também apresentam ativação dos sistemas neuro-humorais. Estes sistemas incluem o sistema nervoso simpático (SNS), o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), o peptídeo natriurético atrial (ANP) e o hormônio antidiurético (ADH). As principais evidências da ativação neuro-humoral pós-IAM incluem o aumento do nível das catecolaminas, do ANP, do ADH e da atividade da renina no plasma (ROULEAU *et al.*, 1991; COHN, 1990). Os efeitos



da hiperativação neuro-humoral sustentada em longo prazo induzem o aumento do trabalho cardíaco, a elevação do consumo de oxigênio pelo miocárdio, a diminuição do fluxo para o tecido cardíaco isquêmico e a possível expansão do infarto. Esses eventos promovem a diminuição da contratilidade e a estimulação ainda maior do SRAA e do SNS, levando a um “ciclo vicioso” que irá promover o aumento progressivo do tamanho das câmaras cardíacas e da disfunção ventricular (PIEGAS *et al.*, 2004). Por fim, a ativação neuro-humoral é inicialmente de natureza compensatória, ou seja, visa à manutenção da função de bombeamento do coração. No entanto, a ativação prolongada dos sistemas neuro-humorais contribui para o remodelamento ventricular adverso, a disfunção sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo (VE), a dilatação ventricular e o desenvolvimento de uma IC crônica (KOKORIN *et al.*, 2012).

### **1.1.6 Remodelamento ventricular pós-infarto**

Após o insulto isquêmico, o coração passa por um processo complexo de remodelamento ventricular. Tal processo de remodelamento desempenha papel fundamental na fisiopatologia da disfunção ventricular pós-IAM, sendo considerado um fator determinante da progressão para a IC (ZORNOFF *et al.*, 2009; PONTES e LEÕES, 2004). O remodelamento ventricular é considerado o conjunto de alterações genéticas, moleculares, celulares e intersticiais que se manifestam clinicamente através de mudanças no tamanho, forma e função do coração após a injúria cardíaca (COHN *et al.*, 2000). O diagnóstico clínico do remodelamento ventricular baseia-se principalmente na observação de mudanças na morfologia cardíaca, como: alterações no diâmetro da cavidade (dilatação ventricular), geometria (espessura da parede e forma do coração), massa (nível de hipertrofia), áreas com cicatriz, fibrose e infiltrado inflamatório. Os métodos diagnósticos do remodelamento pós-infarto mais utilizados são o ecocardiograma, a ventriculografia e a ressonância magnética (AZEVEDO *et al.*, 2015).

Um estudo de coorte, baseado em uma população de 7.733 pacientes idosos ( $\geq 65$  anos) hospitalizados por apresentarem primeiro episódio de IAM, revelou que 5.871 (76%) desses pacientes desenvolveram IC ao longo dos 5 anos seguintes (EZEKOWITZ *et al.*, 2009). Ainda, entre os mais de 1 milhão de casos de IAM que ocorrem por ano nos Estados Unidos (EUA), aproximadamente 25% dos pacientes desenvolvem o remodelamento

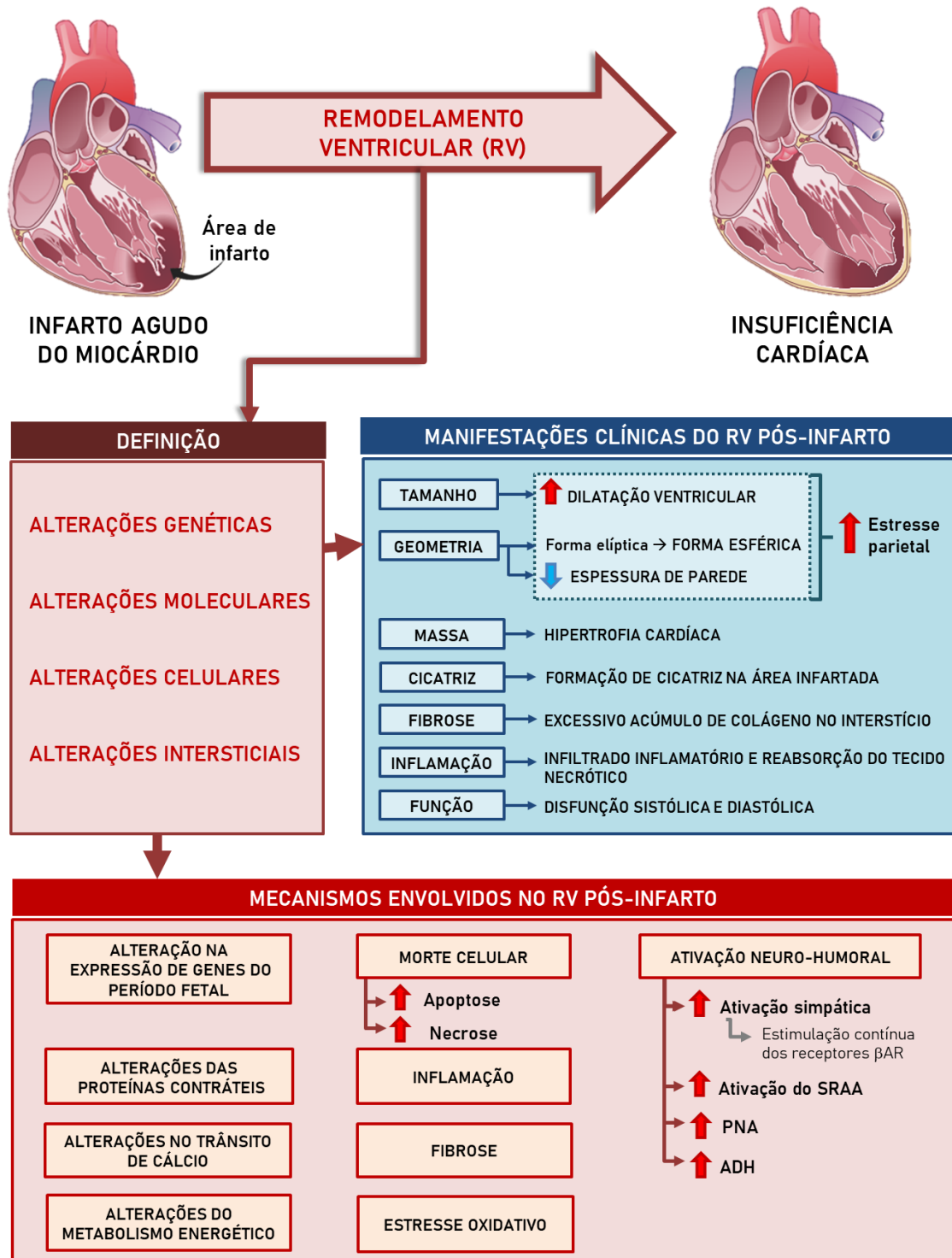
ventricular adverso e progridem para a IC (ALTARA *et al.*, 2016). Além de favorecer o desenvolvimento do quadro de IC, o remodelamento pós-infarto também está associado a maior prevalência de ruptura cardíaca, arritmias e formação de aneurismas. Portanto, o remodelamento ventricular afeta profundamente a função ventricular e está associado ao aumento da mortalidade, a maior incidência de arritmias e ao pior prognóstico pós-infarto (PFEFFER e BRAUNWALD, 1990; ZORNOFF *et al.*, 2009; FRANGOGIANNIS, 2015).

As manifestações clínicas mais comuns do remodelamento ventricular pós-infarto são: a dilatação ventricular, a redução da espessura da parede e a mudança da forma elíptica do coração para uma forma esférica. As alterações da geometria ventricular favorecem o aumento do estresse parietal ventricular, que associado a outros fatores (ativação do SNS e do SRAA e a liberação de vários fatores de crescimento e peptídeos), provavelmente induz a hipertrofia no coração pós-infarto (ZORNOFF *et al.*, 2009; SINGAL *et al.*, 1999).

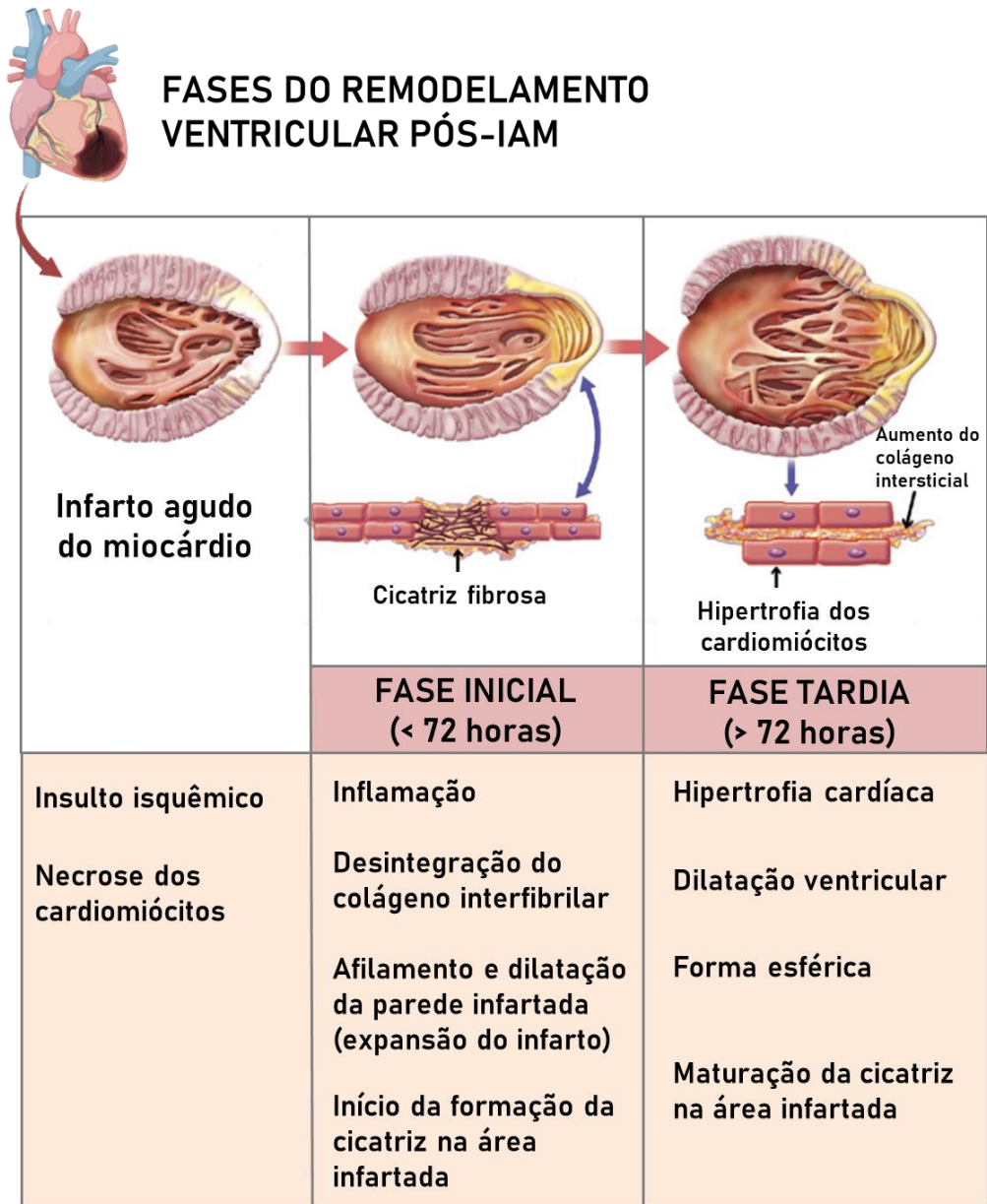
Embora os mecanismos envolvidos no remodelamento ventricular pós-infarto ainda não estejam completamente esclarecidos, destacam-se alguns potenciais mecanismos relacionados: alteração da expressão de genes do período fetal, as alterações das proteínas contráteis, as alterações do trânsito de cálcio, as alterações do metabolismo energético, a morte celular, a inflamação, a fibrose, o estresse oxidativo e a ativação neuro-humoral (AZEVEDO *et al.*, 2015; COHN *et al.*, 2000). A Figura 3 ilustra e resume a definição, as manifestações clínicas e os mecanismos envolvidos no remodelamento ventricular após o IAM.

O remodelamento ventricular usualmente inicia-se algumas horas após o infarto e envolve um grupo progressivo de alterações que ocorrem tanto na zona infartada quanto não-infartada do coração (COHN *et al.*, 2000; BHATT *et al.*, 2017). Cronologicamente, o remodelamento ventricular pode ser dividido em duas fases: a fase inicial (primeiras 72 horas pós-infarto) e a fase tardia (além das 72 horas pós-infarto). A fase inicial é marcada pelos seguintes eventos: infiltrado inflamatório, desintegração do colágeno interfibrilar, adelgaçamento e dilatação da área infartada (evento conhecido como expansão do infarto) e início da cicatrização da área infartada. A fase tardia do remodelamento está associada a uma série de mudanças, dentre as quais se destacam: a hipertrofia excêntrica desenvolvida no miocárdio remanescente (não-infartado), a dilatação ventricular, a mudança da forma ventricular elíptica para uma forma mais esférica e a maturação da cicatriz na área infartada (BHATT *et al.*, 2017; SUTTON e SHARPE, 2000; KONSTAM *et al.*, 2011; BLANKESTEIJN *et al.*, 2001). Essas alterações cardíacas aumentam o estresse parietal ventricular. Caso esse aumento de estresse de parede não seja normalizado, ocorrerá a

dilatação progressiva da câmara ventricular, o recrutamento do miocárdio da zona limítrofe para a cicatriz e a deterioração da função contrátil (SUTTON e SHARPE, 2000). A Figura 4 ilustra os eventos que ocorrem durante as fases inicial e tardia do remodelamento ventricular pós-infarto.



**Figura 3.** Remodelamento ventricular após o IAM (esquema baseado nas seguintes fontes: AZEVEDO *et al.*, 2015; COHN *et al.*, 2000; ROULEAU *et al.* 1991).



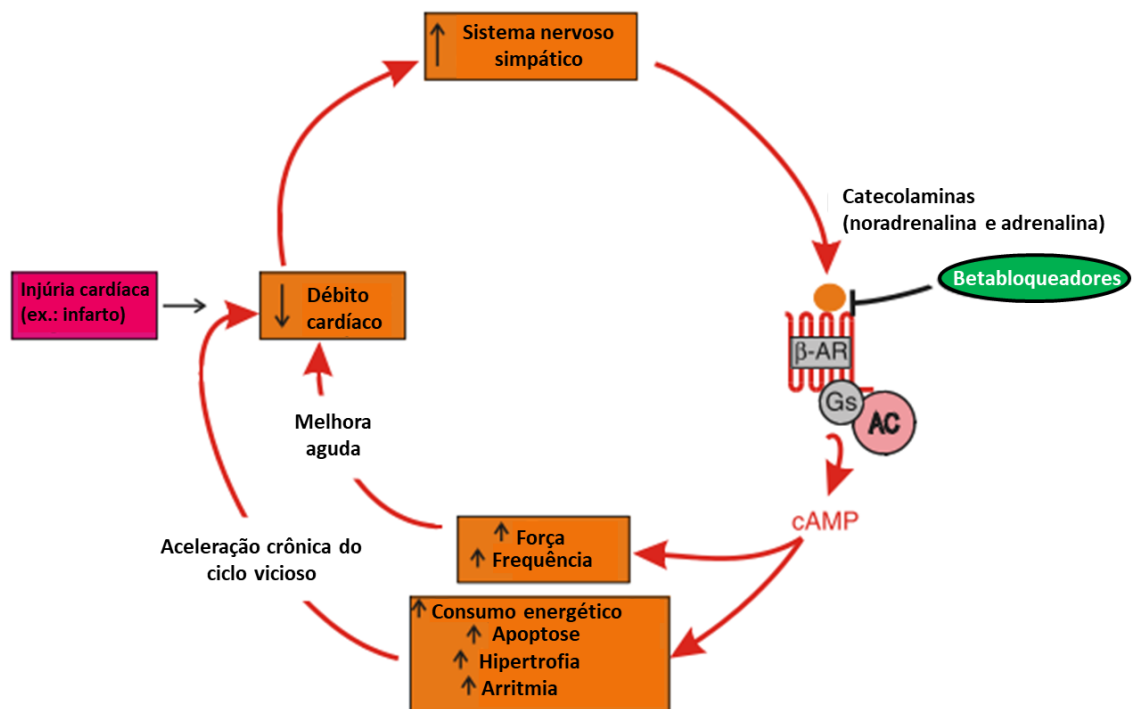
**Figura 4.** Fases do remodelamento ventricular após o IAM (esquema baseado nas seguintes fontes: KONSTAM *et al.*, 2011; BHATT *et al.*, 2017; SUTTON e SHARPE, 2000; BLANKESTEIJN *et al.*, 2001).

É importante ressaltar que o remodelamento ventricular é inicialmente uma resposta adaptativa a qual visa manter a função cardíaca o mais próximo da normalidade. Entretanto, com o decorrer do tempo, o remodelamento torna-se mal-adaptativo, levando à progressiva descompensação e à IC (TAKANO *et al.*, 2003).

Considerando os mecanismos intracelulares envolvidos no remodelamento ventricular pós-infarto, o presente trabalho destaca os seguintes mecanismos: a ação da via beta-adrenérgica, a apoptose e a inflamação. Com isso, os próximos tópicos irão abordar detalhadamente como essas vias intracelulares atuam no coração pós-infarto.

### 1.1.7 Sinalização beta-adrenérgica no coração pós-infarto

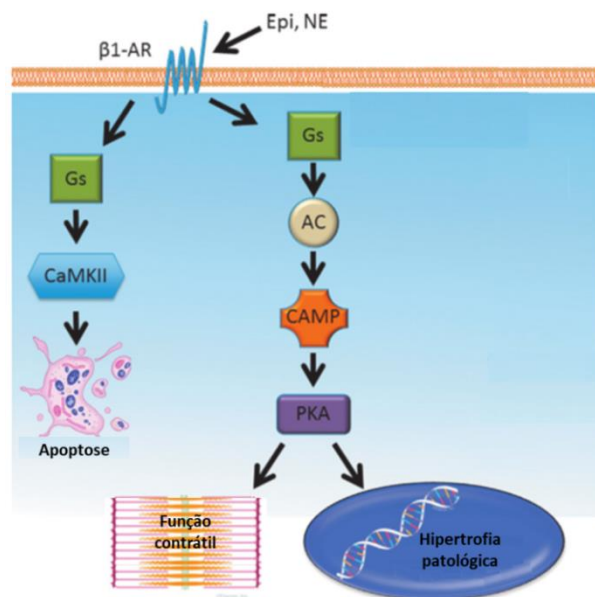
Como discutido brevemente na seção 1.1.5, os pacientes com IAM apresentam ativação dos sistemas neuro-humorais quase que imediatamente após o insulto isquêmico, sendo um desses sistemas, o sistema nervoso simpático (ROULEAU *et al.*, 1991). Após a morte de parte do tecido cardíaco, ocorre a diminuição do débito cardíaco o que serve de sinal para a liberação de catecolaminas (CAs) pela medula da glândula adrenal e pelos terminais nervosos simpáticos, aumentando os níveis plasmáticos de CAs. As CAs (ex.: noradrenalina e adrenalina), então, ligam-se aos receptores beta-adrenérgicos ( $\beta$ -AR) expressos no coração, provocando uma resposta inotrópica, lusitrópica e cronotrópica positiva, ou seja, aumentando a força de contração, o relaxamento e a frequência cardíaca, respectivamente. Essas respostas visam inicialmente aumentar o débito cardíaco e manter a hemodinâmica cardíaca após o IAM. Entretanto, cronicamente, esses efeitos levam ao aumento do consumo energético pelo miocárdio, à hipertrofia cardíaca, à ativação da apoptose e à arritmia. Essas ações sobre o coração deterioram ainda mais sua função, produzindo um “ciclo vicioso” (Figura 5) (SUTTON e SHARPE, 2000; EL-ARMOUCHE e ESCHENHAGEN, 2009; NAFAJI *et al.*, 2016).



**Figura 5.** Resposta do sistema nervoso simpático após o IAM e seu efeito agudo e crônico sobre o coração (adaptado de EL-ARMOUCHE e ESCHENHAGEN, 2009).

Existem três subtipos de  $\beta$ -AR: receptor beta1-adrenérgico ( $\beta$ 1-AR), receptor beta2-adrenérgico ( $\beta$ 2-AR) e receptor beta3-adrenérgico ( $\beta$ 3-AR) (LUCIA *et al.*, 2018). O  $\beta$ 1-AR é predominante no coração humano (70-80%) (EL-ARMOUCHE e ESCHENHAGEN, 2009). A ligação de agonistas (ex.: CAs) no  $\beta$ 1-AR ativa seus efeitos funcionais principalmente através da modulação das proteínas do manejo do cálcio (NAJAFI *et al.*, 2016; LUCIA *et al.*, 2018).

O efeito da estimulação beta-adrenérgica no coração em situações de doenças cardiovasculares está representado na Figura 6. Nessa figura, é possível visualizar que a ligação de catecolaminas no  $\beta$ 1-AR ativa tanto a proteína cinase A (PKA) quanto a proteína cinase dependente de cálcio/calmodulina (CaMKII). Enquanto a ação da PKA estimula a hipertrofia patológica, a resposta contrátil e outras funções chave na célula, a ação da CaMKII ativa a apoptose da célula (BERTHIAUME *et al.*, 2016).



**Figura 6.** Sinalização beta1-adrenérgica no coração em situações de doenças cardiovasculares (adaptado de BERTHIAUME *et al.*, 2016).

A estimulação beta-adrenérgica é importante para o aumento do débito cardíaco em situações de exercício ou de estresse (XIAO *et al.*, 2004). Em situações de estresse envolvendo doenças cardíacas, a ativação simpática via estimulação beta-adrenérgica é inicialmente uma resposta compensatória que visa à manutenção da hemodinâmica cardíaca e da perfusão tecidual (GRASSI *et al.*, 2015). No entanto, a estimulação sustentada dos  $\beta$ -AR colabora para o remodelamento ventricular adverso através, por exemplo, do estímulo à

hipertrofia patológica e à apoptose, contribuindo desta forma para o desenvolvimento da IC (XIAO *et al.*, 2004). Além disso, já foi possível verificar a correlação da estimulação sustentada beta-adrenérgica com a disfunção ventricular esquerda (NAFAJI *et al.*, 2016). Portanto, considerando o quadro do IAM, fatores que contribuem para uma estimulação sustentada dos  $\beta$ -AR favorecem o remodelamento ventricular adverso, bem como a disfunção cardíaca.

### 1.1.8 Apoptose no coração pós-infarto

A apoptose é uma forma de morte celular programada, sendo considerada um processo fisiológico importante que ocorre durante o desenvolvimento e o envelhecimento. Ela age como mecanismo homeostático de manutenção da população celular nos tecidos, bem como exerce um mecanismo de defesa em reações imunes ou quando ocorre dano celular em casos de doença ou por agentes nocivos (ELMORE, 2007). Entretanto, a apoptose inadequada ou excessiva das células pode contribuir para a patogênese de doenças cardíacas, como o IAM (WHELAN *et al.*, 2010).

Após muitos estudos em humanos e em animais em que se avaliou o papel da apoptose no IAM, foi possível identificar os seguintes achados: (1) a apoptose é a principal forma de morte celular produzida após a oclusão da artéria coronária; (2) a necrose acompanha a apoptose, ocorrendo principalmente em células com a via apoptótica ativada (necrose secundária); (3) o pico da apoptose é 4,5 horas, enquanto a necrose atinge seu pico 24 horas após o infarto; (4) a apoptose é 30 vezes mais comum que a necrose durante 2 e 4,5 horas após o infarto; (5) a apoptose demonstra-se presente 7 dias pós-infarto, enquanto a necrose já não é mais identificada (ABBATE *et al.*, 2006). Enquanto a necrose é clinicamente mais evidente em termos de sintomas, de sinais eletrocardiográficos e de elevação de biomarcadores celulares, a apoptose é geralmente silenciosa e não reconhecida. Entretanto, estudos mostram que a apoptose é a principal forma de morte celular após o IAM (KAJSTURA *et al.*, 1996). A taxa de apoptose permanece elevada por meses após o IAM, tanto na região peri-infarto quanto na região remota do miocárdio. A perda progressiva de células da região peri-infarto vem associada ao afinamento progressivo da parede infartada, à dilatação cardíaca e ao desenvolvimento da IC sintomática (ABBATE *et al.*, 2006). Portanto,

a apoptose é um contribuinte importante no processo do remodelamento ventricular (TAKEMURA e FUJIWARA, 2004).

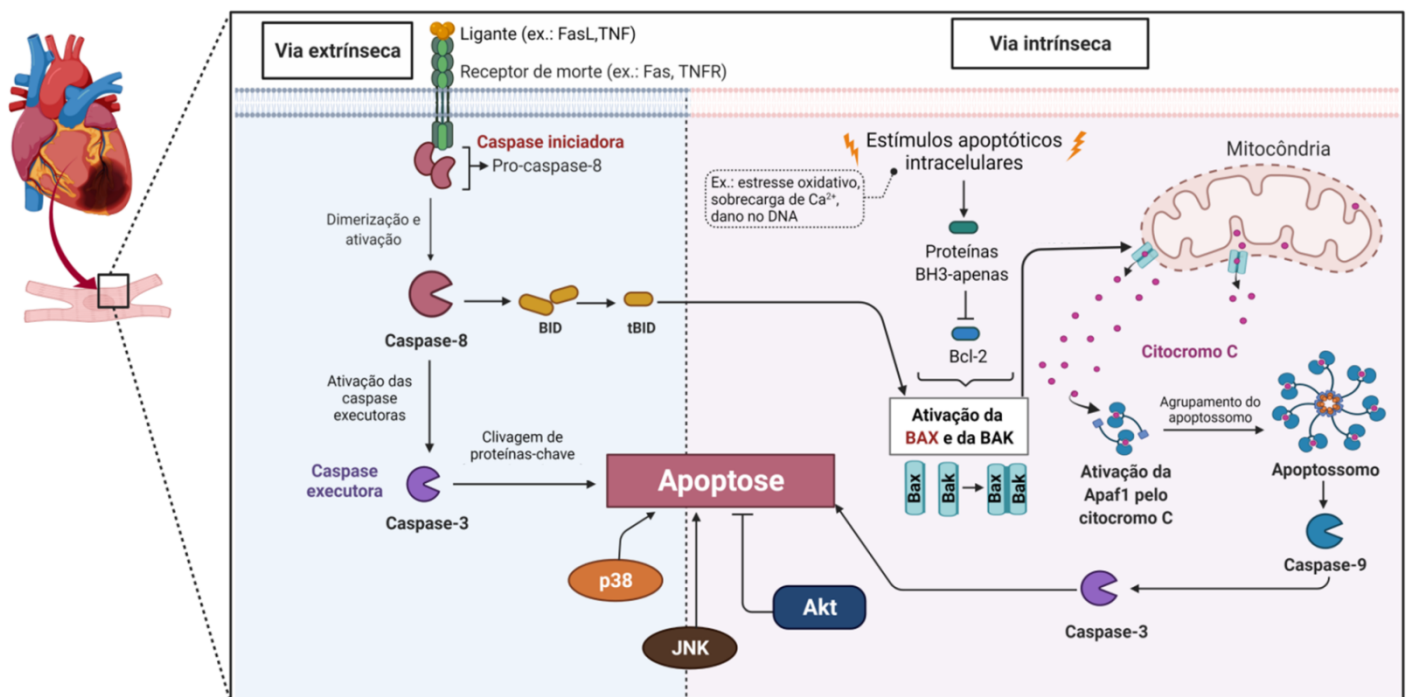
A apoptose é mediada por duas vias: a via extrínseca e a via intrínseca (Figura 7). A via extrínseca utiliza receptores de superfície celular. A via intrínseca envolve a mitocôndria e o retículo endoplasmático. Ambas as vias levam à ativação das caspases. Esta ativação induz posterior clivagem de várias proteínas celulares, desencadeando a consequente morte apoptótica da célula (WHELAN *et al.*, 2010).

A via extrínseca é ativada pela ligação de ligantes extracelulares [ex.: ligante Fas (FasL); fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )] a receptores de morte na superfície da célula. Esta ligação promove a dimerização e ativação das caspases iniciadoras (ex.: caspase-8) as quais irão ativar as caspases executoras (ex.: caspase-3). As caspases executoras são responsáveis por clivar várias proteínas-chave intracelulares (ex.: proteínas inibidoras de endonucleases; componentes do citoesqueleto; entre outras), levando a mudanças dramáticas que levam à morte celular (ALBERTS, 2017). Além disso, a caspase-8 ativada também cliva a proteína Bid em proteína Bid truncada (tBid) a qual se transloca para a mitocôndria para ativar eventos apoptóticos mitocondriais. Desta forma, a clivagem de Bid pela caspase-8 conecta a via extrínseca com a via intrínseca da apoptose (WHELAN *et al.*, 2010).

A via intrínseca da apoptose é desencadeada por estímulos apoptóticos intracelulares como estresse oxidativo, sobrecarga de cálcio, dano no DNA, entre outros (XIA *et al.*, 2016). Tais estímulos induzem a ativação de proteínas efetoras da família Bcl-2 pró-apoptóticas, como a Bax e a Bak. A Bak fica ligada à membrana externa mitocondrial, enquanto que a Bax fica localizada no citoplasma; porém, quando há o estímulo apoptótico intracelular, a Bax transloca-se para a mitocôndria. Com isso, a Bax e a Bak se agregam para formar oligômeros na membrana externa da mitocôndria, permitindo assim a liberação do citocromo c, proteína-chave da via intrínseca. Quando o citocromo c é liberado da mitocôndria para o citoplasma, ele liga-se à proteína Apaf1 (fator 1 de ativação da protease apoptótica), promovendo a oligomerização de Apaf1, dando origem ao apoptossomo. As proteínas Apaf1 no apoptossomo recrutam as caspases iniciadoras as quais ativam as caspases executoras para induzir apoptose da célula. Além das proteínas pró-apoptóticas, existem as proteínas da família Bcl-2 antiapoptóticas, como a Bcl-2 e a Bcl-X<sub>L</sub>. Essas moléculas inibem a apoptose pela ligação e inibição de proteínas da família Bcl-2 pró-apoptóticas, impedindo, por exemplo, a oligomerização da Bak e da Bax e a consequente liberação do citocromo c. Entretanto, quando há a presença de um estímulo pró-apoptótico, as proteínas BH3- apenas são ativadas e passam a inibir as proteínas da família Bcl-2 antiapoptóticas, permitindo assim



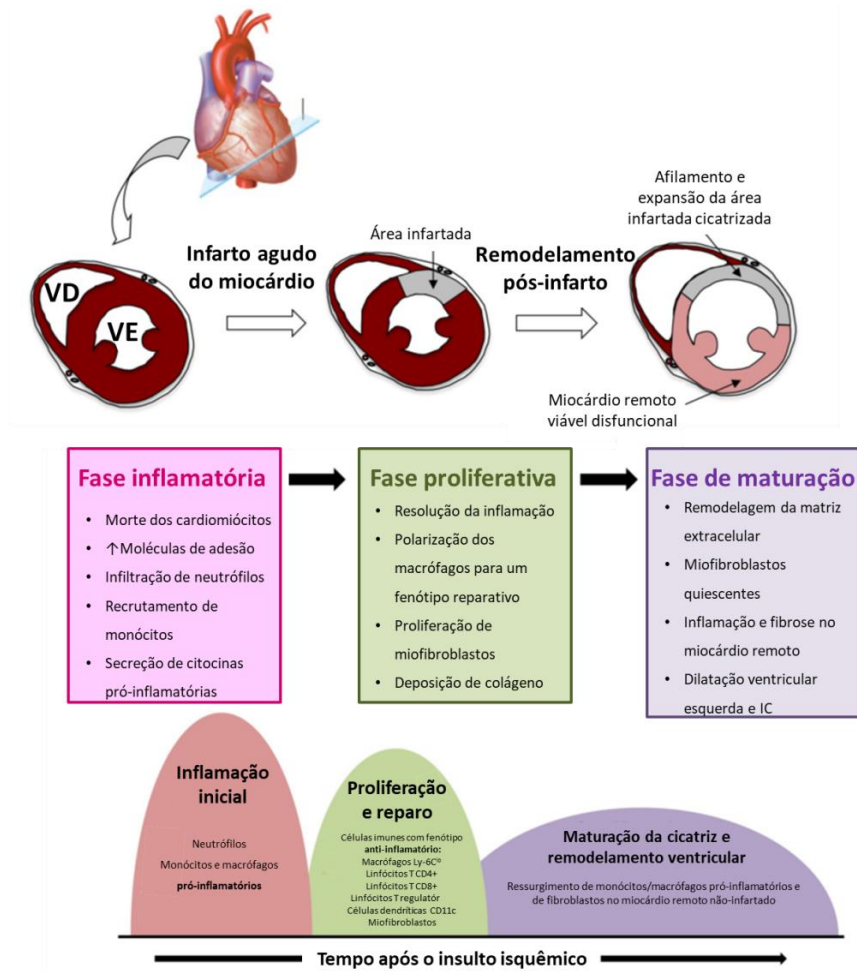
a agregação de Bax e Bak na superfície da mitocôndria e a consequente liberação do citocromo c e outras proteínas mitocondriais que induzem a apoptose da célula (ALBERTS, 2017). A via intrínseca da apoptose tem um papel central no IAM (WHELAN *et al.*, 2010) na qual a proteína pró-apoptótica Bax é uma das proteínas regulatórias. Além da Bax, existem também as proteínas cinases ativadas por mitógenos (MAPK), entre as quais a c-Jun N-terminal quinase (JNK) e a p38 também estão associadas à apoptose após o insulto isquêmico (REN *et al.*, 2005; FERRANDI *et al.*, 2004).



**Figura 7.** Apoptose: via extrínseca e via intrínseca (esquema baseado nas seguintes fontes: ALBERTS, 2017; KRIJNEN *et al.*, 2002). Imagem criada a partir do aplicativo BioRender.com

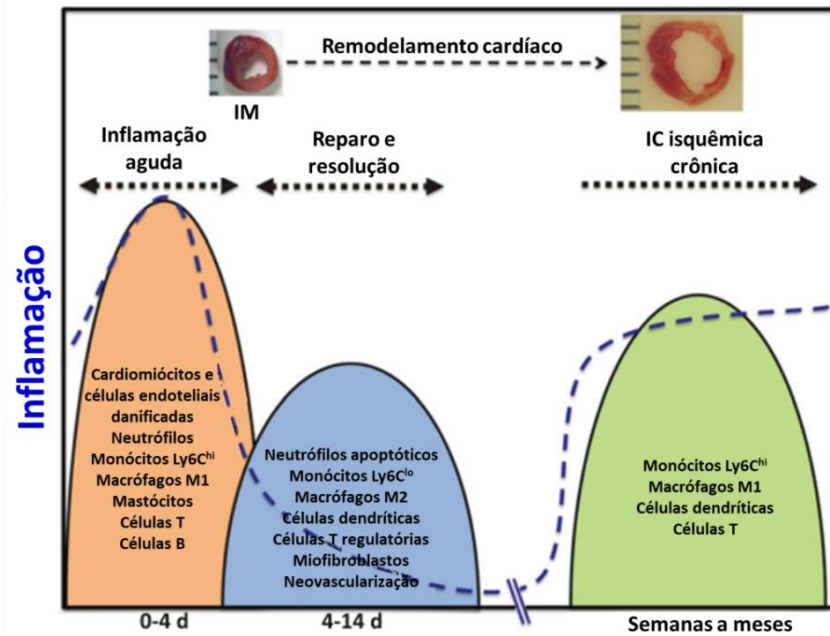
### 1.1.9 Inflamação no coração pós-infarto

A inflamação é uma importante resposta imune inata a processos infecciosos ou a danos teciduais (WANG *et al.*, 2018). Considerando o quadro de IAM, a resposta inflamatória é importante para o processo de remoção de células mortas e da matriz extracelular danificada, bem como para a cicatrização da área infartada. Entretanto, uma resposta inflamatória excessiva favorece o remodelamento ventricular adverso e o desenvolvimento da IC (FANG *et al.*, 2015; ONG *et al.*, 2018).



**Figura 8.** Fases do reparo cardíaco após o IAM (adaptado de WEIL e NEELAMEGHAM, 2019).

Após o IAM, o reparo cardíaco envolve uma série de eventos cronológicos orquestrados pelo sistema imune inato e pode ser dividido em três fases (Figura 8): (1) a fase inflamatória, marcada pela intensa inflamação estéril e pela infiltração de células imunes (ex.: neutrófilos e monócitos) que removem as células mortas e a matriz extracelular danificada presente no miocárdio; (2) a fase reparadora e proliferativa, marcada pela resolução e supressão da inflamação, pela proliferação de miofibroblastos e pela deposição de colágeno que leva à formação de cicatriz; e (3) a fase de maturação, marcada pelo processo de maturação da cicatriz a qual é caracterizada pela remodelagem da matriz extracelular e quiescência dos miofibroblastos. A resolução apropriada de todas essas fases do reparo cardíaco é fundamental para a geração de uma cicatrização adequada da área infartada (WEIL e NEELAMEGHAM, 2019). Entretanto, casos pós-IAM que desenvolvem dilatação ventricular progressiva e IC são marcados por uma inflamação crônica (Figura 9). A cronicidade do processo inflamatório pode representar uma resolução incompleta ou prejudicada durante a fase reparadora ou, ainda, pode significar uma segunda onda de ativação imune que ressurge em resposta a fatores não bem definidos (PRABHU e FRANGOIANNIS, 2016).



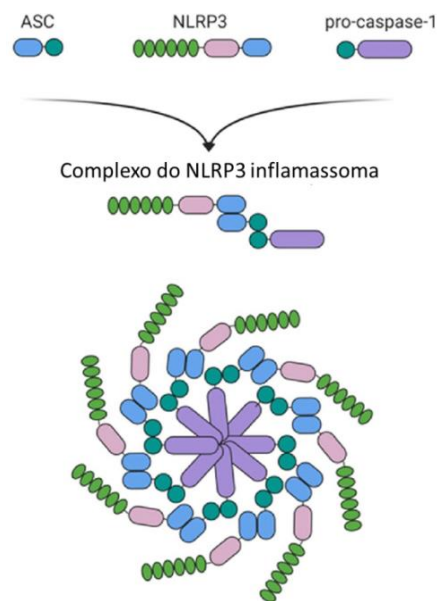
**Figura 9.** Inflamação inicial e tardia após o IAM (adaptado de PRABHU e FRANGOIANNIS, 2016).

Na fase inflamatória do reparo cardíaco pós-infarto, os DAMPs liberados pelas células necróticas e pela matriz danificada ativam os receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) presentes em células do sistema imune inato para ativar mediadores inflamatórios (ex.: citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão celular) (PRABHU e FRANGOIANNIS, 2016). Entre os PRRs, existem os receptores do tipo Toll (TLRs) e os receptores similares ao domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo (NLRs), também conhecidos como receptores do tipo NOD (ONG *et al.*, 2018). Enquanto os TLRs são expressos na membrana das células, os NLRs são expressos no citoplasma, onde formam um complexo proteico chamado inflamassoma que controla a produção de citocinas pró-inflamatórias (PAIVA-OLIVEIRA *et al.*, 2012; TAKAHASHI, 2019).

Entre os TLRs, o receptor do tipo Toll 4 (TLR4) é considerado o receptor chave da resposta inflamatória após o IAM, sendo ativado por DAMPs liberados pelos cardiomiócitos necróticos e pela matriz danificada (FANG *et al.*, 2015). A via de sinalização do TLR4 envolve proteínas como a proteína de resposta primária da diferenciação mieloide 88 (MyD88) e o fator 6 associado ao receptor do fator de necrose tumoral (TRAF6). O objetivo da ativação dessas proteínas é levar à ativação e à translocação do fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) para o núcleo da célula. Uma vez no núcleo, o NF- $\kappa$ B age como um importante fator de transcrição de genes de mediadores pró-inflamatórios (ONG *et al.*, 2018; COGGINS e ROSENZWEIG, 2012). É importante ressaltar que o TLR4 medeia a resposta inflamatória tanto local quanto sistêmica após o IAM (FANG *et al.*, 2015). Além disso, a inibição genética ou farmacológica do TLR4 já se revelou capaz de reduzir a área de infarto e prevenir o

remodelamento ventricular adverso pós-infarto, tornando o TLR4 potencial alvo terapêutico para cardioproteção (ONG *et al.*, 2018).

Outra via inflamatória, que vem sendo investigada como potencial alvo terapêutico na prevenção e tratamento do IAM, é a via do inflamassoma NLRP3. Tal complexo intracelular multiproteico é estruturalmente composto por: um receptor similar ao domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo contendo domínio de pirina 3 (NLRP3); um adaptador ASC (proteína associada à apoptose contendo um domínio CARD); e uma pro-caspase-1 (TAKAHASHI, 2019; TOLDO e ABBATE, 2017; PAIVA-OLIVEIRA *et al.*, 2012) (Figura 10).

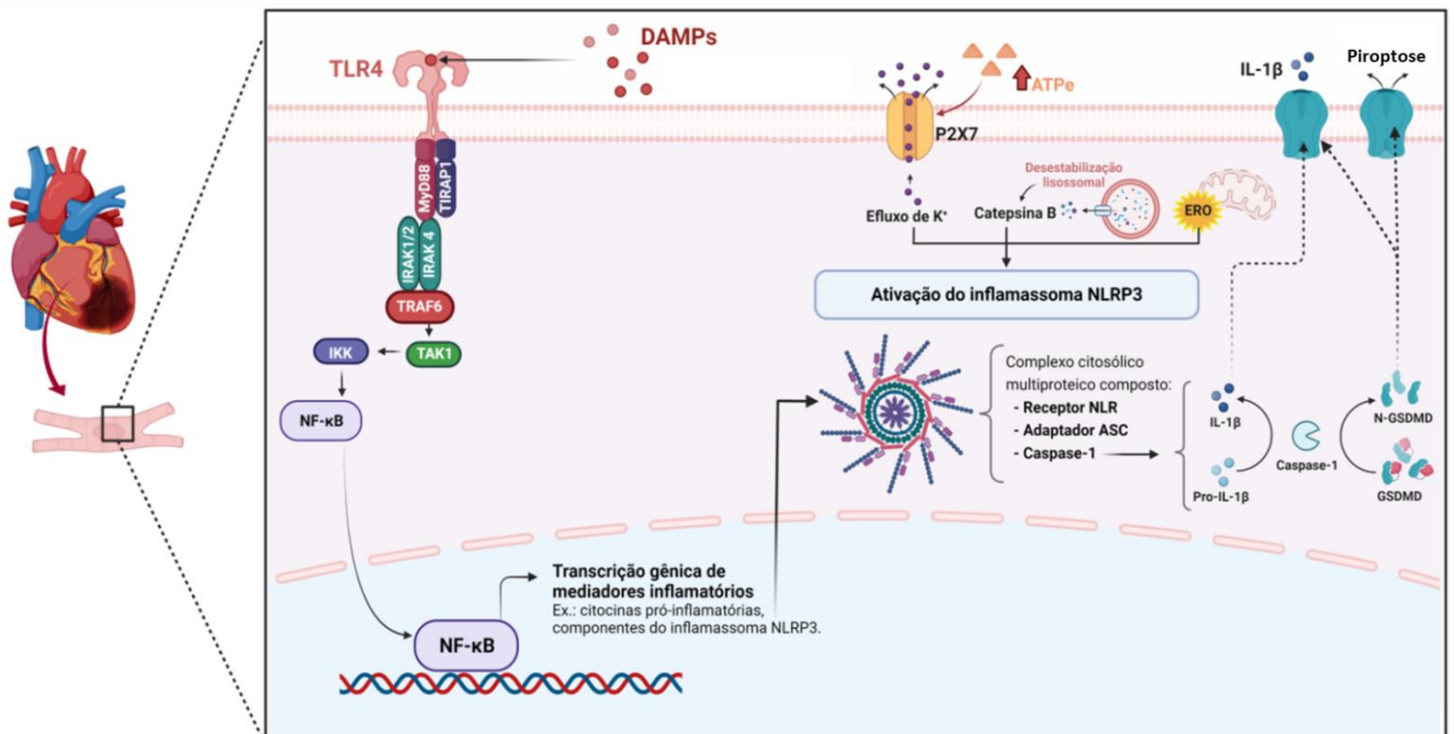


**Figura 10.** Estrutura do inflamassoma NLRP3 (adaptada de SEOK *et al.*, 2021).

A ativação do inflamassoma NLRP3 no coração envolve um modelo de dois-sinais. O primeiro sinal (*priming*) envolve a ativação da via do TLR/NF- $\kappa$ B a qual induz a transcrição dos componentes do inflamassoma e da pro-interleucina 1 beta (pro-IL-1 $\beta$ ). Com os componentes do inflamassoma NLRP3 expressos, o segundo sinal para a ativação do NLRP3 depende dos seguintes estímulos: o efluxo de potássio, a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a liberação de catepsinas induzida pela ruptura lisossomal. Tais estímulos induzem a mudança conformacional do NLRP3, permitindo o recrutamento da proteína adaptadora ASC e da pro-caspase-1, gerando por fim o complexo do inflamassoma NLRP3 ativo. Com isso, a pro-caspase-1 é clivada em sua forma ativa, a caspase-1, a qual age como um efetor enzimático responsável por converter a forma inativa da interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) em ativa (TAKAHASHI, 2019; TOLDO e ABBATE, 2017). Portanto, o inflamassoma

NLRP3 regula a ativação da caspase-1 e a subsequente ativação da citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$ . Além disso, essa via também ativa a morte celular induzida por mediadores pró-inflamatórios, conhecida como piroptose. Diferentemente da apoptose, a morte celular por piroptose está associada ao inchaço celular, ao aumento da permeabilidade da membrana e à ruptura celular, levando à liberação extracelular de mediadores inflamatórios. A perda da integridade da membrana é mediada pela gasdermina D (GSDMD). A GSDMD é clivada pela caspase-1, liberando sua porção N-terminal (N-GSDMD) a qual irá formar poros na membrana, mediando assim a piroptose da célula (TAKAHASHI, 2019). No contexto do IAM, a ativação do inflamassoma NLRP3 colabora para o aumento da área de infarto, recruta células inflamatórias e prejudica a função cardíaca após a isquemia miocárdica (WANG *et al.*, 2018). Por isso, estratégias que visam a inibição do inflamassoma NLRP3 após o IAM vêm sendo objetivo de estudo para o desenvolvimento de terapias cardioprotetoras pós-infarto (TOLDO e ABBATE, 2017).

As vias de sinalização inflamatórias do TLR4 e do inflamassoma NLRP3 foram resumidas e representadas na Figura 11.



**Figura 11.** Vias de inflamação analisadas neste trabalho: via do TLR4/NF- $\kappa$ B e via do NLRP3 inflamassoma (esquema baseado nas seguintes fontes: PRABHU e FRANGOIANNIS, 2016; TOLDO e ABBATE, 2017; TAKAHASHI, 2019). Imagem criada a partir do aplicativo BioRender.com

### 1.1.10 Proteínas cardioprotetoras

Enquanto a morte celular e a inflamação são fatores determinantes para o pior prognóstico pós-infarto, contribuindo para o remodelamento ventricular adverso (AZEVEDO *et al.*, 2015; COHN *et al.*, 2000), a ativação de vias de sinalização que estimulam a sobrevivência celular contribuem para a cardioproteção. No contexto cardíaco, a via de sinalização da Akt está envolvida em vários processos celulares, como na regulação da sobrevivência, do crescimento celular, da angiogênese e do metabolismo (SUSSMAN *et al.*, 2011). Ainda, o fator induzido por hipóxia 1-alfa (HIF-1 $\alpha$ ) também é considerado um alvo terapêutico para cardioproteção, uma vez que está envolvido na transcrição de genes, muitos dos quais são críticos para a sobrevivência celular (ONG e HAUSENLOY, 2012). Por conseguinte, as próximas seções irão abordar brevemente informações gerais sobre estas proteínas cardioprotetoras, a Akt e o HIF-1 $\alpha$ , bem como seu papel no contexto do IAM.

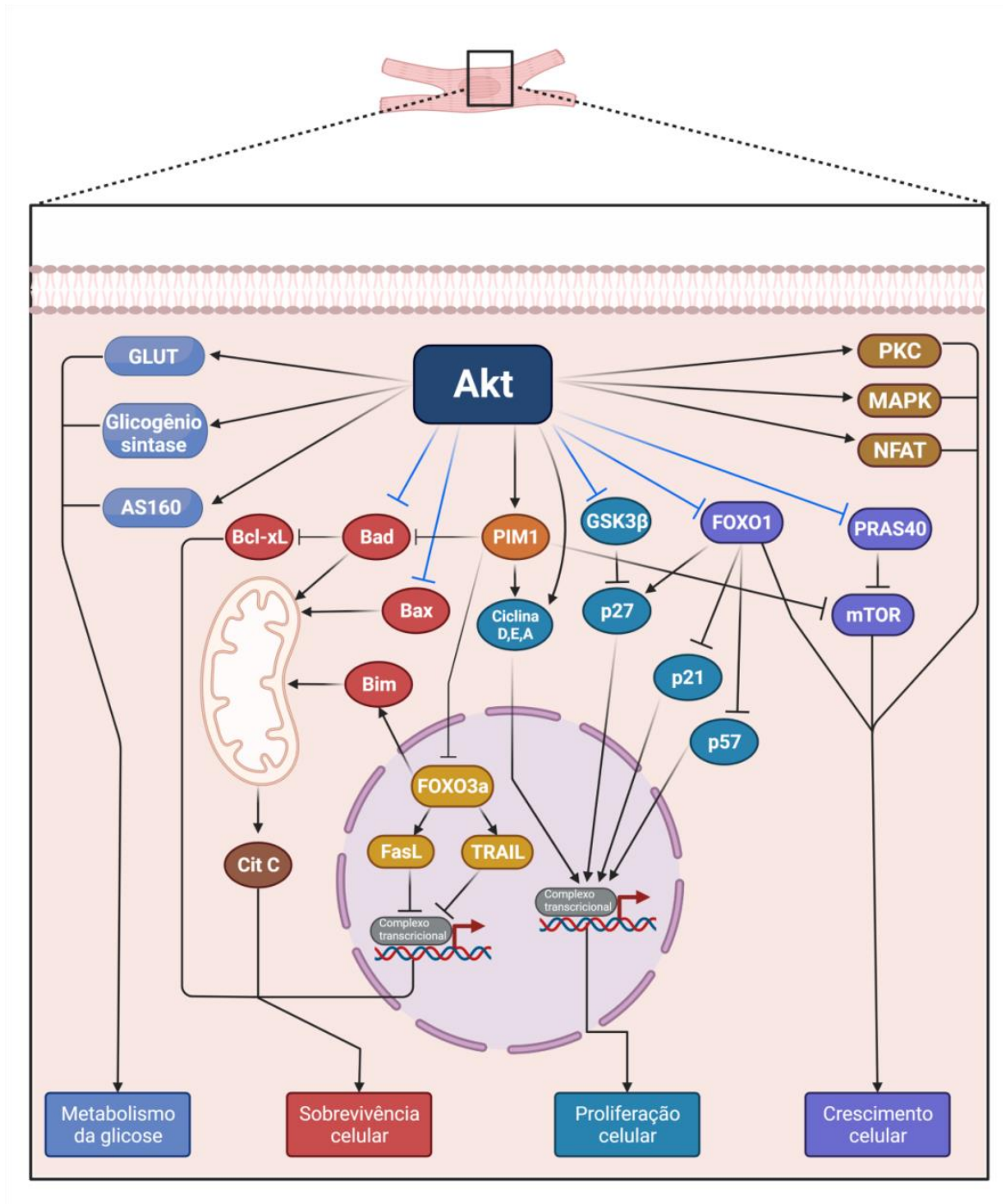
#### 1.1.10.1 Akt

A proteína Akt, também conhecida como proteína cinase B (PKB), é uma proteína cinase serina/treonina que regula vários mecanismos celulares, como o metabolismo, a proliferação, a sobrevivência, o crescimento e a angiogênese. Quando a Akt está ativa, ela regula tais mecanismos por meio da fosforilação dos resíduos de serina e/ou treonina de várias proteínas. A fosforilação mediada pela Akt pode ter vários efeitos sobre as proteínas-alvo, incluindo inibição ou estimulação de atividade, alteração de localização celular, proteção contra degradação ou, ainda, regulação de ligação a outras proteínas (HERS *et al.*, 2011). Existem vários fatores que ativam a via de sinalização da Akt, tais como hormônios (ex.: hormônios da tireoide), citocinas, drogas, agentes dietéticos, enzimas, integrinas, entre outros (SUSSMAN *et al.*, 2011).

A ativação da Akt possui também um papel cardioprotetor (SUSSMAN *et al.*, 2011). Sua ativação exerce efeito antiapoptótico por meio de fosforilação da Bax, levando à inibição da translocação dessa proteína para a mitocôndria e, assim, prevenindo a ativação da apoptose na célula (YAMAGUCHI e WANG, 2001) (Figura 12). Matsui e colegas demonstraram que ativação da Akt foi capaz preservar a função cardíaca e reduzir a área de infarto e o número



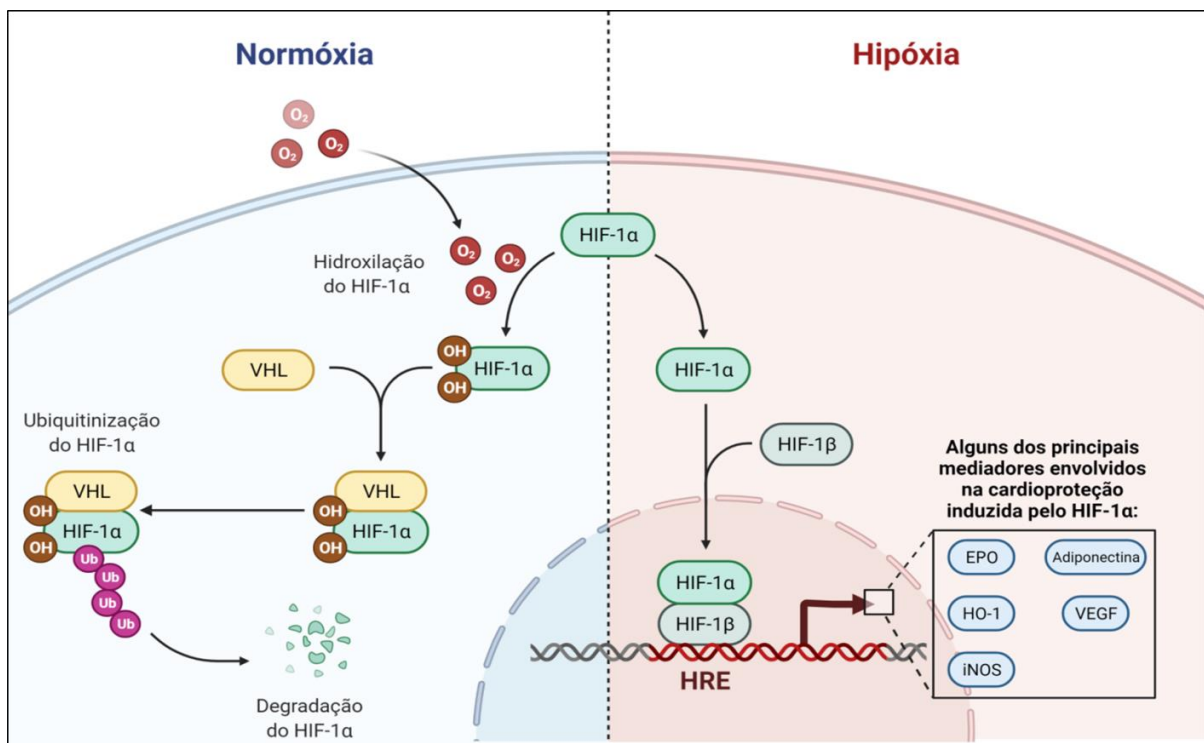
de células apoptóticas no coração de ratos submetidos à isquemia cardíaca (MATSUI *et al.*, 2001).



**Figura 12.** Via de sinalização da Akt no coração (adaptada de SUSSMAN *et al.*, 2011). Imagem criada no aplicativo BioRender.com

### 1.1.10.2 HIF-1 $\alpha$

O fator induzível por hipóxia (HIF) é um fator de transcrição sensível aos níveis de oxigênio que permite organismos aeróbicos se adaptarem em situações de hipóxia (ONG e HAUSENLOY, 2012). O HIF é um heterodímero composto pelas subunidades  $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) e  $\beta$  (HIF-1 $\beta$ ). A expressão da subunidade  $\beta$  é independente da concentração de oxigênio ao passo que a expressão da subunidade  $\alpha$  é regulada pelos níveis de oxigênio celular. Sob condições de normóxia, o HIF-1 $\alpha$  sofre hidroxilação pela enzima do domínio prolin-4-hidroxilase (PHD) e subsequente ubiquitinação e degradação proteossomal via proteína von Hippel-Lindau (VHL). Já em condições de hipóxia, a enzima PHD é inibida, o HIF-1 $\alpha$  não é hidroxilado, não sendo posteriormente ubiquitinado e degradado. Assim, o HIF-1 $\alpha$  acumula no interior da célula e é, então, translocado para o núcleo, onde dimeriza com o HIF-1 $\beta$ . Esse complexo HIF-1 $\alpha/\beta$  liga-se às sequências de elementos responsivos à hipóxia (HRE) dos genes alvo, induzindo sua expressão (ONG e HAUSENLOY, 2012; FIALHO *et al.*, 2019; LOOR e SCHUMACKER, 2008) (Figura 13).



**Figura 13.** Regulação da atividade do HIF-1 $\alpha$  (esquema baseado no trabalho de ONG e HAUSENLOY, 2012). Imagem criada no aplicativo BioRender.com



O HIF ativa a transcrição gênica de mais de 200 genes que estão envolvidos com diversos mecanismos de adaptação a condições de hipóxia, como a regulação do metabolismo energético, da eritropoese e da angiogênese. Em uma situação de isquemia cardíaca, na qual o coração é submetido a condições de hipóxia, a sinalização do HIF-1 $\alpha$  é estimulada e está associada a melhor tolerância miocárdica a injúria isquêmica. Isso se deve aos efeitos cardioprotetores proporcionados pelos genes-alvo do HIF-1 $\alpha$ , entre os quais podem ser citados a eritropoietina (EPO), a heme-oxigenase-1 (HO-1), a óxido nítrico sintase induzível (iNOS), a adiponectina e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (ONG e HAUSENLOY, 2012; FIALHO *et al.*, 2019).

O papel do HIF-1 $\alpha$  como mediador da cardioproteção tem sido investigado mediante o uso de várias estratégias experimentais genéticas e farmacológicas (ONG e HAUSENLOY, 2012). Em modelo animal transgênico submetido ao infarto do miocárdio, Kido e colegas demonstraram que a expressão constitutiva do HIF-1 $\alpha$  aumentada foi capaz de atenuar a área de infarto e melhorar a função cardíaca 4 semanas após o infarto. Além disso, eles também verificaram que o HIF-1 $\alpha$  promoveu a angiogênese no coração pós-infarto (KIDO *et al.*, 2005). Da mesma forma, Jianqiang e colegas, mediante um modelo animal de infarto do miocárdio, juntamente ao tratamento com um vetor viral recombinante expressando o HIF-1 $\alpha$ , verificaram redução da área de infarto, melhora da função cardíaca e maior densidade capilar nos animais que tinham expressão aumentada de HIF-1 $\alpha$  em relação aos controles (JIANQIANG *et al.*, 2015). Além desses achados, também existe uma relação do papel do HIF na inflamação o qual é complexo e específico para cada tipo celular. Entretanto, a ativação farmacológica da via de sinalização do HIF *in vivo* parece gerar efeitos anti-inflamatórios (CUMMINS *et al.*, 2016). Chen e colaboradores, por sua vez, verificaram que a ativação farmacológica do HIF-1 $\alpha$  atenuou o dano inflamatório miocárdico e melhorou a função cardíaca via inibição das vias inflamatória do TLR4/MyD88/NF-kB e do NLRP3 na microembolização coronariana (CHEN *et al.*, 2020). Portanto, a ativação do HIF-1 $\alpha$  demonstra um potencial terapêutico no tratamento da isquemia miocárdica (FIALHO *et al.*, 2019).

### 1.1.11 Tratamento no IAM

A abordagem inicial do paciente com dor torácica aguda e suspeita de IAM envolve a realização do ECG para identificação imediata das alterações no segmento ST. Em condições ideais, o ECG deve ser realizado e interpretado no atendimento pré-hospitalar ou em até 10 minutos depois da admissão hospitalar (NICOLAU *et al.*, 2021). Essa avaliação é importante para a estratificação dos pacientes em dois grupos: grupo de pacientes com IAM com elevação do segmento ST (IAMCST) e grupo de pacientes com IAM sem elevação do segmento ST (IAMSST). Os pacientes com elevação do segmento ST ou bloqueio de ramo esquerdo (BRE) são candidatos à terapia de reperfusão imediata (NICOLAU *et al.*, 2021; PIEGAS *et al.*, 2015).

O tratamento inicial do IAM resume-se na administração de oxigênio (em pacientes com saturação de oxigênio < 94%, com congestão pulmonar ou presença de desconforto respiratório) e no alívio da dor (com sulfato de morfina endovenosa ou nitratos). Ainda, terapia antiplaquetária (ácido acetilsalicílico, clopidogrel, prasugrel ou ticagrelor), anticoagulantes, betabloqueadores, bloqueadores dos canais de cálcio, bloqueadores do SRAA (ex.: inibidores da enzima conversora da angiotensina) e estatinas também são terapias farmacológicas utilizadas no manejo do IAM com o intuito de reduzir eventos cardiovasculares maiores (PIEGAS *et al.*, 2015).

Ao longo das últimas três décadas, a introdução de estratégias terapêuticas que visam recuperar o fluxo sanguíneo coronariano e prevenir eventos trombóticos recorrentes demonstraram melhoras significativas para o prognóstico dos pacientes com IAM (FRANGOIANNIS, 2015). As terapias de reperfusão, química (com uso de fibrinolíticos) ou mecânica (intervenção coronária percutânea), implementadas nos casos de pacientes com IAMCST, melhoram consideravelmente a sobrevida dos pacientes, reduzindo a extensão da necrose miocárdica (PIEGAS *et al.*, 2015; FRANGOIANNIS, 2015). Entretanto, ainda é iminente a necessidade do desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que visem melhorar diretamente a lesão miocárdica, o reparo e o remodelamento ventricular no coração infartado (FRANGOIANNIS, 2015). Além do seu desenvolvimento, é imprescindível, também, a compreensão dos mecanismos pelos quais essas terapias exercem seu efeito cardioprotetor. Nesse contexto, o presente estudo avaliou a proposta terapêutica da coadministração de carvedilol e dos hormônios da tireoide no coração pós-infarto, bem como

os possíveis mecanismos intracelulares pelos quais essa terapia exerce seu efeito cardioprotetor.

## 1.2 PROPOSTA TERAPÊUTICA: COADMINISTRAÇÃO DE CARVEDILOL E DOS HORMÔNIOS DA TIREOIDE

### 1.2.1 Hormônios da tireoide

Os hormônios da tireoide (HT) são essenciais para a regulação do desenvolvimento, do crescimento e do metabolismo em uma variedade de tecidos (BASSET *et al.*, 2003; HAFE *et al.*, 2019). A glândula da tireoide é responsável pela síntese e secreção de dois principais hormônios tireoidianos: a 3,5,3'-triiodotironina (T3) e a 3,5,3',5'-tetraiodotironina, também conhecida como tiroxina (T4). O T4 compreende 90% da secreção tireoidiana, enquanto a secreção do T3 compõe os 10% restante. A maior parte do T3 é gerado periféricamente pela conversão do T4 em T3, por meio da ação das enzimas deiodinases do tipo 1 e do tipo 2 (HAFE *et al.*, 2019; JABBAR *et al.*, 2016). Tanto o T3 quanto o T4 geram efeitos biológicos nos tecidos responsivos mediante ligação aos receptores dos hormônios da tireoide (TRs); porém, o T3 é considerado o hormônio biologicamente mais ativo. A afinidade dos TRs é aproximadamente 10 vezes maior pelo T3 que pelo T4. Por isso, o T4 precisa ser convertido a T3 para produzir os efeitos biológicos dos HT (JABBAR *et al.*, 2016).

Considerando o mecanismo de ação clássico dos HT, uma vez no interior da célula-alvo, o T3 migra para o núcleo da célula e regula a expressão gênica ligando-se a uma das isoformas dos receptores nucleares dos hormônios da tireoide, à isoforma alfa (TR $\alpha$ ) ou à isoforma beta (TR $\beta$ ). Esses receptores reconhecem uma sequência específica do DNA, chamada elementos responsivos ao hormônio da tireoide (TRE), a qual é encontrada na região promotora dos genes-alvo dos HT. Com a ligação do T3 aos TRs, ocorre a ativação ou repressão da transcrição gênica e a subsequente regulação da síntese de proteínas (BASSET *et al.*, 2003; YEN, 2001).

Os HT são necessários para o funcionamento normal de praticamente todos os tecidos (YEN, 2001). Por isso, os HT são considerados fundamentais na homeostase cardiovascular (HAFE *et al.*, 2019). Os efeitos cardiovasculares desencadeados pela ação dos HT incluem:

aumento da força e velocidade de contração, da frequência cardíaca, da velocidade de relaxamento, da angiogênese arteriolar coronariana, assim como diminuição da resistência vascular, incluindo o tônus vascular coronariano (GRAIS e SOWERS, 2014; KAHALY e DILLMANN, 2005). Muitos desses efeitos dos HT sobre o sistema cardiovascular apresentam relevância terapêutica para isquemia cardíaca; logo, os HT vêm sendo considerados potenciais agentes terapêuticos no tratamento dessa doença (PANTOS *et al.*, 2008).

Para sustentar a relação entre os HT e as doenças cardíacas, é importante destacar que baixos níveis de T3 já foram descritos em pacientes com IAM (FRANKLYN *et al.*, 1984; WIERSINGA *et al.*, 1981) e IC (HAMILTON *et al.*, 1990). Esse fenômeno é conhecido como “síndrome do baixo T3”, também chamada de síndrome do eutireoidiano doente. Em um estudo prospectivo, os pacientes com doenças cardíacas e com a síndrome do baixo T3 (30%) apresentaram maior mortalidade do que os pacientes com doenças cardíacas e níveis normais de T3. Portanto, baixos níveis de T3 são considerados um forte fator preditor independente da mortalidade cardíaca, bem como pode ser associado ao pior prognóstico de pacientes com doenças cardíacas (IERVASI *et al.*, 2003).

Considerando os efeitos fundamentais dos HT na homeostase do sistema cardiovascular e as evidências sobre os baixos níveis de T3 estarem associados ao pior prognóstico em doenças cardíacas, pesquisadores buscaram avaliar os efeitos terapêuticos dos HT no IAM. Vários estudos com modelos experimentais para o IAM já revelaram os efeitos benéficos dos HT sobre o remodelamento ventricular e a função cardíaca (PANTOS *et al.*, 2007, 2009), bem como sobre o estresse oxidativo (CASTRO *et al.*, 2014), a apoptose (CASTRO *et al.* 2016) e a inflamação (CASTRO *et al.*, 2018) no coração pós-infarto. Além disso, alguns estudos clínicos já foram realizados com o intuito de analisar os efeitos da terapia com os HT em doenças cardíacas (MORUZZI *et al.*, 1994, 1996; HAMILTON *et al.*, 1998; PINGITORE *et al.*, 2008; GOLDMAN *et al.*, 2009; PINGITORE *et al.*, 2019). Com relação ao IAM, o estudo THIRST (*Thyroid Hormone Replacement Therapy in ST elevation myocardial infarction*) foi o primeiro a revelar que a terapia de reposição dos HT foi segura e capaz de melhorar a disfunção contrátil regional em pacientes com IAM que apresentavam baixos níveis de T3. Entretanto, esse estudo continha um baixo número de pacientes e, também, utilizou uma baixa dose de T3, com o intuito de manter um alto perfil de segurança aos pacientes. Essa baixa dose de T3 utilizada pode ter reduzido os potenciais efeitos positivos do tratamento hormonal sobre a função e morfologia cardíaca. Portanto, os autores sugerem que mais estudos devem ser realizados para avaliar o potencial benefício cardioprotetor da terapia com os HT no IAM. Assim, futuros estudos poderiam responder questões relacionadas, por exemplo, ao tipo de

hormônio a ser administrado, T3 ou T4 ou sua combinação, ao perfil do paciente que de fato seria beneficiado por essa terapia hormonal e ao período de início e término do tratamento (PINGITORE *et al.*, 2019).

### 1.2.2 Carvedilol

Os betabloqueadores adrenérgicos constituem uma classe terapêutica capaz de inibir as respostas cronotrópicas, inotrópicas positivas e vasoconstritoras desencadeadas pelas catecolaminas no sistema cardiovascular (BORTOLOTTO e CONSOLIM-COLOMBO, 2009). O carvedilol é considerado um betabloqueador de terceira-geração, não-seletivo, responsável por bloquear tanto os receptores  $\beta_1$ -AR e  $\beta_2$ -AR no coração, quanto o receptor alfa1-adrenérgico ( $\alpha_1$ -AR) nos vasos sanguíneos (DULIN e ABRAHAM, 2004). Portanto, além do seu efeito betabloqueador responsável pela redução da frequência cardíaca e da contratilidade, o carvedilol também apresenta efeito vasodilatador, levando à diminuição da resistência vascular periférica e da pressão sanguínea arterial. Combinando os efeitos do bloqueio  $\alpha$  e  $\beta$ -adrenérgico, ocorre redução da pré-carga, da pós-carga e do consumo de oxigênio pelo miocárdio (CHEN-SCARABELI *et al.*, 2012). Além desses efeitos, o carvedilol também possui propriedades antioxidantes e, em altas doses, apresenta a capacidade de antagonizar canais de cálcio (CHAKRABORTY *et al.*, 2010).

O carvedilol é um fármaco aprovado para tratamento da IC crônica, da disfunção ventricular esquerda após o infarto do miocárdio e da hipertensão (DANDONA *et al.*, 2007). Nos EUA, o carvedilol é o único betabloqueador aprovado para o uso em pacientes pós-IAM com disfunção ventricular esquerda, demonstrando ser capaz de reduzir significativamente a mortalidade e morbidade desses pacientes (FONAROW, 2009). No Brasil, outros betabloqueadores como propranolol, metoprolol e atenolol também são utilizados no tratamento do IAM; porém, o carvedilol ainda é o fármaco preferencial para pacientes em fase aguda do IAM e com disfunção ventricular esquerda, principalmente devido aos resultados do ensaio clínico CAPRICORN (*Carvedilol Post-Infarct Survival Control in LV Dysfunction*) (PIEGAS *et al.*, 2015). Os dados deste estudo revelaram que o carvedilol reduziu a mortalidade por todas as causas, bem como a mortalidade por causas cardiovasculares e a recorrência de infartos miocárdicos não-fatais (CAPRICORN, 2001). Um estudo ecocardiográfico associado ao ensaio CAPRICORN revelou que o carvedilol também foi

benéfico no remodelamento ventricular, melhorando o volume final sistólico do VE e a fração de ejeção (DOUGHTY *et al.*, 2004). Estudos experimentais para o IAM também já revelaram que o carvedilol apresenta efeitos positivos sobre a apoptose (ZHANG *et al.*, 2013) e a inflamação (LI *et al.*, 2006; SIA *et al.*, 2002).

### 1.2.3 Coadministração de carvedilol e dos hormônios da tireoide

Na discussão do estudo THIRST, Pingitore e colegas revelam que uma das dificuldades encontradas, que contribuiu para o baixo número de pacientes do estudo, foi a aceitação tanto dos pacientes quanto dos médicos em aderir ao tratamento com T3 (PINGITORE *et al.*, 2019). Portanto, considerando o contexto clínico, fica clara a dificuldade da implementação dos HT como um tratamento isolado após o IAM. Além disso, embora estudos já tenham demonstrado os vários efeitos benéficos dos HT no tratamento do IAM (PANTOS *et al.*, 2007, 2009; CASTRO *et al.*, 2014, 2016, 2018), também é importante considerar que os HT aumentam da expressão dos receptores beta-adrenérgicos no coração. Isso eleva a sensibilidade do coração à ação das catecolaminas, bem como aumenta consequentemente a frequência cardíaca e o consumo do oxigênio pelo miocárdio (KAHALY e DILLMANN, 2005). Portanto, é iminente a necessidade de considerar estes fatores desfavoráveis no contexto do IAM e tornar a terapia com HT mais aceitável e segura em uma perspectiva clínica. Com isso, a proposta terapêutica dos HT juntamente ao betabloqueador carvedilol, um tratamento convencional já utilizado na prática clínica da terapia do IAM, surgiu com uma proposta mais interessante no contexto do IAM.

O estudo prévio do nosso grupo revelou os efeitos da coadministração do carvedilol e dos HT sobre o estresse oxidativo no coração pós-infarto. Nesse estudo, foi possível verificar que a coadministração apresentou efeitos sinérgicos positivos sobre a redução nos níveis de ERO e sobre o aumento da razão glutatona reduzida (GSH)/glutatona oxidada (GSSG), indicando melhora do equilíbrio redox no coração pós-infarto. Além disso, o cotratamento também foi capaz de melhorar a fração de ejeção e de reduzir o efeito cronotrópico positivo induzido pelos HT (ORTIZ *et al.*, 2019). Entretanto, ainda não há dados na literatura sobre a influência da coadministração de carvedilol e dos HT sobre mecanismos intracelulares como a sinalização apoptótica, beta-adrenérgica, inflamatória e cardioprotetora no coração pós-infarto.

## 2 HIPÓTESES

H0: A coadministração de carvedilol e dos hormônios da tireoide não apresenta efeitos positivos sobre a sinalização apoptótica, beta-adrenérgica, inflamatória e cardioprotetora, não sendo capaz de amenizar a disfunção cardíaca e o remodelamento ventricular adverso sobre o coração pós-infarto.

H1: A coadministração de carvedilol e dos hormônios da tireoide apresenta efeitos positivos sobre a sinalização apoptótica, beta-adrenérgica, inflamatória e cardioprotetora, amenizando a disfunção cardíaca e o remodelamento ventricular adverso sobre o coração pós-infarto.

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a influência da coadministração de carvedilol e dos hormônios da tireoide sobre a sinalização apoptótica, beta-adrenérgica, inflamatória e cardioprotetora no coração de ratos submetidos ao IAM, bem como avaliar a hemodinâmica cardíaca e as alterações estruturais envolvidas no remodelamento ventricular adverso.

### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar parâmetros ecocardiográficos associados com alterações estruturais no coração pós-infarto.
- Analisar parâmetros morfométricos: peso da cicatriz, hipertrofia ventricular esquerda, congestão pulmonar e congestão hepática.
- Avaliar a hemodinâmica cardíaca através dos parâmetros: pressão sistólica do VE, pressão diastólica final do VE, dP/dt máxima e dP/dt mínima.

- Analisar a expressão tecidual do ANP, considerado um marcador de sobrecarga ventricular após o IAM.
- Avaliar a expressão tecidual de proteínas envolvidas na via apoptótica: Bax, p38, JNK.
- Avaliar a expressão tecidual do  $\beta$ 1-AR.
- Avaliar a expressão tecidual de proteínas associadas ao processo inflamatório: TLR4, MyD88, TRAF6, NF- $\kappa$ B, inflamassoma NLRP3.
- Avaliar a expressão tecidual de proteínas com função cardioprotetora: Akt e HIF-1 $\alpha$ .
- Avaliar a expressão tecidual dos receptores dos hormônios da tireoide: TR $\alpha$  e TR $\beta$ .
- Comparar os efeitos dos tratamentos isolados com carvedilol e com os HT, bem como do cotratamento, sobre os parâmetros avaliados neste trabalho.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 ANIMAIS

Este trabalho utilizou 45 ratos Wistar machos com peso médio de 180-250 gramas. Os animais foram provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Durante a execução do protocolo experimental, os animais foram alojados no Biotério Setorial do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da UFRGS, sendo mantidos em caixas plásticas de 410 mm x 340 mm x 160 mm com o assoalho recoberto com serragem. A área interna de cada gaiola foi de 1110 cm<sup>2</sup>, assegurando uma área de 187,05 cm<sup>2</sup> por animal o que, desta forma, permitiu comportar, no máximo, quatro ratos (peso: 200–300 g) por caixa. Os animais receberam alimentação e água à vontade e foram mantidos sob períodos de 12 horas luz/12 horas escuro e sob temperatura de 22°C. Todos os experimentos foram realizados no laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Estresse Oxidativo (laboratório 344) situado no departamento de Fisiologia do ICBS da UFRGS.



## 4.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Os experimentos com os animais e o protocolo de estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRGS, Rio Grande do Sul, Brasil. O número do processo do projeto aprovado é 35566. A carta de aprovação emitida pelo CEUA encontra-se em Anexos (seção 10).

## 4.3 MODELO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

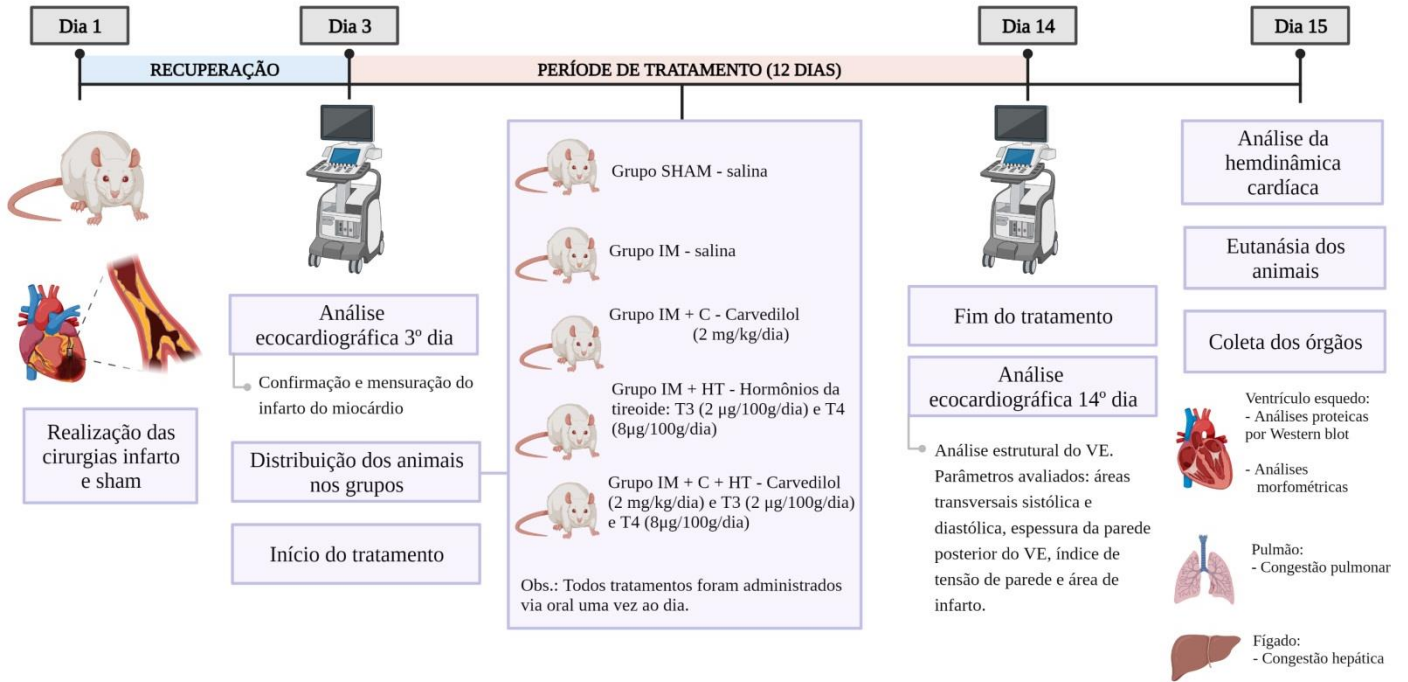
O modelo de IAM foi induzido pelo método descrito por Johns e Olson em 1954 (JOHNS e OLSON, 1954) e adaptado em nosso laboratório (CASTRO *et al.*, 2018; ORTIZ *et al.*, 2019), sendo caracterizado pela ligadura da artéria coronária descendente anterior esquerda. Inicialmente, os animais foram anestesiados com quetamina (90mg/kg, via intraperitoneal) e xilazina (10mg/kg, via intraperitoneal) e, subsequentemente, foram tricotomizados, entubados (Gelko-14G) e submetidos à ventilação artificial a uma frequência ventilatória de 80 bpm (Intermed, Inter 3, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, foi realizada uma pequena incisura na pele do animal, seguido do afastamento dos músculos peitorais e de uma toracotomia esquerda no segundo ou terceiro espaço intercostal. Após realizar o afastamento das costelas, permitindo a visualização do coração, o pericárdio foi removido e a artéria coronária descendente anterior esquerda foi ocluída (fio mononylon 6.0), provocando a isquemia do miocárdio. Depois da ligadura da coronária, foi feita a sutura da incisão torácica (fio mononylon 5.0), a retirada do pneumotórax, o reposicionamento dos músculos peitorais e a sutura da incisura na pele do animal (fio mononylon 5.0). Os animais foram, posteriormente, retirados da ventilação artificial, sendo estimulada sua respiração espontânea. Uma vez concluída a cirurgia, os animais foram colocados em isolamento em ambiente aquecido. Os animais sobreviventes receberam analgesia por 48 horas após a cirurgia com dipirona (50 mg/mL, por via oral, 12 em 12 oral) e tramadol (12,5 mg/kg, por injeção subcutânea, 12 em 12 horas). Como uma forma de eliminar os vieses da cirurgia do IAM, os animais do grupo SHAM foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos, porém com a exceção da oclusão da artéria coronária (SCHENKEL *et al.* 2010). A taxa de mortalidade no final do estudo foi de 22%.

#### 4.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O período do protocolo experimental deste trabalho durou 15 dias. Os procedimentos realizados nesse período estão descritos abaixo:

- 1º dia: Os animais dos grupos infartados (seção 4.5) foram submetidos à cirurgia de indução do infarto pela ligadura da artéria coronária. Os animais do grupo SHAM foram submetidos à cirurgia sham na qual consiste dos mesmos procedimentos cirúrgicos, porém com a exceção da ligadura da artéria coronária.
- 1º ao 2º dia: período de recuperação pós-cirurgia. Neste período, todos os animais receberam analgesia e os devidos cuidados pós-cirúrgicos.
- 3º ao 14º dia: No 3º dia, todos os animais infartados passaram por uma análise ecocardiográfica para a confirmação e mensuração do infarto do miocárdio. Essa análise permitiu a distribuição homogênea dos animais entre os grupos infartados de acordo com a área de infarto. Essa estratificação foi importante para garantir que todos os grupos tivessem homogeneidade da lesão cardíaca antes do tratamento. Após serem alocados nos seus grupos (seção 4.5), os animais receberam seus respectivos tratamentos durante 12 dias.
- 14º dia: Após algumas horas do recebimento da última dose de tratamento, os animais foram anestesiados para ser realizada uma análise ecocardiográfica final.
- 15º dia: Após a anestesia, os animais foram submetidos à análise da hemodinâmica cardíaca. Concluída a análise, os animais anestesiados foram eutanasiados para a coleta dos órgãos (coração, fígado e pulmão).

O protocolo experimental descrito acima está representado esquematicamente na Figura 14.



**Figura 14.** Esquema cronológico do protocolo experimental deste trabalho. Imagem criada a partir do aplicativo BioRender.com

#### 4.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTOS

Abaixo está descrito os grupos experimentais do estudo, bem como o tratamento recebido diariamente durante o período de 12 dias:

- Grupo SHAM (n = 7 animais) – grupo de animais que foram submetidos à cirurgia sham e receberam solução salina por gavagem.
- Grupo IM (n = 7 animais) – grupo de animais que foram submetidos à cirurgia de infarto e receberam solução salina por gavagem.
- Grupo IM + HT (n = 7 animais) – grupo de animais que foram submetidos à cirurgia de infarto e receberam, por gavagem, 2 µg/100g/dia de T3 (Sigma) e 8 µg/100g/dia de T4 (Sigma) dissolvido em hidróxido de sódio (NaOH) 1N e, então, diluído em solução salina 0,9% (CASTRO *et al.*, 2014).

- Grupo IM + C (n = 7 animais) – grupo de animais que foram submetidos à cirurgia de infarto e receberam, por gavagem, 2 mg/kg/dia de carvedilol (Santa Cruz) diluído em 1% de DMSO, 2% de Tween 20 e salina (SUN *et al.*, 2005; ORTIZ *et al.*, 2019).
- Grupo IM + C + HT (n = 7 animais) – grupo de animais que foram submetidos à cirurgia de infarto e receberam, por gavagem, primeiramente, uma administração de 2 µg/100g/dia de T3 (Sigma) e 8 µg/100g/dia de T4 (Sigma) dissolvido em hidróxido de sódio (NaOH) 1N e, então, diluído em solução salina 0,9% (CASTRO *et al.*, 2014). Após 30 minutos da administração dos HT, foi feita, por gavagem, a administração de 2 mg/kg/dia de carvedilol (Santa Cruz) diluído em 1% de DMSO, 2% de Tween 20 e salina (SUN *et al.*, 2005; ORTIZ *et al.*, 2019).

#### 4.6 ECOCARDIOGRAFIA

No 3° e 14° dia do experimento, os animais anestesiados (90 mg/kg de quetamina e 20 mg/kg de xilazina, via intraperitoneal) foram submetidos a uma análise ecocardiográfica para avaliar parâmetros estruturais do VE. Um operador treinado com experiência em análise ecocardiográfica de animais capturou as imagens usando um transdutor L2-13 MHz e um sistema de ultrassom Philips HD7 XE (Andover, MA, EUA).

Na avaliação ecocardiográfica do 3° dia de protocolo, todos os animais infartados passaram por uma análise ecocardiográfica para a confirmação e mensuração do infarto do miocárdio. Após essa análise, foi realizada a distribuição homogênea dos animais entre os grupos infartados de acordo com a área de infarto. Essa estratificação foi importante para garantir que todos os grupos tivessem homogeneidade da lesão cardíaca antes do tratamento.

Na avaliação ecocardiográfica do 14° dia foram analisados os seguintes parâmetros: áreas transversais do VE, espessuras da parede posterior do VE, índice de tensão de parede e área de infarto. As áreas transversais do VE (em centímetros quadrados, cm<sup>2</sup>) foram avaliadas no final da sístole e no final da diástole através do traçado da borda endocárdica em três planos (basal, medial e apical). As espessuras da parede posterior sistólica e diastólica do VE foram avaliadas também nestes três planos através do modo-M (NOZAWA *et al.*, 2006). O índice de tensão da parede (ITP) foi medido conforme descrito anteriormente (CASTRO *et*

*al.*, 2018). Em cada plano transversal, o arco equivalente ao segmento infartado [regiões do miocárdio com uma das seguintes alterações na cinética miocárdica: região de acinesia do movimento sistólico e/ou região da hipocinesia (RAH)] e o perímetro endocárdico total (PE) foram medidos no final da diástole. A área de infarto (AI) foi avaliada como  $\% AI = (RAH/PE) \times 100$  (TAVARES *et al.*, 2010). Todas as avaliações ecocardiográficas foram realizadas às cegas.

#### 4.7 HEMODINÂMICA CARDÍACA

No 15º dia do protocolo experimental, os animais anestesiados (90 mg/kg de quetamina e 20 mg/kg de xilazina, via intraperitoneal) foram submetidos ao cateterismo do VE para avaliação da hemodinâmica cardíaca. Este procedimento começa com o isolamento da artéria carótida direita na qual é realizada uma pequena incisão com tesoura oftálmica a 45º de inclinação. Na abertura da incisão feita é inserido um cateter feito de tubo de polietileno PE-50 previamente soldado a um tubo de polietileno PE-10 (Clay Adams, Parsipanny, NJ, EUA). O cateter inserido é então introduzido até o átrio e VE. A pressão ventricular sistólica e diastólica final esquerda e suas respectivas derivadas, derivada de contração (dP/dt máxima) e derivada de relaxamento (dP/dt mínima), foram monitoradas usando um transdutor de pressão (Narco Biosystem Pulse Transducer RP-155; Houston, Texas, EUA) ligado a um amplificador de sinal (Pressure Amplifier HP 8805C, , Hewlett Packard, EUA) (CASTRO *et al.*, 2016).

#### 4.8 EUTANÁSIA E COLETA DE ÓRGÃOS

Imediatamente após o término da análise hemodinâmica, os animais anestesiados foram eutanasiados mediante decapitação em guilhotina manual, em ambiente isolado. Depois da eutanásia, o coração dos animais foi imediatamente retirado e colocado em solução gelada de cloreto de potássio (KCl) 1,15% para que o coração parasse em diástole. Em seguida, os átrios foram retirados e descartados, e os ventrículos, esquerdo e direito, foram separados, sendo apenas o VE utilizado para as análises deste estudo. No caso dos animais infartados, a área cicatricial mais visível do VE foi removida, pesada e descartada. As amostras de VE

restante foram pesadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, sendo armazenadas em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises proteicas por Western blot. Além do VE, o pulmão e o fígado também foram coletados e destinados à análise de congestão pulmonar e hepática, respectivamente.

#### 4.9 ANÁLISES MORFOMÉTRICAS

As análises morfométricas deste estudo incluíram a análise da hipertrofia cardíaca do VE, da congestão pulmonar e da congestão hepática. A hipertrofia cardíaca do VE foi calculada pela relação entre o peso do VE (em gramas, g) e o comprimento da tíbia (em centímetros, cm) (CASTRO *et al.*, 2018). Os pulmões e o fígado também foram coletados e pesados para avaliar a congestão desses órgãos. As congestões pulmonares e hepáticas foram expressas pela razão de peso úmido/seco (g/g) (CASTRO *et al.*, 2014; TAVARES *et al.*, 2010).

#### 4.10 HOMOGENEIZAÇÃO DO VE E ANÁLISE DE PROTEÍNAS TOTAIS PELO MÉTODO DE LOWRY

As amostras de VE (zona não infartada) foram homogeneizadas em um homogeneizador Ultra-Turrax na presença de 10% de tampão para ensaio de radioimunoprecipitação (RIPA) (5 mL/g de tecido) e 1% de fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF). O homogeneizado foi então centrifugado a 8000g por 10 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ . Após o término da centrifugação, o sobrenadante foi coletado e armazenado no freezer ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) para posterior análise proteica por Western blot (ARAUJO *et al.*, 2006; LACERDA *et al.*, 2018). Os níveis de proteínas totais das amostras homogeneizadas foram quantificados pelo método de Lowry, e a albumina de soro bovino foi usada como padrão (LOWRY *et al.*, 1951).

#### 4.11 ANÁLISE PROTEICA POR WESTERN BLOT

A quantificação das proteínas específicas estudadas neste trabalho foi realizada pela técnica de Western blot. Primeiramente, após a quantificação das proteínas totais de cada amostra, foi calculado o volume de amostra necessário para obter 100 µg de proteína para cada amostra. Esse volume de amostra foi então dissolvido em tampão Laemmli para ser posteriormente submetido à separação eletroforética (LAEMMLI *et al.*, 1970).

As amostras de VE contendo 100 µg de proteína preparadas em tampão Laemmli foram submetidas a uma eletroforese em gel de poliacrilamida monodimensional de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) em um sistema descontínuo de dois géis: gel de entrada e gel de corrida (8-14%). Após o término da eletroforese, foi feita a transferência das proteínas separadas no gel para membranas de difluoreto de polivinilideno (PVDF). Os locais inespecíficos das membranas foram posteriormente bloqueados com solução bloqueadora de leite desnatado a 5% (p/v) e tampão Tris-solução salina a 0,1% (p/v), por 1 hora de incubação. Em seguida, as membranas foram processadas por imunodeteção, usando-se os seguintes anticorpos primários: ANP (17 kDa), Bax (20 kDa), JNK (54/46 kDa), p-p38 (38 kDa), p38 total (38 kDa), p-Akt (60 kDa), Akt total (60 kDa),  $\beta$ 1-AR (50 kDa), TLR4 (90 kDa), MyD88 (33 kDa), TRAF6 (60 kDa), NF- $\kappa$ B (65 kDa), NLRP3 (118 kDa), HIF-1 $\alpha$  (132 kDa), TR $\alpha$  (47 kDa) e TR $\beta$  (55 kDa) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, EUA; Cell Signaling Technology, Beverly, MA, EUA; Abcam, Cambridge, MA, EUA). Os anticorpos primários foram detectados usando anticorpos secundários de acordo com a origem dos primários (anti-goat, anti-mouse ou anti-rabbit da Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, EUA). As membranas foram reveladas por quimiluminescência através do sistema ImageQuant LAS4000 (GE Healthcare) ou do sistema IBright C1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). A quantificação das proteínas foi feita através do programa ImageJ (Wayne Rasband, Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, MD, EUA). Um marcador de peso molecular padrão (RPN 800 rainbow full range Bio-Rad, CA, EUA) foi usado como referência para determinar os pesos moleculares das bandas (CASTRO *et al.*, 2016). O método Ponceau foi utilizado para normalização (KLEIN *et al.*, 1995).

#### 4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para a avaliação da distribuição paramétrica dos dados. Os dados paramétricos são expressos como média  $\pm$  desvio padrão (D.P.) e foram analisados pelo teste de análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo pós-teste Student-Newman-Keuls. Os dados não paramétricos são expressos como mediana  $\pm$  intervalo interquartil e foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn. A correlação entre duas variáveis foi analisada pelo teste de correlação de Pearson. As diferenças foram consideradas significativas quando a análise estatística apresentou  $P < 0,05$ . Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software Sigma Plot 12.0.



## 9 REFERÊNCIAS

- ABBATE, A. *et al.* Acute myocardial infarction and heart failure: Role of apoptosis. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 38, p. 1834–1840, 2006.
- ALBERTS, Bruce. **Biologia Molecular da Célula**. 6 ed, Porto Alegre: Artmed, 2017.
- ALTARA, R. *et al.* Temporal cardiac remodeling post-myocardial infarction : dynamics and prognostic implications in personalized medicine. **Heart Failure Reviews**, v. 21, p. 25–47, 2016.
- ARAÚJO, A. S. R. *et al.* Myocardial antioxidant enzyme activities and concentration and glutathione metabolism in experimental hyperthyroidism. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 249, p. 133–139, 2006.
- AZEVEDO, P. S. *et al.* Remodelação cardíaca: conceitos, impacto clínico, mecanismos fisiopatológicos e tratamento farmacológico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 106, p. 62–69, 2015.
- BASSETT, J. H. D.; HARVEY, C. B.; WILLIAMS, G. R. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 213, p. 1–11, 2003.
- BERTHIAUME, J. M. *et al.* **Pathophysiology of heart failure and an overview of therapies**. In: Cardiovascular Pathology. 4. ed. Elsevier Inc., 2016. p. 271–339.
- BHATT, A. S.; AMBROSY, A. P.; VELAZQUEZ, E. J. Adverse remodeling and reverse remodeling after myocardial infarction. **Curr Cardiol Rep**, v. 19, p. 71, 2017.
- BLANKESTEIJN, W. M. *et al.* Dynamics of cardiac wound healing following myocardial infarction: observations in genetically altered mice. **Acta Physiol Scand**, v. 173, p. 75–82, 2001.
- BOATENG, S.; SANBORN, T. Acute myocardial infarction. **Disease-a-Month**, v. 59, p. 83–96, 2013.
- BORTOLOTTI, L. A.; CONSOLIM-COLOMBO, F. M. Betabloqueadores adrenérgicos. **Rev Bras Hipertens**, v. 16, p. 215–220, 2009.
- CAPRICORN, I. Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: the CAPRICORN randomised trial. **Lancet**, v. 357, p. 1385–1390, 2001.
- CASTRO, A. L. *et al.* Cardioprotective effects of thyroid hormones in a rat model of myocardial infarction are associated with oxidative stress reduction. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 391, p. 22–29, 2014.
- CASTRO, A. L. *et al.* Thyroid hormones improve cardiac function and decrease expression of pro-apoptotic proteins in the heart of rats 14 days after infarction. **Apoptosis**, v. 21, p. 184–194, 2016.
- CASTRO, A. L. *et al.* Thyroid hormones decrease the proinflammatory TLR4/NF- $\kappa$ B pathway and improve functional parameters of the left ventricle of infarcted rats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 461, p. 132–142, 2018.

- CASTRO, A. L. *et al.* Cardioprotective doses of thyroid hormones improve NO bioavailability in erythrocytes and increase HIF-1 $\alpha$  expression in the heart of infarcted rats. Cardioprotective doses of thyroid hormones improve NO bioavailability in erythrocytes and increase HIF-1  $\alpha$ . **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. Jun 17, p. 1–8, 2020.
- CHAKRABORTY, S. *et al.* Clinical updates on carvedilol: a first choice  $\beta$ -blocker in the treatment of cardiovascular diseases. **Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.**, v. 6, n. 2, p. 237–250, 2010.
- CHEN, Y. *et al.* Short term triiodo-L-thyronine treatment inhibits cardiac myocyte apoptosis in border area after myocardial infarction in rats. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 44, p. 180–187, 2008.
- CHEN, Y. *et al.* Early Administration of carvedilol protected against doxorubicin-induced cardiomyopathy. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 355, p. 516–527, 2015.
- CHEN, Q. *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  attenuates myocardial inflammatory injury in rats induced by coronary microembolization. **An Acad Bras Cienc**, v. 92, p. e20190658, 2020.
- CHENG, W. *et al.* Programmed myocyte cell death affects the viable myocardium after infarction in rats. **Experimental Cell Research**, v. 226, p. 316–327, 1996.
- CHEN-SCARABELLI, C. *et al.* A critical review of the use of carvedilol in ischemic heart disease. **Am J Cardiovasc Drugs**, v. 12, n. 6, p. 391–401, 2012.
- COGGINS, M.; ROSENZWEIG, A. The fire within: cardiac inflammatory signaling in health and disease. **Circulation Research**, v. 110, p. 116–125, 2012.
- COHN, J. N.; FERRARI, R.; SHARPE, N. Cardiac remodeling — concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 35, n. 3, p. 569–582, 2000.
- COHN, J. N. Neuroendocrine activation after acute myocardial infarction. **The American Journal of Cardiology**, v. 65, p. 28I–31I, 1990.
- CUMMINS, E. P. *et al.* The role of HIF in immunity and inflammation. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 47–48, p. 24–34, 2016.
- DANDONA, P.; GHANIM, H.; BROOKS, D. P. Antioxidant activity of carvedilol in cardiovascular disease. **Journal of Hypertension**, v. 25, p. 731–741, 2007.
- DE LUCA, R. *et al.* Thyroid hormones interaction with immune response, inflammation and non-thyroidal illness syndrome. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, p. 614030, 2021.
- DILLMANN, W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. **Heart Fail Rev**, v. 15, p. 125–132, 2010.
- DOUGHTY, R. N. *et al.* Effects of carvedilol on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction: the CAPRICORN echo substudy. **Circulation**, v. 109, p. 201–205, 2004.
- DULIN, B.; ABRAHAM, W. T. Pharmacology of carvedilol. **The American Journal of Cardiology**, v. 93(suppl), p. 3B–6B, 2004.

EL-ARMOUCHE, A.; ESCHENHAGEN, T.  $\beta$ -Adrenergic stimulation and myocardial function in the failing heart. **Heart Fail Rev**, v. 14, p. 225–241, 2009.

ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. **Toxicol Pathol**, v. 35, n. 4, p. 495–516, 2007.

EZEKOWITZ, J. A. *et al.* Declining in-hospital mortality and increasing heart failure incidence in elderly patients with first myocardial infarction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 1, p. 13–20, 2009.

FANG, L. *et al.* Systemic inflammatory response following acute myocardial infarction. **Journal of Geriatric Cardiology**, v. 12, p. 305–312, 2015.

FERRANDI, C. *et al.* Inhibition of c-Jun N-terminal kinase decreases cardiomyocyte apoptosis and infarct size after myocardial ischemia and reperfusion in anaesthetized rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 142, p. 953–960, 2004.

FIALHO, M. DA L. S. *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 signalling, metabolism and its therapeutic potential in cardiovascular disease. **BBA - Molecular Basis of Disease**, v. 1865, p. 831–843, 2019.

FONAROW, G. C. Role of carvedilol controlled - release in cardiovascular disease. **Expert Rev. Cardiovasc. Ther.**, v. 7, n. 5, p. 483–498, 2009.

FORINI, F. *et al.* Triiodothyronine prevents cardiac ischemia/reperfusion mitochondrial impairment and cell loss by regulating miR30a/p53 axis. **Endocrinology**, v. 155, p. 4581–4590, 2014.

FORINI, F.; NICOLINI, G.; IERVASI, G. Mitochondria as key targets of cardioprotection in cardiac ischemic disease: role of thyroid hormone triiodothyronine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 6312–6336, 2015.

FRANGOIANNIS, N. G. Pathophysiology of myocardial infarction. **Comprehensive Physiology**, v. 5, p. 1841–1875, 2015.

FRANKLYN, J. A. *et al.* Thyroid status in patients after acute myocardial infarction. **Clinical Science**, v. 67, p. 585–590, 1984.

GILBERT, E. M. *et al.* Comparative hemodynamic, left ventricular functional, and antiadrenergic effects of chronic treatment with metoprolol versus carvedilol in the failing heart. **Circulation**, v. 94, p. 2817–2825, 1996.

GOLDMAN, S. *et al.* DITPA (3,5-diiodothyropropionic acid), a thyroid hormone analog to treat heart failure: phase II trial veterans affairs cooperative study. **Circulation**, v. 119, p. 3093–3100, 2009.

GRAIS, I. M.; SOWERS, J. R. Thyroid and the heart. **The American Journal of Medicine**, v. 127, p. 691–698, 2014.

GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; MANCIA, G. Sympathetic activation in cardiovascular disease: evidence, clinical impact and therapeutic implications. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 45, n. 12, p. 1367–1375, 2015.

HAFE, M. VON *et al.* The impact of thyroid hormone dysfunction on ischemic heart disease. **Endocrine Connections**, v. 8, p. R76–R90, 2019.

- HAMILTON, M. A. *et al.* Altered Thyroid Hormone Metabolism in Advanced HEart Failure. **JACC**, v. 16, n. 1, p. 91–95, 1990.
- HAMILTON, M. A. *et al.* Safety and Hemodynamic Effects of Intravenous Triiodothyronine in Advanced Congestive Heart Failure. **The American Journal of Cardiology**, v. 81, p. 443–447, 1998.
- HERS, I.; VINCENT, E. E.; TAVARÉ, J. M. Akt signalling in health and disease. **Cellular Signalling**, v. 23, p. 1515–1527, 2011.
- HILL, M. F.; SINGAL, P. K. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. **American Journal of Pathology**, v. 148, n. 1, p. 291–300, 1996.
- HUANG, Y. *et al.* Wenxin Granules Influence the TGF $\beta$  -P38/JNK MAPK Signaling Pathway and Attenuate the Collagen Deposition in the Left Ventricle of Myocardial Infarction Rats. **Cardiology Research and Practice**, v. 2019, p. 1–11, 2019.
- HUO, L. *et al.* Asiatic acid inhibits left ventricular remodeling and improves cardiac function in a rat model of myocardial infarction. **Experimental and therapeutic medicina**, v. 11, p. 57–64, 2016.
- IERVASI, G. *et al.* Low-T3 syndrome a strong prognostic predictor of death in patients with heart disease. **Circulation**, v. 107, p. 708–713, 2003.
- JABBAR, A. *et al.* Thyroid hormones and cardiovascular disease. **Nature Reviews Cardiology**, v. 14, p. 39–55, 2016.
- JIANQIANG, P. *et al.* Expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha ameliorate myocardial ischemia in rat. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 465, p. 691–695, 2015.
- JOHNS T.N.P.; OLSON B.J. Experimental myocardial infarction: a method of coronary occlusion in small animals. **Annals of Surgery**, v. 140, p. 675–682, 1954.
- KAHALY, G. J.; DILLMANN, W. H. Thyroid Hormone Action in the Heart. **Endocrine Reviews**, v. 26, n. 5, p. 704–728, 2005.
- KAJSTURA, J. *et al.* Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats. **Laboratory Investigation**, v. 74, p. 86–107, 1996.
- KENESSEY, A.; OJAMAA, K. Thyroid hormone stimulates protein synthesis in the cardiomyocyte by activating the Akt-mTOR and p70 S6K pathways. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 30, p. 20666–20672, 2006.
- KIDO, M. *et al.* Hypoxia-inducible factor 1-alpha reduces infarction and attenuates progression of cardiac dysfunction after myocardial infarction in the mouse. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 46, n. 11, p. 2116–2124, 2005.
- KLEIN, D.; KERN, R. M.; SOKOL, R. Z. A method for quantification and correction of proteins after transfer to immobilization membranes. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 36, p. 59–66, 1995.
- KOKORIN, V. A. *et al.* Current aspects of correction of neurohumoral system activity in patients after myocardial infarction. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej**, v. 122 (Suppl 1), p. 47–54, 2012.

- KONSTAM, M. A. *et al.* Left ventricular remodeling in heart failure current concepts in clinical significance and assessment. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 4, n. 1, p. 98–108, 2011.
- KRIJNEN, P. A. J. *et al.* Apoptosis in myocardial ischaemia and infarction. **Journal of Clinical Pathology**, v. 55, p. 801–811, 2002.
- LACERDA, D. *et al.* Stilbenoid pterostilbene complexed with cyclodextrin preserves left ventricular function after myocardial infarction in rats: possible involvement of thiol proteins and modulation of phosphorylated GSK-3 $\beta$ . **Free Radical Research**, v. 52, p. 988–999, 2018.
- LI, B. *et al.* Effects of carvedilol on cardiac cytokines expression and remodeling in rat with acute myocardial infarction. **International Journal of Cardiology**, v. 111, p. 247–255, 2006.
- LOOR, G.; SCHUMACKER, P. T. Role of hypoxia-inducible factor in cell survival during myocardial ischemia – reperfusion. **Cell Death and Differentiation**, v. 15, p. 686–690, 2008.
- LUCIA, C. DE; EGUCHI, A.; KOCH, W. J. New Insights in Cardiac  $\beta$ -Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 1–14, 2018.
- MANFROI, W. C. *et al.* Acute myocardial infarction. The first manifestation of ischemic heart disease and relation to risk factors. **Arq Bras Cardiol**, v. 78, n. 4, p. 392–395, 2002.
- MATSUI, T. *et al.* Akt activation preserves cardiac function and prevents injury after transient cardiac ischemia in vivo. **Circulation**, v. 104, p. 330–335, 2001.
- MOELLER, L. C.; DUMITRESCU, A. M.; REFETOFF, S. Cytosolic action of thyroid hormone leads to induction of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and glycolytic genes. **Molecular Endocrinology**, v. 19, n. 12, p. 2955–2963, 2005.
- MORUZZI, P. *et al.* Usefulness of L-thyroxine to improve cardiac and exercise performance in idiopathic dilated cardiomyopathy. **The American Journal of Cardiology**, v. 73, p. 374–378, 1994.
- MORUZZI, P.; DORIA, E.; AGOSTONI, P. G. Medium-term effectiveness of L-thyroxine treatment in idiopathic dilated cardiomyopathy. **The American Journal of Medicine**, v. 101, p. 461–467, 1996.
- NAJAFI, A. *et al.*  $\beta$ -adrenergic receptor signalling and its functional consequences in the diseased heart. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 46, n. 4, p. 362–374, 2016.
- NICOLAU, J. C. *et al.* Diretrizes da sociedade brasileira de cardiologia sobre angina instável e infarto agudo do miocárdio sem supradesnível do segmento ST – 2021 Diretrizes. **Arq Bras Cardiol**, v. 117, n. 1, p. 181–264, 2021.
- NOZAWA, E. *et al.* Performance of two-dimensional Doppler echocardiography for the assessment of infarct size and left ventricular function in rats. **Brazilian Journal of Medical And Biological Research**, v. 39, p. 687–695, 2006.
- OIKAWA, M. *et al.* Attenuation of cardioprotective effect by postconditioning in coronary stenosed rat heart and its restoration by carvedilol. **Circulation Journal**, v. 72, p. 2081–2086, 2008.
- OLIVEIRA, G. M. M. *et al.* Estatística Cardiovascular – Brasil 2020. **Arq Bras Cardiol**, v. 115, n. 3, p. 308–439, 2020.

- ONG, S.; HAUSENLOY, D. J. Hypoxia-inducible factor as a therapeutic target for cardioprotection. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 136, p. 69–81, 2012.
- ONG, S. *et al.* Inflammation following acute myocardial infarction: Multiple players, dynamic roles, and novel therapeutic opportunities. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 186, p. 73–87, 2018.
- ORTIZ, V. D. *et al.* Effects of thyroid hormones on aortic tissue after myocardial infarction in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 791, p. 788–793, 2016.
- ORTIZ, V. D. *et al.* Carvedilol and thyroid hormones co-administration mitigates oxidative stress and improves cardiac function after acute myocardial infarction. **European Journal of Pharmacology**, v. 854, p. 159–166, 2019.
- ORTIZ, V. D. *et al.* Effects of carvedilol and thyroid hormones co-administration on apoptotic and survival proteins in the heart after acute myocardial infarction. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 76, n. 6, p. 698–707, 2020.
- OTTO, T.; FANDREY, J. Thyroid hormone induces hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  gene expression through thyroid hormone receptor  $\beta$ /retinoid X receptor  $\alpha$ -dependent activation of hepatic leukemia factor. **Endocrinology**, v. 149, n. 5, p. 2241–2250, 2008.
- PAIVA-OLIVEIRA, E. L. *et al.* Inflamassoma e sua repercussão clínica: revisão da literatura. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 11, n. 1, p. 96–102, 2012.
- PANTOS, C.; MOUROUZIS, I. The emerging role of TR $\alpha$ 1 in cardiac repair: potential therapeutic implications. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 481482, 2014.
- PANTOS, C. *et al.* Thyroid hormone attenuates cardiac remodeling and improves hemodynamics early after acute myocardial infarction in rats. **European Journal of Cardiothoracic Surgery**, v. 32, p. 333–339, 2007.
- PANTOS, C. *et al.* Thyroid hormone and myocardial ischaemia. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 109, p. 314–322, 2008.
- PANTOS, C. *et al.* Thyroid hormone at supra-physiological dose optimizes cardiac geometry and improves cardiac function in rats with old myocardial infarction. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, n. 3, p. 49–56, 2009.
- PANTOS, C.; MOUROUZIS, I.; COKKINOS, D. V. Rebuilding the post-infarcted myocardium by activating “physiologic” hypertrophic signaling pathways: the thyroid hormone paradigm. **Heart Failure Reviews**, v. 15, p. 143–154, 2010.
- PFEFFER, M. A.; BRAUNWALD, E. Ventricular remodeling after myocardial infarction experimental observations and clinical implications. **Circulation**, v. 81, p. 1161–1172, 1990.
- PIEGAS, L.S., *et al.* Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Tratamento do Infarto agudo do Miocárdio com Supradesnível do Segmento ST. **Arq Bras Cardiol**, v. 93, n. 6 supl.2, p. e179–e264, 2009.
- PINGITORE, A. *et al.* Acute effects of triiodothyronine (T3) replacement therapy in patients with chronic heart failure and low-T3 syndrome: a randomized, placebo-controlled study. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 93, n. 4, p. 1351–1358, 2008.

- PINGITORE, A. *et al.* Usefulness of triiodothyronine replacement therapy in patients with ST elevation myocardial infarction and borderline/reduced triiodothyronine levels (from the THIRST Study). **The American Journal of Cardiology**, v. 123, p. 905–912, 2019.
- PONTES, M. R. N.; LEÃES, P. E. Remodelamento Ventricular: dos Mecanismos Moleculares e Celulares ao Tratamento. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, v. 3, n. 13, p. 1–7, 2004.
- PRABHU, S. D.; FRANGOIANNIS, N. G. The biological basis for cardiac repair after from inflammation to fibrosis. **Circulation Research**, v. 119, p. 91–112, 2016.
- REN, J. *et al.* Role of p38 a MAPK in cardiac apoptosis and remodeling after myocardial infarction. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 38, p. 617–623, 2005.
- ROTH, G. A. *et al.* Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019 Update From the GBD 2019 Study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 76, n. 25, p. 2982–3021, 2020.
- ROULEAU, J. L. *et al.* Activation of neurohumoral systems following acute myocardial infarction. **The American Journal of Cardiology**, v. 68, p. 80D–86D, 1991.
- SCHENKEL, P. C. *et al.* Redox-sensitive prosurvival and proapoptotic protein expression in the myocardial remodeling post-infarction in rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 341, p. 1–8, 2010.
- SCHWARZ, K. *et al.* Apoptosis at a distance: Remote activation of caspase-3 occurs early after myocardial infarction. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 281, p. 45–54, 2006.
- SEOK, J. K. *et al.* Therapeutic regulation of the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases. **Archives of Pharmacal Research**, v. 44, p. 16–35, 2021.
- SIA, Y. T. *et al.* Long-term effects of carvedilol on left ventricular function, remodeling, and expression of cardiac cytokines after large myocardial infarction in the rat. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 39, p. 73–87, 2002.
- SINGAL, P. K. *et al.* Oxidative Stress status in the transition of hypertrophy to heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 4, p. 353–360, 1999.
- SUN, Y.L. *et al.* Comparison of low and high doses of carvedilol on restoration of cardiac function and calcium-handling proteins in rat failing heart. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 32, p. 553–560, 2005.
- SUSSMAN, M. A. *et al.* Myocardial akt: the omnipresent nexus. **Physiol Rev**, v. 91, n. 3, p. 1023–1070, 2011.
- SUTTON, M. G. S. J.; SHARPE, N. Clinical cardiology: new frontiers left ventricular remodeling after myocardial infarction pathophysiology and therapy. **Circulation**, v. 101, p. 2981–2988, 2000.
- SWYNGHEDAUW, B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. **Physiological reviews**, v. 79, n. 1, p. 215–262, 1999.
- TAKAHASHI, M. Role of NLRP3 inflammasome in cardiac inflammation and remodeling after myocardial infarction. **Biol. Pharm. Bull**, v. 42, n. 4, p. 518–523, 2019.
- TAKANO, H. *et al.* Implication of cardiac remodeling in heart failure: mechanisms and therapeutic strategies. **Internal Medicine**, v. 42, p. 465–469, 2003.

- TAKEMURA, G.; FUJIWARA, H. Role of apoptosis in remodeling after myocardial infarction. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 104, p. 1–16, 2004.
- TAVARES, A. M. V. *et al.* Bone marrow derived cells decrease inflammation but not oxidative stress in an experimental model of acute myocardial infarction. **Life Sciences**, v. 87, p. 699–706, 2010.
- THYGESEN, K. *et al.* Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). **Journal of the American College of Cardiology**, v. 72, n. 18, p. 2231–2264, 2018.
- TOLDO, S.; ABBATE, A. The NLRP3 inflammasome in acute myocardial infarction. **Nature Publishing Group**, 2017.
- VARGAS, R.; VIDELA, L. A. Thyroid hormone suppresses ischemia-reperfusion-induced liver NLRP3 inflammasome activation: Role of AMP-activated protein kinase. **Immunology Letters**, v. 184, p. 92–97, 2017.
- WANG, Z. *et al.* Targeting NLRP3 (Nucleotide-Binding Domain, Leucine- Rich-Containing Family, Pyrin Domain-Containing-3) inflammasome in cardiovascular disorders. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 38, p. 2765–2779, 2018.
- WATTS, E. R.; WALMSLEY, S. R. Inflammation and hypoxia: HIF and PHD isoform selectivity. **Trends in Molecular Medicine**, v. 25, n. 1, p. 33–46, 2019.
- WEIL, B. R.; NEELAMEGHAM, S. Selectins and Immune Cells in Acute Myocardial Infarction and Post-infarction Ventricular Remodeling : Pathophysiology and Novel Treatments. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1–15, 2019.
- WHELAN, R. S.; KAPLINSKIY, V.; KITSIS, R. N. Cell death in the pathogenesis of heart disease: mechanisms and significance. **Annual Review of Physiology**, v. 72, p. 19–44, 2010.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Cardiovascular diseases (CVDs)**. WHO, 2021. Disponível em: [www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-cvds](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-cvds). Acesso em: 22 fev. 2022.
- WIERSINGA, W. M.; LIE, K. I.; TOUBER, J. L. Thyroid hormones in acute myocardial infarction. **Clinical Endocrinology**, v. 14, p. 367–374, 1981.
- WILLIAMS, L. T. *et al.* Thyroid hormone regulation of  $\beta$ -adrenergic receptor number. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 252, p. 2787–2789, 1977.
- XIA, P.; LIU, Y.; CHENG, Z. Signaling Pathways in Cardiac Myocyte Apoptosis. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1–22, 2016.
- XIAO, R. *et al.* Subtype-specific  $\beta$ -adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. **TRENDS in Pharmacological Sciences**, v. 25, n. 7, p. 358–365, 2004.
- YAMAGUCHI, H.; WANG, H. The protein kinase PKB / Akt regulates cell survival and apoptosis by inhibiting Bax conformational change. **Oncogene**, v. 20, p. 7779–7786, 2001.
- YEH, C. *et al.* Distinctive ERK and p38 signaling in remote and infarcted myocardium during post-mi remodeling in the mouse. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 109, n. 6, p. 1185–1191, 2010.
- YEN, P. M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. **Physiological reviews**, v. 81, n. 3, p. 1097–1142, 2022.





YOSHIKAWA, T. *et al.* Cardiac adrenergic receptor effects of carvedilol. **European Heart Journal**, v. 17, p. 8–16, 1996.

ZHANG, J. *et al.* Effect of carvedilol on cardiomyocyte apoptosis in a rat model of myocardial infarction: A role for toll-like receptor 4. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 45, n. 5, p. 458–463, 2013.

ZORNOFF, L. A. M. *et al.* Remodelação ventricular pós-infarto do miocárdio: conceitos e implicações clínicas. **Arq Bras Cardiol**, v. 92, n. 2, p. 157–164, 2009.

## 10 ANEXOS

	<b>U F R G S</b> UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	<b>PRÓ-REITORIA DE PESQUISA</b> Comissão De Ética No Uso De Animais	
---	--	--	---

**CARTA DE APROVAÇÃO**

**Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:**

**Número:** 35566

**Título:** Influência da co-administração dos hormônios da tireoide e do carvedilol sobre o balanço autonômico e os processos envolvidos no remodelamento ventricular após o infarto agudo do miocárdio

**Vigência:** 01/08/2018 à 01/08/2022


**Pesquisadores:**

**Equipe UFRGS:**

ALEX SANDER DA ROSA ARAUJO - coordenador desde 01/08/2018  
VANESSA DUARTE ORTIZ - Aluno de Doutorado desde 01/08/2018

***Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de para a utilização de 320 ratos Wistar machos, de 45 dias de idade, provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da UFRGS; de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.***

Porto Alegre, Terça-Feira, 28 de Agosto de 2018



MARCELO MELLER ALIEVI  
Coordenador da comissão de ética

1