

RAQUEL AGIBERT THOMAL

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO CARDÍACA  
EM MODELO EXPERIMENTAL DE HIPOTIREOIDISMO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, do Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente, Área de Concentração em Pediatria.

Orientador: Prof. Dr. Rosalvo Tadeu Hochmuller Fogaça.

Co-Orientador: Prof. Dr. Nelson Itiro Miyague.

CURITIBA

2007

Dedico este trabalho ao meu inesquecível e saudoso pai.

## AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Pediatria e Programa de Pós-Graduação da Saúde da Criança e do Adolescente, pela oportunidade de aprimorar os conhecimentos.

Ao Departamento de Fisiologia do Setor de Ciências Biológicas, Laboratório de Contração Muscular, pela disponibilização dos equipamentos e material.

Ao Laboratório de Técnica Cirúrgica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, local da realização dos exames ecocardiográficos.

Ao Prof. Dr. Rosalvo Tadeu Hochmuller Fogaça, pela colaboração, amizade e auxílio na condução deste trabalho.

Ao Prof. Carlos Estevan Nolf Damiani, grande incentivador, amigo, colaborador em todas as fases da realização deste trabalho.

Ao Prof. Nelson Itiro Miyague, disponibilizando seu tempo e conhecimento para realização dos exames ecocardiográficos.

Ao Biotério da UFPR, Sr Candido José Thomaz Pereira, pela colaboração na obtenção dos animais.

À Gislaine Custódio Piovezan, bioquímica do laboratório de hormônios do Hospital de Clínicas, pela realização dos exames de dosagem hormonal.

À Secretaria Municipal de Saúde, pelo incentivo, apoio e compreensão.

À Clara Lara, secretária do Programa de Pós-Graduação, sempre eficiente nas comunicações.

Aos amigos e colegas que me apoiaram nos momentos tristes e difíceis da vida.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	vi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	ix
<b>RESUMO</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 OBJETIVOS .....	2
1.1.1 Objetivo Geral .....	2
1.1.2 Objetivos Específicos .....	3
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	4
2.1 HISTÓRICO DAS DOENÇAS TIREOIDIANAS .....	4
2.2 PREVALÊNCIA .....	4
2.3 FISIOLOGIA DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS .....	6
2.4 FISIOLOGIA DO MÚSCULO CARDÍACO .....	10
2.4.1 Complexo Protéico Miofibrilar .....	10
2.4.1.1 Actina .....	10
2.4.1.2 Tropomiosina .....	11
2.4.1.3 Complexo troponina .....	11
2.4.1.4 Miosina .....	11
2.4.1.5 Titina .....	12
2.4.1.6 Proteína C ligante da miosina (MyBP-C) .....	12
2.4.1.7 Interação actina-miosina .....	14
2.4.1.8 Ciclo da ponte — encurtamento do sarcômero .....	14
2.5 HORMÔNIO TIREOIDIANO E O SISTEMA CARDIOVASCULAR .....	16
2.6 MECANISMOS CELULARES DA AÇÃO DO HORMÔNIO TIREOIDIANO .....	17
2.6.1 Efeitos genômicos .....	17
2.6.2 Efeitos não-genômicos ou extranucleares .....	20
2.6.2.1 Canal de sódio .....	21

2.6.2.2	Duração do potencial de ação: corrente de K <sup>+</sup> .....	21
2.6.2.3	Trocador NA <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> .....	22
2.6.2.4	Atividade da Ca <sup>2+</sup> ATPase sarcolemal .....	22
2.6.2.5	Atividade da SERCA2 .....	22
2.7	ALTERAÇÕES NA CIRCULAÇÃO PERIFÉRICA .....	23
2.8	ALTERAÇÕES DO SISTEMA SIMPÁTICO-ADRENAL .....	23
2.9	ALTERAÇÕES NA FUNÇÃO CARDÍACA .....	25
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
3.1	ANIMAIS EXPERIMENTAIS .....	27
3.1.1	Modelo Experimental de Hipotireoidismo .....	27
3.2	EXPERIMENTOS REALIZADOS COM MÚSCULO CARDÍACO .....	28
3.2.1	Metodologia para as preparações .....	28
3.2.2	Parâmetros avaliados .....	30
3.2.3	Protocolos experimentais .....	30
3.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ELÉTRICA DO CORAÇÃO MEDIANTE ELETROCARDIOGRAFIA .....	31
3.4	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO CARDÍACA PELA ECOCARDIOGRAFIA ....	31
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	33
3.6	FÁRMACO E REAGENTES .....	33
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
4.1	EXPERIMENTOS REALIZADOS PARA A DETERMINAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL E DA CONTRAÇÃO ISOMÉTRICA DOS MÚSCULOS PAPILARES .....	34
4.1.1	Dosagens Hormonais .....	34
4.1.2	Pressão Arterial .....	35
4.1.3	Contração Isométrica dos Músculos Papilares .....	36
4.1.4	Eletrocardiograma .....	41
4.1.5	Ecocardiograma .....	42
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>69</b>
<b>7</b>	<b>APÊNDICE</b> .....	<b>70</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>76</b>

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- VALORES DE $T_3$ , $T_4$ E TSH NO GRUPO CONTROLE E NO GRUPO EXPERIMENTAL .....	34
TABELA 2	- VALORES DA PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO E CONTROLE (mmHg) .....	35
TABELA 3	- VALORES MÉDIOS DOS TEMPOS DE ATIVAÇÃO, RELAXAMENTO, DE ATIVAÇÃO MÉDIA E TEMPO GASTO PARA RELAXAMENTO .....	38
TABELA 4	- VALORES DE VELOCIDADE MÁXIMA DE PRODUÇÃO DE FORÇA (+df/dt) E DE RELAXAMENTO (-df/dt) EXPRESSAS EM g/seg DE PAPILARES ISOLADOS DE RATOS CONTROLE E HIPOTIREÓIDEO, EM SOLUÇÃO DE TYRODE - 2 mM DE CÁLCIO .....	40
TABELA 5	- VALORES DE VELOCIDADE MÁXIMA DE PRODUÇÃO DE FORÇA (+df/dt) E DE RELAXAMENTO (-df/dt) EXPRESSAS EM g/seg DE PAPILARES ISOLADOS DE RATOS CONTROLE E HIPOTIREÓIDEO, EM SOLUÇÃO DE TYRODE - 10 mM DE CÁLCIO .....	40
TABELA 6	- VALORES DE PERFORMANCE CARDÍACA DE ANIMAIS CONTROLE E HIPOTIREÓIDEOS POR ECOCARDIOGRAFIA .....	44
TABELA 7	- VALORES DA PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO E GRUPO CONTROLE (mmHg) .....	70
TABELA 8	- TABELA DOS TEMPOS DE ATIVAÇÃO, RELAXAMENTO, DE ATIVAÇÃO MÉDIA E TEMPO GASTO PARA O RELAXAMENTO NO CONTROLE (unidade – mseg) .....	71
TABELA 9	- TABELA DOS TEMPOS DE ATIVAÇÃO, RELAXAMENTO, DE ATIVAÇÃO MÉDIA E TEMPO GASTO PARA O RELAXAMENTO NO HIPOTIREOIDISMO (mseg) .....	71
TABELA 10	- VALORES DE PERFORMANCE CARDÍACA DE ANIMAIS CONTROLE OBTIDOS POR ECOCARDIOGRAFIA .....	72

TABELA 11	- VALORES DE PERFORMANCE CARDÍACA DE ANIMAIS CONTROLE COM HIPOTIREOIDISMO OBTIDOS POR ECOCARDIOGRAFIA .....	73
TABELA 12	- VALORES DE $df/dt$ CÁLCIO EXTERNO = 10 mM EXPRESSOS EM g/seg .....	74
TABELA 13	- VALORES DE $df/dt$ CÁLCIO EXTERNO = 2 mM EXPRESSOS EM g/seg .....	75

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	- REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA MOLECULAR DO SARCÔMERO MOSTRANDO OS FILAMENTOS FINOS E GRANOS .....	13
FIGURA 2	- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO DE PONTES CRUZADAS NO MÚSCULO ESTRIADO .....	15
FIGURA 3	- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MECANISMO DE AÇÃO DO T <sub>3</sub> .....	16
FIGURA 4	- SÍTIOS DE AÇÃO DO T <sub>3</sub> NOS MIÓCITOS CARDÍACOS ....	20
FIGURA 5	- EXEMPLO DE REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL .....	35
GRÁFICO 1	- REPRESENTAÇÃO DA FORÇA MÁXIMA NAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO NOS GRUPOS CONTROLE E HIPOTIREOIDISMO .....	37
FIGURA 6	- EXEMPLO DE REGISTROS TÍPICOS DE CONTRAÇÕES ISOMÉTRICAS DE MÚSCULOS PAPILARES DE RATOS (UM CONTROLE E UM HIPOTIREÓIDEO) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE Ca <sup>2+</sup> (ZERO Ca <sup>2+</sup> , 2 mM; 5 mM e 10 mM) .....	38
FIGURA 7	- EXEMPLO DE UM REGISTRO TÍPICO DE POTENCIAÇÕES PÓS-PAUSA (15; 30 E 60 s) OBTIDOS DE UM RATO CONTROLE E UM HIPOTIREÓIDEO .....	39
FIGURA 8	- EXEMPLO DE TRAÇADO ELETROCARDIOGRÁFICO DE UM ANIMAL CONTROLE E DE UM HIPOTIREÓIDEO .....	41
FIGURA 9	- EXEMPLO DE IMAGEM ECOCARDIOGRÁFICA OBTIDA DE UM RATO VISUALIZANDO O VOLUME CARDÍACO ....	43
FIGURA 10	- EXEMPLO DE IMAGEM ECOCARDIOGRÁFICA DE UM RATO VISUALIZANDO A ONDA A E ONDA E .....	43
FIGURA 11	- EXEMPLO DE UMA IMAGEM ECOCARDIOGRÁFICA, DEMONSTRANDO O CÁLCULO DO ÍNDICE DE TEI .....	44



## LISTA DE ABREVIATURAS

+df/dt	-	Velocidade de contração
ACTH	-	Hormônio adrenocorticotrófico
Akt	-	Proteína quinase
AMPC	-	Monofosfato cíclico de adenosina
AP	-	Gradiente de pressão
APD	-	Duração potencial de ação
ATPase	-	Trifosfato de adenosina
AV	-	Volume diastólico
CPP	-	Contração pós-pausa
D <sup>1</sup>	-	Desiodase do tipo 1
D <sup>2</sup>	-	Desiodase do tipo 2
D <sup>3</sup>	-	Desiodase do tipo 3
DNA	-	Ácido desoxirribonucléico
DS	-	Débito sistólico
DT	-	Tensão máxima
-df/dt	-	Velocidade de relaxamento
EV	-	Coeficiente volume/elasticidade
F	-	pico de força isométrica
FC	-	Frequência cardíaca
FE%	-	Fração de ejeção
FEVE	-	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
GH	-	Hormônio do crescimento
GMPc	-	Monofosfato cíclico de guanosina
GRKs	-	Proteína G ligada ao receptor quinase
HCN2	-	Gene codificado canais rápidos
HCN4	-	Gene codificado componente lento
I <sub>k</sub>	-	<i>Slowly inactivating current</i> (corrente de K <sup>+</sup> de inativação lenta)
I-Ks	-	Densidade de corrente de potássio
I <sub>to</sub>	-	<i>Transient outward current</i> (corrente transitória independente)
LDB	-	<i>Ligand binding domain</i> (domínio ligador do ligante)
MHC	-	Cadeia pesada de miosina
MLC	-	Cadeia leve de miosina

MyHC	-	Proteína ligante de miosina
NCX	-	Trocador Na/Ca <sup>2+</sup>
NOS	-	Óxido nítrico sintetase
PD	-	Pressão diastólica
PIP2	-	Fosfatidilinositol
PKA	-	Proteína quinase A
PKC	-	Proteína quinase C
PLB	-	Fosfolambano
PR	-	Potenciação da contração isométrica
PS	-	Pressão sistólica
R	-	Resistência vascular
RFA	-	Fração de recirculação de Ca <sup>2+</sup>
RNA <sub>m</sub>	-	Ácido ribonucléico mensageiro
RS	-	Reticulo sarcoplasmático
RVP	-	Resistência vascular periférica
SERCA2	-	Bomba de Ca <sup>2+</sup> do RS
SNC	-	Sistema nervoso central
T <sub>3</sub>	-	Triiodotironina
T <sub>4</sub>	-	Tiroxina
TA	-	Tempo de ativação
TBG	-	Globulina ligadora de tiroxina
TNC	-	Troponina C
TNI	-	Troponina I
TNT	-	Troponina T
TR	-	Receptor de hormônio tireoidiano
TRe	-	Tempo de relaxamento
TREs	-	Elementos responsivos aos hormônios tireoidianos
TRH	-	Hormônio liberador da tireotropina
TRIV	-	Tempo de relaxamento isovolumétrico
TSH	-	Hormônio estimulante da tireóide
TSH-R	-	Receptor do TSH
TTR	-	Transtiretina
V	-	Volume de sangue

## RESUMO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de mortalidade e morbidade em todo o mundo. Distúrbios da função tireoidiana provocam alterações do débito cardíaco e da pressão arterial por alterarem a contratilidade miocárdica (débito sistólico), a velocidade de relaxamento diastólico, a elastância vascular e da parede miocárdica, a frequência cardíaca, o retorno venoso e a resistência vascular periférica total. Tem sido demonstrado que o hipotireoidismo provoca redução da frequência cardíaca, diminuições da contratilidade e da velocidade de relaxamento miocárdico, do retorno venoso e aumento da resistência vascular periférica total. Neste trabalho a performance cardíaca de ratos hipotireóideos (induzida pela administração de metimazol) foi avaliada mediante o emprego de ecocardiografia, eletrocardiografia, mensuração da força, da velocidade máxima de contração e relaxamento, da potenciação pós-pausa de papilares isolados eletricamente estimulados bem como a pressão arterial. Os animais com hipotireoidismo apresentaram redução estatisticamente significativa da frequência cardíaca e da fração de ejeção ventricular; aumento do volume sistólico, do índice de Tei, do tempo sistólico, diastólico, de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e da onda A, sem contudo, ocorrer alteração do volume diastólico final. Como consequência, apresentaram redução do débito sistólico e do débito cardíaco. Como os níveis de pressão arterial não se alteraram de forma significativa, deduz-se que a resistência vascular periférica total foi incrementada. Em papilares isolados eletricamente estimulados, não ocorreu alteração na força máxima produzida, na velocidade máxima de contração isométrica ou na potenciação pós-pausa, tendo ocorrido, no entanto, redução da velocidade máxima de relaxamento isométrico. Estes dados demonstram que *in vivo* o hipotireoidismo produz redução da contratilidade miocárdica, disfunção diastólica (lusitropismo negativo) e aumento da resistência vascular periférica.

Palavras-chave: Hipotireoidismo, performance cardíaca, ecocardiografia, contração isométrica.

## ABSTRACT

Cardiovascular diseases are important causes of morbidity and mortality. Hypothyroidism have been reported to promote myocardial dysfunction (negative chronotropic, inotropic and lusitropic effects). In this study we investigated the consequences of hypothyroidism on cardiac performance of rats. The cardiac performance was assessed by echo and eletrocardiography and direct force measurements were obtained in isolated papillary muscles. We found that hypothyroidism induced chronotropic, inotropic and lusitropic negative effects. The ejection fraction and cardiac frequency decreased. The systolic volume, Tei index, the total systolic and diastolic times, isovolumic volume relaxation time and wave A increase without alteration in the diastolic final volume. As consequence, the systolic and cardiac outputs were reduced. Since the blood pressure was unaffected, these results suggested that total vascular resistance increased. In papillary muscles, hypothyroidism did not change maximal production of force, maximal rate of contraction, pos pause potentiation or the force/extracelullar calcium relationship. However the maximal rate of relaxation was decreased. Taken together, these data suggest that hypothyroidism induces reduction on myocardial contractility, diastolic dysfunction (negative lusitropic and chronotropic effects) and increase in vascular peripheral resistance.

Key-words: hypothyroidism, cardiac performance, echocardiography, isometric contraction.

## 1 INTRODUÇÃO

Os distúrbios da tireóide, uma das mais freqüentes anormalidades endócrinas, exercem profundos efeitos na função cardíaca e em parte na modificação do complexo miofibrilar do músculo cardíaco (POLIKAR et al., 1993; DILLMANN, 1990). Há muito tempo que foi reconhecido o efeito exercido pelo hormônio tireoidiano no sistema cardiovascular e anormalidades na sua produção podem causar doença cardiovascular (HAMDY, 2002). Nas últimas décadas pesquisadores mostraram que o hormônio tireoidiano é essencial para o desenvolvimento e diferenciação muscular (DIECKMAN & SOLARO, 1990).

As alterações nas velocidades de contração sistólica, relaxamento diastólico, freqüência cardíaca, resistência vascular periférica total e pressão arterial encontram-se na literatura com descrições clínicas e investigação utilizando modelos animais (STREETEN et al., 1988; FOMMEI & IERVASI, 2002; WEGENER et al., 2003; KAASIK et al., 1997a; SHENOY et al., 2001; ROHRER & DILLMANN, 1988).

Está bem estabelecido que o hormônio tireoidiano altera a contratilidade cardíaca alterando as funções sistólica e diastólica. Os efeitos inotrópicos do  $T_3$  são mediados em parte por sua capacidade para regular a transcrição dos genes codificando as proteínas transportadoras de cálcio do sarcolema e do retículo sarcoplasmático bem como proteínas específicas miofibrilares. A contração do cardiomiócito é dependente primariamente da liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático que é desencadeado pelo  $Ca^{2+}$  que entra pela via canal de  $Ca^{2+}$  tipo L durante a despolarização da membrana. O relaxamento do miócito durante a diástole envolve a recaptação de cálcio para o retículo sarcoplasmático pela ativação da SERCA2.

A estimulação elétrica de preparações isoladas de músculo cardíaco (músculo papilar ou trabecular), fornece informações do estado contrátil e eletrofisiológico do miocárdio de indivíduos com hipotireoidismo (DIMEO et al., 1997b; ROSAROLL et al., 1996; DIMEO et al., 1995; BING et al., 1994; DIMEO et al., 1994; PENNOCK et al., 1994; DIMEO et al., 1993; GIBSON et al., 1992; SNOW et al., 1992; ROSAROLL et al., 1991; SHARP et al., 1985). Tem sido demonstrado, nestas condições experimentais, que o hipotireoidismo reduz a velocidade de repolarização, aumentando como conseqüência a duração do potencial de ação

(DIMEO et al., 1997a; DIMEO et al., 1997b; DIMEO et al., 1994) e modulando o estado contrátil por alterações no processo de acoplamento excitação- contração e nas mudanças das isoformas da miosina (BING et al., 1994; YAGI et al., 2001).

Atualmente, utiliza-se em humanos a ecocardiografia como método não-invasivo, para definir parâmetros seriados e monitorar defeitos congênitos, progressão de doenças e estabelecer critérios para o tratamento. A utilização desta técnica é ainda relativamente incomum como método de estudos em animais de experimentação. No entanto, o emprego desta técnica isoladamente ou em combinação com outras pode fornecer informações acerca da fisiopatologia de inúmeras doenças como as de disfunção tireoidiana.

Parâmetros como as dimensões atriais e ventriculares bem como os de performance cardíaca têm permitido estudar de forma longitudinal processos patológicos como o da persistência do ducto arterioso e de disfunção tireoidiana (SLAMA et al., 2005; BROWN et cols, 2002). O emprego desta técnica em animais de experimentação submetidos ao hipotireoidismo crônico tem contribuído para a fisiopatologia desta doença.

No presente estudo, propomos avaliar no modelo experimental as funções sistólica, diastólica, pressão arterial, eletrocardiograma, contração isométrica dos músculos papilares de animais eutireóideos e hipotireóideos.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Estudar os efeitos do hipotireoidismo, na atividade elétrica e mecânica cardíaca em ratos, utilizando as técnicas de ecocardiograma, eletrocardiograma, mensuração da pressão arterial e de força e contração de músculos papilares isolados.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os níveis de pressão arterial no modelo experimental de hipotireoidismo induzido pela administração de metimazol.
- Averiguar nos músculos papilares os efeitos do hipotireoidismo, a velocidade máxima de produção de força ( $+df/dt$ ) e de relaxamento ( $-df/dt$ ) em condição isométrica.
- Avaliar possíveis alterações eletrocardiográficas no modelo experimental de hipotireoidismo.
- Avaliar, mediante o emprego de ecocardiografia, parâmetros da performance cardíaca (Fração de Ejeção, Volume Sístólico, Volume Diastólico Final, Débito Sístólico, Índice de Tei, Tempo Diastólico Total de animais normais e submetidos ao hipotireoidismo).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO DAS DOENÇAS TIREOIDIANAS

A primeira descrição detalhada da glândula tireóide foi realizada pelo anatomista Thomas Wharton em 1656, e publicada no seu livro “*Adenographia*”. Este anatomista descreveu detalhadamente a anatomia das glândulas do corpo e designou para cada uma delas um grupo geral de funções na fisiologia do organismo. A tireóide foi descrita com detalhes, em particular a sua grande vascularização e com funções de lubrificar a laringe, aquecer a cartilagem hióide e proporcionar beleza para o pescoço (HAMDY, 2002).

A relação entre o aumento da glândula tireóide e características clínicas do hipertireoidismo não foi reconhecida até 1786. Nessa data o médico britânico Caleb Hillier Parry realizou o primeiro estudo associando o aumento da área da tireóide com o aumento da área cardíaca, o qual foi publicado 40 anos mais tarde, em 1825. Essa publicação foi seguida pela descrição clássica de Robert Graves e Von Basedow, em 1835 e 1840, respectivamente (HAMDY, 2002).

As manifestações cardiovasculares do mixedema permaneceram irreconhecível até 1918, quando H. Zondek, de Munique, descreveu o que denominou de “*Myxödemher*”, com características clínicas clássicas e alterações eletrocardiográficas de um quadro de mixedema avançado. Ele também observou a reversibilidade destas alterações após tratamento com extrato de tireóide (KAHALY & DILLMANN, 2005; HAMDY, 2002).

### 2.2 PREVALÊNCIA

Apesar de a disfunção da tireóide ser uma patologia comum, não existe uma pesquisa populacional da prevalência da doença no Brasil. Existem alguns estudos, como o inquérito sobre a prevalência de bócio endêmico em 428 municípios do território brasileiro entre escolares com idade entre 6 e 14 anos. Este, realizado nos anos 1994 a 1996, revelou a prevalência média nacional de 4%; havia municípios com valores de 20% ou mais (CORREA FILHO et al., 2002).



Dados da Sociedade Brasileira de triagem neonatal para o hipotireoidismo mostram a prevalência de 1:36944 em 2001 e 1:3808 em 2002 (CARVALHO, T.M. et al., 2003).

No estado do Paraná a triagem neonatal foi implantada em 1990. Foram avaliados e acompanhados 601 casos na Unidade de Endocrinologia Pediátrica da UFPR e até o final de 2004, com uma prevalência de 1:3953 (NESI-FRANÇA et al., 2005).

Nascimento et al. (1997), realizaram estudo utilizando-se dos resultados do programa de detecção precoce de hipotireoidismo congênito, no período de julho de 1993 a dezembro de 1994, no estado de Santa Catarina, com casos não confirmados de 1:2500.

Na população em geral a prevalência da disfunção da tireóide varia de acordo com a faixa etária, fatores étnicos, nível de ingestão de iodo. Além disso, os resultados dependem do modelo de estudo utilizado na população. Mendonça & Jorge (2002) avaliaram 198 indivíduos com idade entre 50 e 85 anos, detectando-se 25 casos de disfunção tireoidiana que corresponde a 12,6%; os índices oscilam de 0,4% a 3,8% nos homens e de 0,7 % a 11,6% nas mulheres.

Apesar de os hormônios tireoidianos exercerem importantes efeitos no sistema cardiovascular, existem poucos estudos epidemiológicos avaliando a associação entre a disfunção tireoidiana e doença cardiovascular, a maioria destes realizados em grupos selecionados e não na população em geral.

A associação entre disfunção tireoidiana e risco de doenças cardiovasculares foi avaliada em um estudo prospectivo, mostrando relação entre fibrilação atrial e hipertireoidismo, mas o estudo não associou o hipotireoidismo subclínico com doenças cardiovasculares ou mortalidade (CAPPOLA et al., 2006).

Walsh et al. (2005) realizaram estudo numa comunidade australiana de 2018 pessoas com idade entre 17 e 89 anos. A análise transversal indicou que indivíduos com hipotireoidismo subclínico apresentavam maior prevalência de doença coronariana que indivíduos eutireóides. No estudo longitudinal, realizado por um período de 20 anos, verificou-se que a incidência de doença cardiovascular aumentou em pacientes com hipotireoidismo subclínico.

Rodondi et al. (2005) estudaram durante 4 anos uma comunidade americana de 2730 indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 70 e 79 anos.

Constataram a existência de hipotireoidismo subclínico em 338 participantes (12,4%), não encontrando evidências consistentes da associação entre o hipotireoidismo subclínico e doenças cardiovasculares.

### 2.3 FISILOGIA DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

Os hormônios tireoidianos são reguladores-chave do metabolismo, desenvolvimento e crescimento; além de exercerem ampla escala de efeitos nos diferentes órgãos. A glândula tireóide sintetiza e libera triiodotironina ( $T_3$ ) e tiroxina ( $T_4$ ), hormônios que contêm iodo na sua estrutura, e estão presentes em todos os vertebrados.

Cerca de 99% dos hormônios secretados circulam na corrente sangüínea, quase inteiramente ligados a proteínas. Em torno de 0,03% do  $T_4$  plasmático total e 0,4% do  $T_3$  plasmático total existem no estado livre, sendo esta fração responsável pela atividade hormonal. São três as principais proteínas transportadoras: globulina ligadora da tiroxina (TBG), em torno de 70% do  $T_4$  e  $T_3$  circulantes estão ligados esta proteína; 10% a 15% estão ligados a pré-albumina ligadora da tiroxina chamada transtiretina (TTR); e 15% a 20% de  $T_3$  e  $T_4$  se ligam a albumina e 3% se ligam a lipoproteínas. Comparadas à TBG, a TTR e a albumina têm afinidades muito menores, porém capacidades muito maiores de se ligarem a  $T_4$  e ao  $T_3$ .

Tendo em vista que a maior parte do  $T_3$  e  $T_4$  circulantes está ligada a TBG, sua concentração e grau de saturação são os principais determinantes da fração livre de  $T_4$  (BOELAERT & FRANKLYN, 2005; GENUTH, 2004; GREENSPAN, 1997; LARSEN et al., 2003).

Foi demonstrado, em muitas linhagens celulares, o transporte mediado por carreadores de hormônios tireoidianos dependente de energia. O sistema de transporte carreador para  $T_3$  e  $T_4$  é saturável, estereoespecífico e depende de trifosfato de adenosina (ATP).

As proteínas mediadoras desse transporte são o polipeptídeo co-transportador de  $Na^+$ /taurocolato (NTCP), membros da família de transportadores de ânions inorgânicos independentes de  $Na^+$  (OATP), e os transportadores de aminoácidos do tipo L. Os efeitos biológicos do  $T_4$  são em grande parte um resultado de sua conversão intracelular em  $T_3$  (ou  $rT_3$ ) pela 5' desiodase, sugerindo

que o  $T_4$  é um pró-hormônio e o  $T_3$  é a forma ativa do hormônio. Até o momento foram clonadas e identificadas três isoformas de desidases, a do tipo 1 (D1), a do tipo 2 (D2) e a do tipo 3 (D3) (LARSEN et al., 2003).

A enzima tipo 1 ( $T_4$  5'-desiodase) é encontrada predominantemente no fígado e rim humanos; a maior função é fornecer  $T_3$  para o plasma. A sua atividade está aumentada no hipertireoidismo e diminuída no hipotireoidismo (HARVEY & WILLIANS, 2002).

A enzima tipo 2,  $T_4$  5'-desiodase encontra-se distribuída no músculo esquelético e cardíaco, sistema nervoso central (SNC), pele e hipófise; tem a sua atividade elevada no hipotireoidismo e diminuída no hipertireoidismo. Além disso, em alguns tipos celulares, a localização de D1 subcelular é na membrana, e a D2 subcelular é no retículo endoplasmático (HARVEY & WILLIANS, 2002).

Tanto D1 quanto D2 são capazes de gerar  $T_3$  (hormônio ativo) e  $3,3'$  $T_2$  (iodotironina inativa) a partir da 5'-desiodação do  $T_4$  e  $rT_3$ , respectivamente (HARVEY & WILLIANS, 2002).

A terceira isoforma de desidase, a D3 é muito expressa nos tecidos em desenvolvimento, placenta e no útero grávido de ratas; é também encontrada no SNC. Esta apresenta sua atividade elevada no estado de hipertireoidismo e diminuída no hipotireoidismo (LARSEN et al., 2003).

O hormônio tireoidiano age através da ligação a um receptor de hormônio tireoidiano (TR) ligado ao DNA nuclear específico, habitualmente como um heterodímero com um receptor X retinóide (RXR) em seqüências específicas, elementos responsivos aos hormônios tireoidianos (TREs), ditadas pelos sítios de ligação preferenciais do complexo RXR-TR.

O  $T_3$  possui uma afinidade de ligação 15 vezes maior do que o  $T_4$  ao receptor tireoidiano. As ações dos hormônios tireoidianos são resultado primariamente da interação do  $T_3$  com receptores de alta afinidade (receptores tireoidianos — TRs), localizados no núcleo das suas células-alvo. Os TRs pertencem à superfamília de receptores nucleares, que também incluem os receptores retinóides, receptores esteróides, receptores esteróides sexuais, receptores da vitamina D, ácidos graxos, prostaglandinas, bem como “receptores órfãos” com ligação não identificada (BOELAERT & FRANKLYN, 2005; ZHANG & LAZAR, 2000; BRENT, 1994; LARSEN et al., 2003; GENUTH, 2004).

Em seres humanos, dois genes para TRs ( $\alpha$  e  $\beta$ ) são observados em diferentes cromossomos (TR $\alpha$  no cromossomo 17 e TR $\beta$  no cromossomo 3). Diversos produtos gênicos obtidos de *splicing* alternativos, de cada um desses genes, formam produtos gênicos ativos e inativos. Pelo menos dois produtos resultam da expressão de cada gene, TR $\alpha^1$ , TR $\alpha^2$ , TR $\beta^1$  e TR $\beta^2$  e  $\beta^3$ .

Cada receptor possui três domínios funcionais principais: um domínio que se liga ao DNA na região central do receptor (DBD, DNA *binding domain*), é extremamente conservado em toda superfamília por ligar o receptor a seqüências específicas de DNA que promovem a resposta hormonal, os TREs.

O domínio situado na porção carboxi-terminal é menos conservado que o DBD, e é essencial para a ligação do hormônio ou ligante (LBD, *ligand binding domain*) com duas cisteínas ligadas ao zinco e, um domínio fixador do ligante.

Apesar de os domínios desempenharem funções específicas quando separados e testados isoladamente, sabe-se que interagem entre si e participam conjuntamente de processos, como a dimerização e a ativação da transcrição (GRAF, 2000).

A concentração desses receptores nos tecidos varia com o estágio do desenvolvimento e do tecido; as do tipo TR $\beta^1$ , por exemplo, são expressas em todos os tecidos, embora seu RNAm esteja altamente expresso no rim, fígado, cérebro e coração. A maioria dos receptores no cérebro são do tipo TR $\alpha^1$  sendo em níveis mais baixos, expressos no músculo esquelético, pulmão e coração. O RNAm de TR $\beta^3$  é expresso em níveis muito baixos, sendo abundante no fígado ou rins e pulmões em comparação com outros tecidos (BRENT, 1994; WILLIAMS, 2000; GENUTH, 2004; GREENSPAN, 1997; LARSEN et al., 2003).

A principal função do TR como fator transcricional é para regular a expressão do alvo diretamente através do elemento responsivo. O TRE é composto de seqüências repetidas de DNA com diferentes configurações. A ligação do T<sub>3</sub> ao seu receptor resulta na estimulação ou inibição de transcrição de genes com alteração subsequente nos níveis de RNAm, e nas proteínas que estes genes codificam. São alterações na síntese dessas proteínas que medeiam as respostas biológicas ao hormônio tireoidiano (BRENT, 1994; YEN, 2001; BOELAERT & FRANKLYN, 2005; ZHANG & LAZAR, 2000; GREENSPAN, 1997).

O crescimento e a função da glândula tireóide são controlados:

- a) clássico eixo hipotálamo-hipófise-tireóide no qual o hormônio liberador da tireotropina (TRH) estimula a síntese e liberação do hormônio estimulante da tireóide (TSH);
- b) as desidases periféricas, as quais modificam os efeitos do  $T_4$  e  $T_3$ ;
- c) auto-regulação da síntese hormonal pela glândula tireóide em relação ao suprimento de iodo;
- d) estimulação ou inibição da função da tireóide pelos auto-anticorpos, estimuladores ou inibidores do receptor de TSH.

O TRH é sintetizado pelos núcleos supra-ópticos e supra-ventriculares do hipotálamo e armazenado na eminência mediana; e atinge suas células-alvo através da veia porta lipofisária. O TRH interage, então, com receptores específicos da membrana plasmática nos tireótrofos. Esta interação desencadeia um fluxo de cálcio e um aumento nos produtos fosfatidilinositol, que agem como segundos mensageiros. O TSH (hormônio estimulante da tireóide) é então liberado por exocitose. A secreção do TSH estimulada pelo TRH ocorre de maneira pulsátil durante as 24 horas. Indivíduos normais têm a amplitude média do pulso de TSH em torno de  $0,6\mu$  U/mL e uma frequência média de um pulso a cada 1,8 hora. Além disso, indivíduos normais mostram um ciclo circadiano, com pico sérico de TSH à noite (GENUTH, 2004; GREENSPAN, 1997; LARSEN et al., 2003).

O TSH, é uma glicoproteína sintetizada na adeno-hipófise; as células produtoras de TSH normalmente formam 5% da população da hipófise anterior humana adulta e são encontradas predominantemente na área ântero-medial da glândula. O TSH é o fator primário controlando o crescimento das células tireoidianas e a síntese e secreção dos hormônios tireoidianos. Ele atinge seu efeito se fixando a receptores específicos das membranas baso-laterais das células foliculares da tireóide (TSH-R), ativando a ambos o monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) e o fosfatidilinositol (PIP2) com aumento do íon cálcio intracelular. As principais ações do TSH incluem mudanças na morfologia e crescimento da célula tireoidiana e estimulação do metabolismo do iodo (GREENSPAN, 1997).

A auto-regulação pode ser definida como a capacidade da glândula tireóide de modificar sua função para adaptar-se a mudanças na disponibilidade ao iodo, independente do TSH adeno-hipofisário. Assim os humanos podem manter a

secreção do hormônio com a ingestão de iodo diário (GREENSPAN, 1997; LARSEN et al., 2003).

## 2.4 FISILOGIA DO MÚSCULO CARDÍACO

O coração é composto de diferentes tipos de células sendo, portanto, um órgão complexo; os cardiomiócitos são células que exibem propriedades contráteis, sendo as mais abundantes no coração e compõem mais da metade do volume celular. São formadas de proteínas miofibrilares ou miofibrilas, e estão sob controle transcricional e pós-transcricional, e mudam sua dinâmica dependendo da idade, espécie, condições fisiológicas e patológicas, incluindo desequilíbrio endócrino.

Os distúrbios da tireóide, uma das mais freqüentes anormalidades endócrinas, exercem profundos efeitos na função cardíaca e em parte na modificação do complexo miofibrilar (POLIKAR et al., 1993; DILLMANN, 1990).

### 2.4.1 Complexo protéico miofibrilar

A maior função dos miócitos cardíacos no processo cíclico de contração e relaxamento está baseada na regulação e interação complexa entre as proteínas contráteis e as diferentes membranas protéicas no coração, processo que requer a participação do  $Ca^{2+}$ . As proteínas responsáveis pelo mecanismo contrátil do coração incluem a actina, miosina, tropomiosina e troponina (GORDON et al., 2000).

#### 2.4.1.1 Actina

Proteína globular com duas cadeias helicoidais de filamento fino, sendo o principal sítio para regulação do comprimento do sarcômero. A nebulina, uma proteína alongada do citoesqueleto estende-se ao longo do filamento fino e pode participar na regulação do comprimento do sarcômero.

#### 2.4.1.2 Tropomiosina

Molécula composta de 2 cadeias  $\alpha$  peptídicas helicoidais que se estendem por todo o filamento de actina, cobrindo os sítios de ligações da miosina nas moléculas de actina. Cada dímero de tropomiosina se estende por sobre sete moléculas de actina, com os dímeros seqüenciais da tropomiosina arranjados em uma configuração cabeça-cauda. Um complexo de troponina consistindo de três subunidades (troponina T, troponina I e troponina C) está presente sobre cada dímero de tropomiosina e influencia a posição da molécula de tropomiosina no filamento de actina e, portanto, regula a interação entre a actina e miosina. Durante o relaxamento muscular, quando os níveis citoplasmáticos de  $\text{Ca}^{2+}$  estão baixos, a tropomiosina bloqueia o sítio de ligação da cabeça da miosina na actina. Durante a fase 2 do potencial, o  $\text{Ca}^{2+}$  é liberado no espaço do miofilamento do retículo sarcoplasmático (RS) e liga-se à troponina C, a qual causa a mudança conformacional na posição da tropomiosina na actina expondo o sítio de ligação da miosina (GORDON et al., 2000).

#### 2.4.1.3 Complexo troponina

O complexo troponina apresenta três subunidades protéicas: troponina T, troponina C e troponina I. Todos os componentes são encontrados a cada 7 monômeros de actina e na ausência de  $\text{Ca}^{2+}$  regula a posição da molécula de tropomiosina no filamento de actina e portanto, a possibilidade da tropomiosina inibir ligações da miosina ao filamento de actina (MACHACKOVA et al., 2005).

#### 2.4.1.4 Miosina

Cada filamento grosso é composto de cerca de 300 moléculas de miosina, a qual tem uma região de cauda e uma região de ponte. A região de ponte é composta de um braço e cabeça globular; a cabeça globular contém componentes de cadeia leve e pesada de miosina. A contratilidade cardíaca é diretamente relacionada ao tipo predominante do tipo de miosina, porque esta proteína motor

define o alcance no qual a contratilidade pode variar em termos de desenvolvimento de força.

A miosina é composta de 2 tipos de cadeias com diferentes pesos moleculares — 2 cadeias pesadas de miosina-(MHC) e 2 pares de cadeias leves (MLC). As MHCs são estruturas moleculares que interagem com actina formando pontes cruzadas e são responsáveis pela conversão de energia química em energia mecânica (MORIKIN, 1993). Os átrios e ventrículos contêm várias MHCs isoformas que diferem em estrutura e atividade de ATPase.

#### 2.4.1.5 Titina

É chamada também de conectina, proteína estrutural gigante, a terceira proteína mais abundante depois da miosina e actina que cruza entre a banda Z e a linha M para formar o “terceiro sistema filamentar”. A titina é crítica em organizar o complexo protéico miofibrilar e contribui para a tensão passiva.

#### 2.4.1.6 Proteína C ligante da miosina (MyBP-C)

A *Myosin-binding protein C* (MyBP-C) é um filamento protéico espesso que está expresso nas fibras lentas e fibras rápidas dos músculos esqueléticos e isoformas cardíacas. Esta proteína possui sítio de ligação para a miosina, titina, actina e isoformas cardíacas, contendo três sítios de fosforilação acessível. Sua exata função fisiológica não está bem compreendida, mas parece desempenhar papel na formação de miofibrilas, como resultado da ligação da miosina e titina durante a miofibrilogênese e na regulação da contração através da fosforilação.

A regulação do processo contrátil também depende dos mecanismos que determinam a concentração de cálcio intracelular e estes envolvem os transportadores de cálcio presentes na membrana do cardiomiócito. No sarcolema do músculo estriado cardíaco, o influxo de cálcio ocorre através de canais lentos de cálcio dependentes da voltagem (canais de cálcio tipo L); os canais rianodínicos, responsáveis pela liberação de cálcio (RS); o trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , que participa na extrusão de cálcio para o meio extracelular na diástole, assim como a bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  do RS (SERCA2), responsável pela recaptção de cálcio para RS.

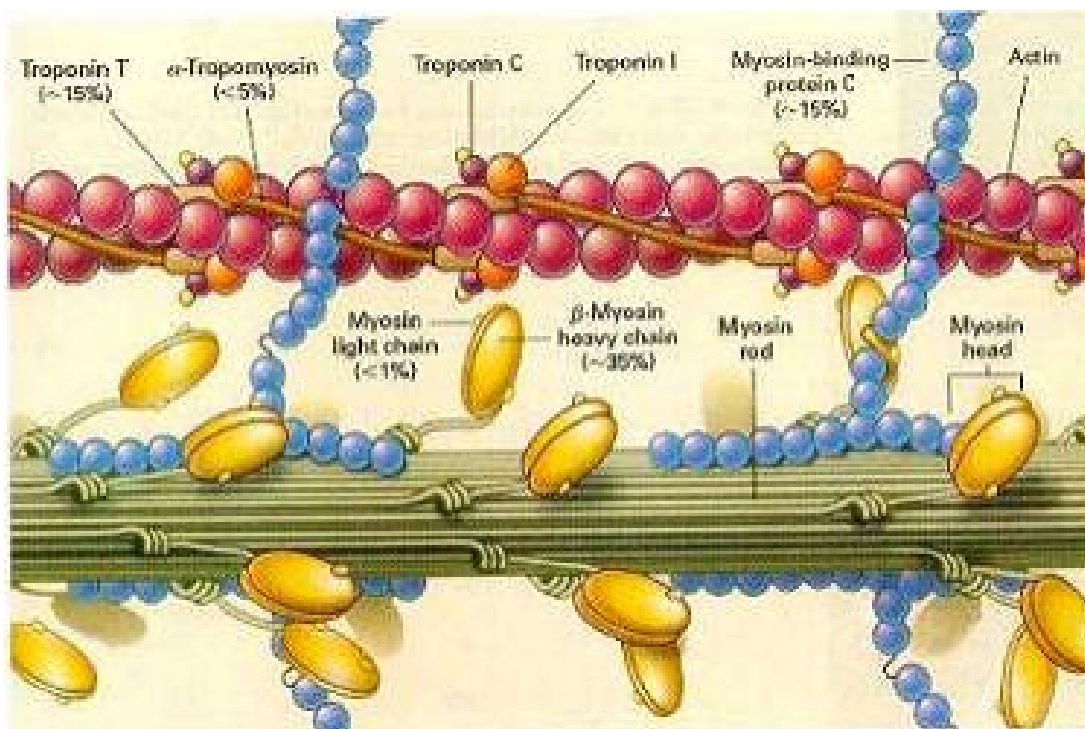


A bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático (SERCA2) tem um papel importante na modulação da contratilidade cardíaca, pois determina a velocidade de recaptação do cálcio do citoplasma para o interior do retículo sarcoplasmático, influenciando, assim, a velocidade de contração muscular, bem como, a quantidade de cálcio "carregada" no RS, que se refere ao estoque de cálcio presente no RS entre as contrações musculares (influenciando na amplitude da força muscular desenvolvida) (BLUHM et al., 2000).

As proteínas do retículo que estão envolvidas no transporte de cálcio são importantes moduladores da contratilidade cardíaca. A atividade da SERCA2 é um fator predominante mediando os efeitos na contratilidade. A atividade da SERCA2 é regulada por uma proteína que desempenha um papel inibitório, a fosfolamban. Esta inibição pode ser atenuada pela fosforilação do fosfolamban, a qual ocorre via PKA (proteína quinase A) ou proteína quinase dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  calmodulina ou através da elevação da concentração de cálcio (MEYER et al., 1999).

Um desenho esquemático do complexo miofibrilar proteico está representado na Figura 1.

FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA MOLECULAR DO SARCÔMERO MOSTRANDO OS FILAMENTOS FINOS E GRANOS



FONTE: REDWOOD C. et al., 1999.

#### 2.4.1.7 Interação actina-miosina

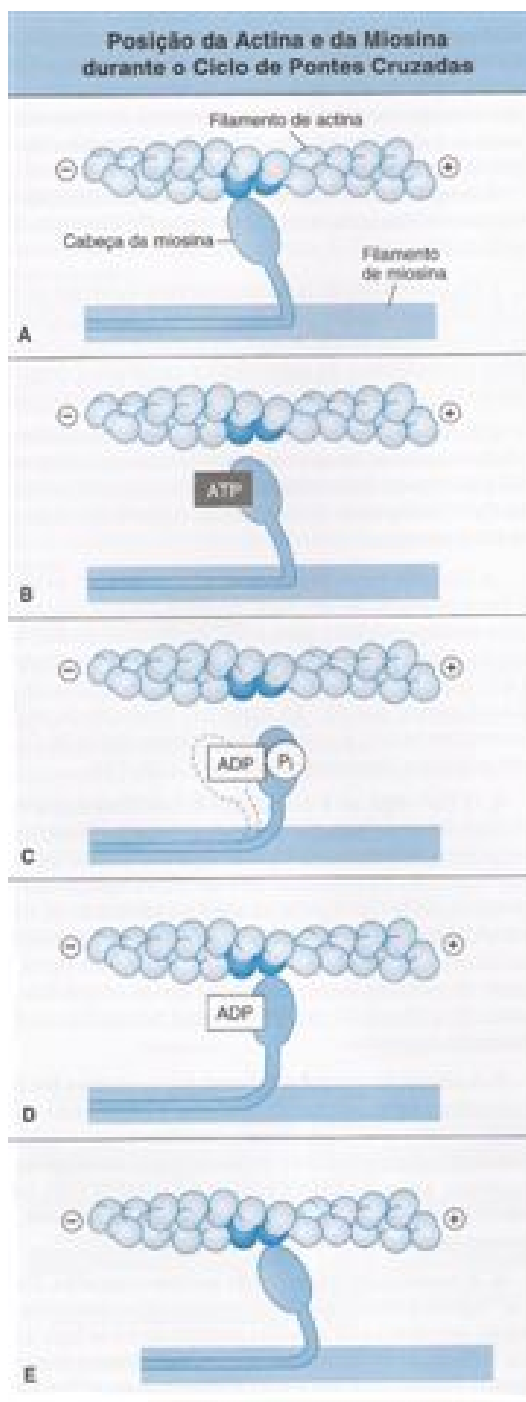
A contração do músculo esquelético é regulada pelo filamento fino e requer um aumento no  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular; a força contrátil aumenta com a elevação da concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  acima de  $0,1 \mu\text{M}$ . O mecanismo pelo qual o cálcio promove este aumento de tensão é o seguinte: o  $\text{Ca}^{2+}$  liberado do RS liga-se à troponina C. Uma vez ligada ao  $\text{Ca}^{2+}$ , a troponina C facilita o movimento da molécula associada de tropomiosina em direção à depressão no filamento de actina. Este movimento da tropomiosina expõe o sítio de ligação da miosina no filamento de actina, permitindo a formação de uma ponte e, desse modo, a geração de tensão. Existem quatro sítios de ligação do  $\text{Ca}^{2+}$  na troponina C. Dois desses sítios têm alta afinidade por  $\text{Ca}^{2+}$ , mas também ligam  $\text{Mg}^{2+}$  no repouso. Esses sítios parecem estar envolvidos no controle e aumento da interação entre as subunidades de troponina I e de troponina T. Os outros dois sítios de ligação têm afinidade mais baixa e ligam  $\text{Ca}^{2+}$  na medida em que a concentração dele se eleva por liberação pelo RS (WATRAS, 2004).

#### 2.4.1.8 Ciclo da ponte — encurtamento do sarcômero

Após a ligação da miosina e actina, a mudança da conformação na molécula de miosina, dependente de ATP, provoca movimento dos filamentos de actina em direção ao centro do sarcômero e contrai a fibra muscular. São quatro passos básicos, chamados de ciclo das pontes. No estado de repouso, a miosina hidrolisa parcialmente o ATP (estado a). Quando o  $\text{Ca}^{2+}$  é liberado da cisterna terminal do RS, ele se liga à troponina C, que por sua vez promove movimento de tropomiosina sobre o filamento da actina, tal que os sítios da ligação miosina-actina são expostos. Isto permite que a “cabeça energizada” da miosina se ligue à actina adjacente (estado b). A miosina sofre então uma mudança conformacional, denominada “ação de engrenagem”, que puxa o filamento de actina em direção ao centro do sarcômero (estado c). A miosina, então, liga um novo ATP, e esta ligação reduz a afinidade da cabeça da miosina com a actina, resultando na associação do complexo actomiosina. A miosina hidrolisa parcialmente o ATP e parte da energia é utilizada para recolocar a cabeça na posição inicial e retornar ao estado de repouso.

Se o  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular estiver ainda elevado, a miosina produzirá um outro ciclo de ponte, e mais contração do músculo, conforme Figura 2 (WATRAS, 2004).

FIGURA 2 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO DE PONTES CRUZADAS NO MÚSCULO ESTRIADO



FONTE: COSTANZO, L. S., 2002.

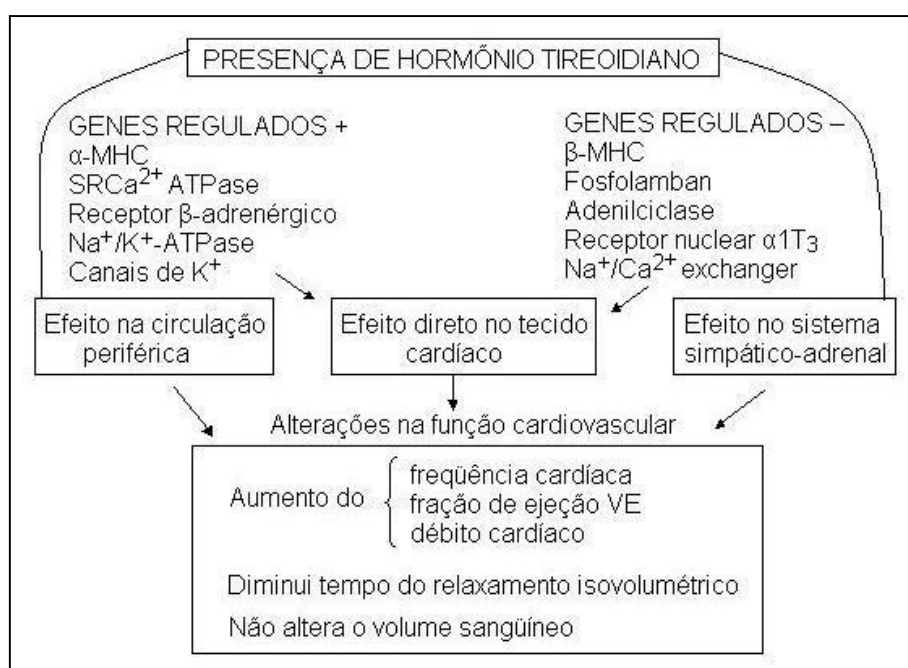
Nota: Mecanismo pelo qual a miosina traciona o filamento de actina.

## 2.5 HORMÔNIO TIREOIDIANO E O SISTEMA CARDIOVASCULAR

As ações do hormônio que influenciam a atividade cardíaca resultam de uma interação com receptores nucleares específicos nos miócitos cardíacos, estão representadas na Figura 3. De modo geral, as alterações nos níveis dos hormônios tireoidianos influenciam, principalmente  $T_3$ , a atividade cardíaca de diferentes modos:

- $T_3$  exerce efeito direto nos miócitos pela ligação com receptores nucleares influenciando a expressão gênica (genômico);
- $T_3$  pode mediar por mecanismo rápido não-nuclear (não genômico);
- $T_3$  pode modificar a susceptibilidade e o tônus do sistema simpático;
- $T_3$  ocasiona alterações hemodinâmicas periféricas como consequência do aumento do consumo de  $O_2$  periférico provocando, conseqüentemente, aumento da contratilidade cardíaca.

FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MECANISMO DE AÇÃO DO  $T_3$



FONTE: MACHACKOVA et al., 2005.

Nota: O efeito do hormônio tireoideano na função cardiovascular inclui a regulação na codificação dos genes para as proteínas cardíacas. A regulação positiva significa que a transcrição do gene relevante para proteína cardíaca na presença de  $T_3$  é estimulada. A regulação negativa significa que a transcrição do gene relevante para proteína cardíaca na presença de  $T_3$  é reprimida..

## 2.6 MECANISMOS CELULARES DA AÇÃO DO HORMÔNIO TIREOIDIANO

### 2.6.1 Efeitos genômicos

Os efeitos diretos de  $T_3$  na função cardíaca são mediados pelas ligações do  $T_3$  com seus sítios de receptor nuclear. A seqüência de eventos conduzindo aos efeitos nucleares de  $T_3$  podem ser descritos da seguinte maneira e estão representadas na Figura 4: o  $T_3$  entra nos cardiomiócitos através de proteínas transportadoras localizadas na membrana celular e, a seguir, no núcleo e interage com agentes transcricionais específicos ativadores (receptor nuclear  $\alpha^1$ ) ou repressores (receptor  $\alpha^2$ ). A ocupação destes receptores pelo  $T_3$ , em conjunto com outros co-fatores, permitem que o complexo hormônio-receptor ative (receptor nuclear  $\alpha^1$ ) ou iniba (receptor  $\alpha^2$ ) seqüências específicas de DNA conhecidas como elementos responsivos ao hormônio tireoideo (TREs). Estes correspondem às seqüências de nucleotídeos, nos quais se ligam receptores de hormônio tireoideo, na forma de monômeros, homodímeros (dois TRs) ou heterodímeros (um TRs e outro receptor nuclear como o do ácido retinóico). Os genes que apresentam essas seqüências são considerados genes-alvo do  $T_3$  (BRENT, 1994; KAHALY & DILLMANN, 2005; HARVEY & WILLIAMS, 2002; KLEIN & OJAMAA, 2001a).

O aumento da transcrição da resposta do gene receptor resulta no aumento da quantidade de RNAm produzido e traduzido em proteínas específicas. As proteínas são as cadeias pesadas de miosina, SERCA2, fosfolamban (PLB) (FAZIO et al., 2004; DILLMANN, 1990).

O  $T_3$  induz, portanto, a alterações na expressão de genes específicos para eventos contráteis. O ciclo cardíaco é dividido em contração-sístole (mecanismos inotrópicos) e relaxamento-diástole (mecanismos lusitrópicos). O  $T_3$  reduz o tempo de relaxamento diastólico. A rapidez com a qual a concentração de  $Ca^{2+}$  livre é reduzida faz com que menos cálcio esteja disponível para a troponina C do filamento fino das miofibrilas sendo esse um evento crucial e determinante do tempo de relaxamento diastólico. Várias bombas de  $Ca^{2+}$  e sistemas de trocas deste íon contribuem para a diminuição do cálcio livre citoplasmático, no entanto, a mais importante contribuição para a redução na concentração intracelular do íon cálcio é realizada pela bomba de cálcio localizada no retículo sarcoplasmático (RS) —

estrutura membranosa que circunda as miofibrilas. O gene codificante para a bomba de cálcio do RS é marcadamente  $T_3$  receptivo (ROHRER et al., 1991). Três TREs têm sido identificados na região reguladora deste gene, e o  $T_3$  aumenta acentuadamente a expressão do gene da SERCA2. O  $T_3$  induz aumento na transcrição desta proteína, conforme demonstrada em estudos nos quais empregavam-se cultura de miócitos cardíacos. Estes dados sugerem o efeito direto do  $T_3$  nos miócitos. A liberação do  $Ca^{2+}$  e sua recaptção para o RS são determinantes críticos para as funções sistólica e diastólica respectivamente (FAZIO et al., 2004). A atividade da SERCA2 é influenciada pela fosfolamban e o nível de fosforilação pelo “status” da tireóide. Trabalhos utilizando ratos com deficiência da proteína fosfolamban demonstram a evidência do papel da proteína fosfolamban na regulação do relaxamento e contração do ventrículo esquerdo (KISS et al., 1998).

A codificação do RNAm para o canal da rianodina é também regulada pelos hormônios tireoidianos (ARAI et al., 1991). O  $T_3$  induz um aumento do número de canais de rianodina resultando em aumento  $T_3$  na liberação de  $Ca^{2+}$  do RS durante a sístole e aumento da atividade sistólica contrátil de coração de animais hipertireóideos. Várias proteínas transportadoras da membrana plasmática, como  $Na^+/K^+$ -ATPase, trocadores  $Na^+/Ca^{2+}$  e canais de K incluindo Kv1.5, Kv 4.2 e Kv 4.3, são também regulados ao nível de transcrição e pós-transcrição pelos hormônios tireoidianos. O hormônio tireoidiano coordena dessa forma as respostas mecânicas do miocárdio (DILLMANN, 2002; HIROI et al., 2006).

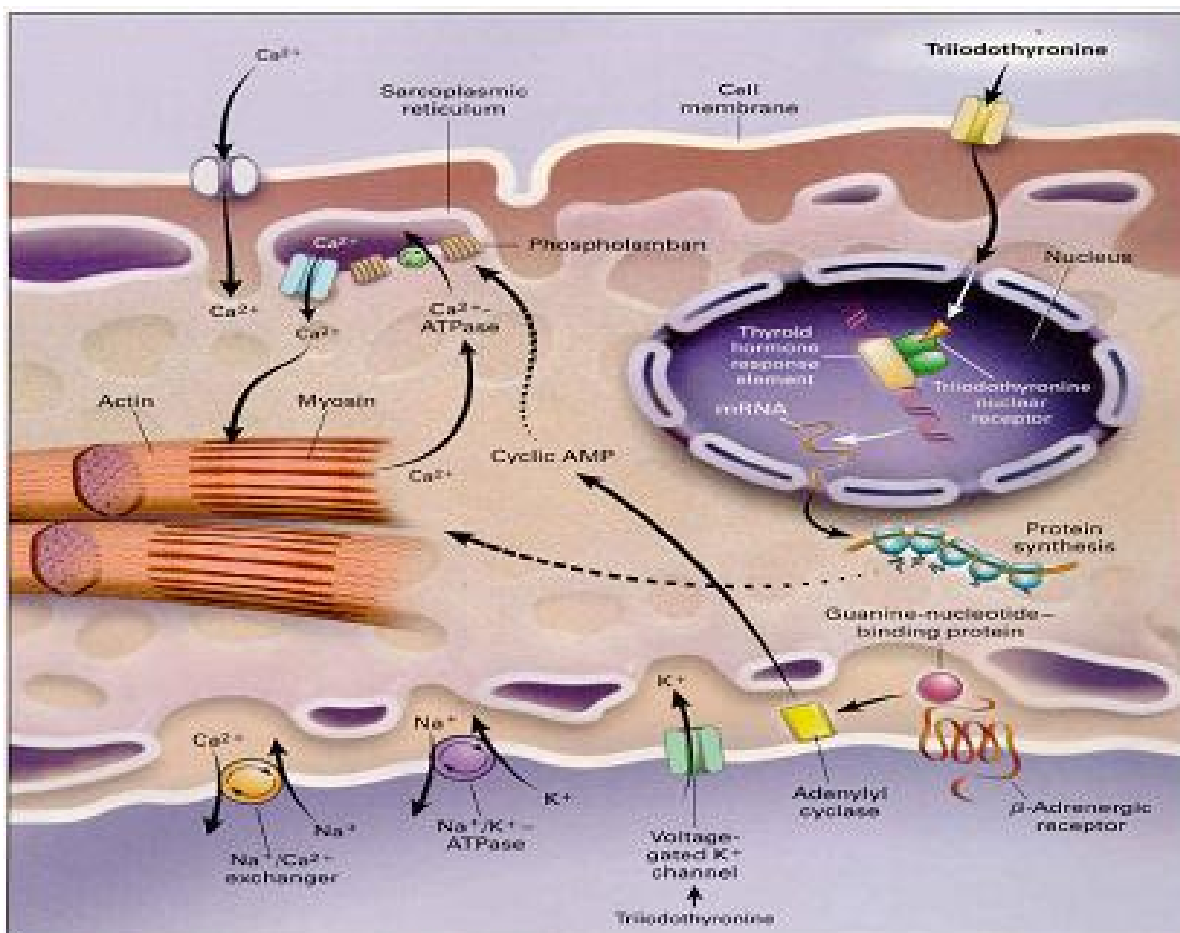
A atividade ou o nível de calsequestrina, proteína ligante de  $Ca^{2+}$  presente no RS, não é modulada pelo hormônio tireoidiano. A bomba de  $Ca^{2+}$  presente no sarcolema da membrana celular dos miócitos remove o  $Ca^{2+}$  do citosol. A  $Na^+/K^+$  ATPase também localizado no sarcolema influencia indiretamente a concentração de  $Ca^{2+}$  intracelular, visto que a remoção do cálcio citoplasmático através do trocador  $Na^+/Ca^{2+}$  é dependente do gradiente eletroquímico do íon sódio (DAVIS & DAVIS, 1993).

A miosina e actina atuam como transdutores químico-mecânicos no coração e em todas as formas de músculo estriado convertendo energia proveniente da hidrólise do ATP em produção de força e/ou no deslizamento dos miofilamentos. Cada molécula hexamérica de miosina contém duas cadeias pesadas de miosina (MHCs) e quatro cadeias leves de miosina (MLCs). A miosina do músculo

ventricular apresenta três isoformas,  $V^1, V^2, V^3$ . Nesta seqüência, está a ordem decrescente da mobilidade eletroforética e atividade da ATPase. Estas isoformas diferem somente na composição do MHC. A forma  $V^1$  é composta de duas  $\alpha$  MHCs, a  $V^3$  tem duas  $\beta$ -MHCs e  $V^2$  tem uma MHC de cada tipo. O músculo atrial contém uma diferente isoforma de miosina  $V^1$  a composta de duas  $\alpha$ -MHCs e grupo separada MLCs. Apesar da atividade da ATPase da miosina, é clara a associação com o componente da região da cabeça do MHC, a associação MLCs pode ser capaz de modificar esta atividade (MORKIN, 1993).

O estudo das isoformas cardíacas de MHC tem assumido uma importância especial devido às mudanças nas proporções destas proteínas estarem diretamente relacionadas ao nível de desempenho mecânico em modelos animais, alta atividade da ATPase, e o tipo  $V^1$  associado com a velocidade mais rápida de contração. Os genes cardíacos da MHC estão sobre o controle de  $T_3$ , o qual estimula a transcrição do gene da  $\alpha$  MHC e inibe a produção do RNAm  $\beta$  MHC, ambos *in vivo* e em cultura de células cardíacas. A sensibilidade dos genes ao  $T_3$  varia em diferentes mamíferos, entretanto os genes mais sensíveis são os de ratos e coelhos, e no nível intermediário em vacas e macacos, e mais resistentes em cães. O gene humano  $\alpha$  MHC é induzível no ventrículo, mas o grau de resposta não foi ainda quantificado (MORKIN, 1993).

Dieckman & Solaro (1990) avaliaram se o estado tireoidiano afeta a expressão da troponina I, em ratos neonatos e adultos submetidos ao hipotireoidismo. O experimento indicou que o hormônio tireoidiano é importante na expressão da forma adulta da troponina (TNI) no período neonatal. Nos ratos hipotireóides, não houve aumento significativo no percentual de TNI adulto entre 7 e 28 dias, enquanto nos controles, durante este tempo, houve um aumento linear na proporção da isoforma adulta da TNI. Os ratos adultos tratados com propiltiuracil mostraram somente ligeiras mudanças na expressão das isoformas da TNI e sensibilidade ao pH e da atividade ATPase miofibrilar induzida pelos íons cálcio (DIECKMAN & SOLARO, 1990).

FIGURA 4 - SÍTIOS DE AÇÃO DO T<sub>3</sub> NOS MIÓCITOS CARDÍACOS

Nota: T<sub>3</sub> entra na célula, possivelmente por mecanismo transporte específico e liga-se a receptores nucleares T<sub>3</sub>. O complexo hormônio receptor liga-se ao hormônio tireoideiano responsivo dos genes para várias células constituintes e regula a transcrição destes genes, incluindo aqueles para Ca<sup>2+</sup>-ATPase e fosfolamban no retículo sarcoplasmático, miosina, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase receptores β-adrenérgicos, adenil ciclase, ligação proteínas guanina nucleotídeo, trocador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase e canais de K<sup>+</sup> voltagem dependente. Ações não-nucleares do T<sub>3</sub> afetam a atividade de canais para íons Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Ca<sup>2+</sup> presentes na membrana da célula (KLEIN & OJAMAA, 2001a).

### 2.6.2 Efeitos não-genômicos ou extranucleares

Ações extranucleares ou não-genômicas dos hormônios tireoideanos não requerem a formação de um complexo nuclear e ocorrem rapidamente, em contraste aos efeitos de T<sub>3</sub> mediados por receptores nucleares. Os efeitos extranucleares do T<sub>3</sub> ocorrem de 0,5 a 2 horas, e a indução das alterações no fluxo de íons aparece em minutos. Tem sido demonstrado nos miócitos cardíacos que o



T<sub>3</sub> conduz a um rápido recrutamento, aproximadamente de 4 minutos dos canais de inativação lenta de sódio (DAVIS & DAVIS, 2002; INCERPI, 2005).

O hormônio tireoidiano inicia a ação com a ligação com receptores na membrana plasmática. Isto é seguido pelo rápido aumento da captação de cálcio e o conseqüente aumento na concentração de cálcio livre citoplasmático, o qual induz a calmodulina a mediar o aumento da atividade da adenilciclase induzindo um aumento na concentração celular do AMPc; este aumento, por sua vez, age para aumentar a atividade do sistema de transporte de açúcar, estimulando a atividade intrínseca destes transportadores e aumentando a captação de açúcar para o interior da célula (SEGAL, 1990).

Entre as ações não-genômicas do T<sub>3</sub> relevantes para o coração estão as que ocorrem nas membranas afetando canais iônicos ou bombas.

#### 2.6.2.1 Canal de sódio

Estudos com *patch-clamp* em coelhos mostraram abertura de canais de Na<sup>+</sup> quando aumentava a concentração de T<sub>3</sub>; este efeito foi documentado dentro de 30 segundos após a adição do hormônio às células do ventrículo (DUDLEY & BAUMGARTEN, 1993). Estes estudos sugerem que a proteína quinase (PKC) está envolvida na ação do hormônio na inativação do canal. A atividade do PKC em tecidos não-excitáveis pode ser estimulada pela iodotironina (DAVIS & DAVIS, 2002).

#### 2.6.2.2 Duração do potencial de ação: corrente de K<sup>+</sup>

A duração do potencial de ação (APD) nos ratos hipotireóideos estava significativamente prolongada quando comparada com a de miócitos de animais eutireóideos, como demonstrado por Sun et al. (2000b). No miócito cardíaco do rato, duas correntes de despolarização são importantes na regulação do potencial de ação: corrente transitória Ca<sup>2+</sup> independente (I<sub>to</sub>) — *transiente outward current* e corrente de K<sup>+</sup> de inativação lenta — *slowly inactivating K<sup>+</sup> current (IK)*. Esta ação não-genômica do T<sub>3</sub>, no hipotireoidismo, foi atribuída pelos investigadores a um efeito na corrente de potássio voltagem dependente (I<sub>k</sub>) de inativação lenta, o qual

possui um papel importante no potencial de ação tanto na fase de — despolarização e contribui também na fase final do potencial de ação participam da fase de — repolarização (DELMAR et al., 1991). Isso indica que o efeito do T<sub>3</sub> no APD(Ik) no cardiomiócito hipotireóideo é obscuro devido à ampla contribuição do Ito *transiente outward current* para o APD. A densidade corrente do Ito estava reduzida significativamente no hipotireoidismo comparada com miócitos ventriculares de animais controle, sugerindo que os componentes moleculares do Ito que incluem produtos dos genes Kv4.2 e Kv4.3 são regulados pelo T<sub>3</sub> em nível transcricional, explicando parcialmente a prolongada duração do potencial de ação e o aumento do intervalo Q-T observado no traçado eletrocardiográfico (SUN et al., 2000b).

#### 2.6.2.3 Trocador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>

Incerpi et al. (1999) demonstraram que na membrana plasmática de mioblastos esqueléticos de ratos a membrana plasmática antipoter Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> é estimulada agudamente pelo hormônio tireoidiano. Os estudos de Incerpi, (2005) com células musculares esqueléticas não foram ainda estendidos às células cardíacas, no entanto, é importante notar que a inibição do antipoter Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> no coração tem sido demonstrada experimentalmente com a melhora da sobrevivência do cardiomiócito na instalação da isquemia (AVKIRAN, 1999).

#### 2.6.2.4 Atividade da Ca<sup>2+</sup> ATPase sarcolemal

Um estudo *in vitro* mostrou que a preparação de membrana miocárdica obtida de coelho e a exposição desta a *I-tiroxina* (IT<sub>4</sub>) aumenta a atividade Ca<sup>2+</sup> ATPase sarcolemal, e o mecanismo desta ação requer a presença de calmodulina e também PKC-dependente (RUDINGER et al., 1984; MYLOTTE et al., 1985).

#### 2.6.2.5 Atividade da SERCA2

A atividade da SERCA2 é a principal determinante na quantidade de íon cálcio armazenado no RS, sendo portanto determinante da contratilidade miocárdica. Estudos demonstraram a importância do T<sub>3</sub> na expressão do gene RS

cardíaco, e que o principal efeito da iodotironinas no SR  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase é genômico (DILLMANN, 1990).

Bergh et al. (2005) identificaram receptor  $T_4$  de superfície celular a  $\alpha V\beta^3$  integrina. É provável que esta proteína ou receptor similar resultem da maioria das ações não-genômicas do hormônio tireoidiano relatados na literatura, os quais incluem alterações no transporte dos solutos ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ , glicose), provocando mudanças na atividade do sinal de transdução como proteína quinase.

## 2.7 ALTERAÇÕES NA CIRCULAÇÃO PERIFÉRICA

Os efeitos dos hormônios tireoidianos na circulação periférica sistêmica, promovem alterações hemodinâmicas e regulam diretamente a resistência vascular periférica total. A alteração desta, causa alterações na pressão arterial e no débito cardíaco (BIONDI et al., 2002; DANZI & KLEIN, 2002; DILLMANN, 2002). No hipotireoidismo, a resistência vascular periférica tem seus níveis aumentados; o mecanismo é provavelmente multifatorial:

- alterações na produção de calor;
- alterações nos fluxos transmembrana de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  causada por modulação nos canais retificados de  $\text{K}^+$  (DIEKMAN et al., 2001a);
- e relaxamento das células musculares lisas (PARK et al., 1997).

As mudanças na resistência vascular não estão relacionadas às alterações na concentração plasmática dos hormônios endoteliais adrenomedulina e endotelina-1. Contudo, o  $T_3$  altera a secreção do peptídeo natriurético atrial e o tônus adrenérgico. Estas alterações podem contribuir para as modificações da resistência vascular periférica total (DIEKMAN et al., 2001b).

O aumento da complacência arterial e espessura da parede em pacientes com hipotireoidismo deve-se provavelmente à deposição de mucopolissacarídeos nas paredes arteriais (GIANNATTASIO et al., 1997).

## 2.8 ALTERAÇÕES DO SISTEMA SIMPÁTICO-ADRENAL

Bilezikian & Loeb (1983) revisaram estudos sobre a influência do hormônio tireoidiano nos receptores  $\alpha$  e  $\beta$  adrenérgicos nas condições de hipertireoidismo e

hipotireoidismo em diversos animais e tecidos, e associaram estas observações com alterações bioquímicas e fisiológicas na função do receptor adrenérgico. Os resultados indicaram uma complexa inter-relação, na qual a influência específica do hormônio tireoidiano afeta a resposta adrenérgica e difere amplamente de um tecido para outro. No hipertireoidismo, o número de receptores  $\beta$  pode aumentar, diminuir ou não mudar. A mudança no número de receptores pode ou não estar associada com alterações concomitantes no sistema adenilciclase, para o qual os receptores estão vinculados. Os efeitos do hipotireoidismo em relação ao número de receptores  $\beta$  adrenérgicos são heterogêneos e também o número de receptores  $\beta$  pode aumentar, diminuir ou não mudar. A influência do hipertireoidismo e hipotireoidismo sobre o sistema  $\alpha$ -adrenérgico tem sido menos investigada e, em raros exemplos, os trabalhos correlacionam mudanças no número de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos ou características qualitativas com possíveis alterações em respostas  $\alpha$ -específicas bioquímicas e fisiológicas.

O tecido cardíaco possui receptores  $\beta_1$  e  $\beta_2$ -adrenérgicos. Na maioria das espécies estudadas os receptores  $\beta_1$  correspondem a 70% do total de receptores adrenérgicos. Experimentos farmacológicos conduzidos *in vivo* podem levar à conclusão de que os  $\beta$ -adrenenoceptores que estão presentes nos miócitos, em muitos casos podem mediar o efeito cronotrópico das catecolaminas.

O número de receptores  $\beta$  está aumentado em aproximadamente duas vezes no nó sinoatrial em comparação com os dos miócitos atriais em cães eutireóideos, e a proporção de receptores  $\beta_1$  e  $\beta_2$ -adrenérgicos era igual (MUNTZ, 1992).

Há evidências convincentes de que os efeitos do hormônio tireoidiano são espécies dependentes. No coração de primatas, o hormônio produz efeito inotrópico e lusitrópico em repouso e são regulados pelos receptores  $\beta_1$  e  $\beta_2$ -adrenérgicos, com aumento predominante do número  $\beta_2$ -receptores. O hormônio tireoidiano em excesso não parece aumentar a sensibilidade da contratilidade e relaxamento para a estimulação adrenérgica  $\beta_1$  e  $\beta_2$  (HOIT et al., 1997).

A influência das catecolaminas no relaxamento ventricular é complexa. As catecolaminas podem afetar o relaxamento ventricular não somente pelo efeito inotrópico realçando o encurtamento e força desenvolvida, mas também pelos

efeitos nas condições de carga, e estes não agem necessariamente na mesma direção. O efeito das catecolaminas na carga pode ser duplo:

- 1) devido ao efeito inotrópico positivo, aumentando o encurtamento e/ou desenvolvimento de força e podem evocar forças restauradoras internas ou externas;
- 2) devido ao efeito na produção de força as ações periféricas podem aumentar ou diminuir fatores de carga hemodinâmica, dependendo dos efeitos predominantes dos receptores  $\beta_1$  e  $\beta_2$ -adrenérgicos (BRUTSAERT et al., 1980).

## 2.9 ALTERAÇÕES NA FUNÇÃO CARDÍACA

Há muito tempo foi reconhecido o efeito exercido pelo hormônio tireoidiano no sistema cardiovascular, e anormalidades na sua produção podem causar doença cardiovascular (HAMDY, 2002). Nas últimas décadas pesquisadores mostraram que o hormônio tireoidiano é essencial para o desenvolvimento e diferenciação muscular (DIECKMAN & SOLARO, 1990).

Os dados obtidos por Ohga et al. (2002) demonstram que as velocidades de contração e de relaxamento ventricular foram significativamente menores no rato hipotireoideo. Como obtiveram, no músculo cardíaco, elevados níveis de fosfolamban e baixos níveis de SERCA2, estas alterações poderiam explicar as alterações funcionais cardíacas observadas.

O retículo sarcoplasmático serve como sistema regulatório no ciclo da contração — relaxamento do músculo pelo controle da concentração intracelular do cálcio livre. A recaptação de  $\text{Ca}^{2+}$  pelo retículo sarcoplasmático determina a velocidade de relaxamento do miocárdio. Além disso, a quantidade absoluta de  $\text{Ca}^{2+}$  no retículo sarcoplasmático durante a diástole (potencialmente disponível para liberação na excitação celular) é determinante da força contrátil. Assim, duas ações clínicas do hormônio tireoidiano (isto é, aumento da velocidade de relaxamento do miocárdio e inotropismo), poderiam ser obtidas através da modulação da atividade do SERCA2 (DAVIS & DAVIS, 1993).

A avaliação da performance cardíaca, por intermédio de ecocardiografia de indivíduos com deficiência aguda do hormônio tireoidiano ocasionada por

tireoidectomia, demonstra disfunção sistólica ventricular esquerda e aumento no tempo de relaxamento ventricular (DI PAOLA et al., 2004; KAHALY et al., 1995; GROSSMANN et al., 1994). Nestes indivíduos o prolongado tempo de relaxamento isovolumétrico indica que o ventrículo esquerdo é acentuadamente mais lento que o normal e que este prolongamento é provavelmente devido ao aumento do período diastólico precoce, sugerindo existir prejuízo do relaxamento ativo (KAHALY et al., 1995; VITALE et al., 2002)

A técnica de ecocardiografia tem sido recentemente empregada como uma ferramenta útil e não invasiva na avaliação cardíaca de camundongos e ratos (WILLIAMS et al., 1998).

Parâmetros como as dimensões atriais e ventriculares, bem como os de performance cardíaca, têm permitido estudar de forma longitudinal processos patológicos como o da persistência do ducto arterioso e de disfunção tireoidiana (SLAMA et al., 2005; BROWN et cols 2002). O emprego desta técnica em animais de experimentação submetidos ao hipotireoidismo crônico tem fornecido importantes informações a respeito da fisiopatologia desta doença.

As manifestações cardiovasculares são encontradas, freqüentemente, no hipertireoidismo e no hipotireoidismo. Entretanto, a relação causa-efeito entre as mudanças nos níveis dos hormônios e a disfunção cardíaca ainda não foi esclarecida. Há evidências de que a expressão genômica e fenotípica do coração são extremamente sensíveis ao hormônio da tireóide.

Numerosos estudos da literatura, *in vivo* e *in vitro*, sugerem que as alterações nos níveis do hormônio tireoidiano podem afetar a expressão gênica dos miócitos cardíacos e, conseqüentemente, alterar a função cardíaca (MORKIN, 1993). No presente estudo, propomos avaliar no modelo experimental as funções sistólica, diastólica, pressão arterial, eletrocardiograma, contração isométrica dos papilares de animais eutireóides e hipotireóides.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Neste estudo experimental foram utilizados ratos Wistar pesando entre 250-350 g, fornecidos pelo Biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, e mantidos em gaiolas sob condições de controle de temperatura e um ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à ração. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA), do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

O trabalho foi desenvolvido em duas fases, na primeira fase verificou-se a pressão arterial, e mensurou-se parâmetros de contratilidade do músculo papilar isolado; na segunda fase realizou-se a avaliação da atividade elétrica e da performance cardíaca empregando-se respectivamente o ECG e o ecocardiograma.

Os animais foram divididos em dois grupos: um grupo experimental — animais hipotireoideos — tratados com droga antitireodiana, e um grupo controle — animais eutireóideos.

##### 3.1.1 Modelo Experimental de Hipotireoidismo

O grupo experimental foi induzido pela administração de 20 mg de metimazol para 100 mL na água de beber durante 4 semanas (SALA-ROCA et al., 2002). Esta solução era trocada a cada três dias.

As concentrações dos hormônios tireoidianos plasmática dos dois grupos foram determinados pelo *IMMULITE 2000 Analyser Total T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>* — imunoenensaio competitivo de fase sólida, de enzimas químico-luminosas e TSH-ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas, realizado no Setor de Hormônios do Laboratório do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

## 3.2 EXPERIMENTOS REALIZADOS COM MÚSCULO CARDÍACO

### 3.2.1 Métodos para as preparações

Os procedimentos descritos a seguir foram realizados no laboratório de Fisiologia da Contração Muscular do Departamento de Fisiologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Os ratos foram heparinizados (500 UI) e anestesiados via intraperitoneal com uretana (1,6/kg). Após 30 minutos, realizada a tricotomia, colocados em decúbito dorsal sobre uma mesa cirúrgica. Após a verificação de falta de resposta a estímulo doloroso na raiz da cauda e nas orelhas, e da ausência de reflexos pupilares e palpebrais, era iniciado o procedimento.

Inicialmente, realizava-se uma incisão da pele na linha média na região do pescoço até o tórax do animal, retirava-se a pele e realiza-se a exposição dos músculos esternocleidomastóideo. Com auxílio de uma pinça procedia-se a dissecação dos músculos até encontrar a artéria carótida comum bem como o nervo vago. A seguir isolava-se a artéria do nervo, e tracionando-a com duas linhas posicionadas distal e cefalicamente, fazia-se um nó na linha colocada próxima à cabeça com o intuito de obstruir o fluxo sanguíneo. As extremidades da linha posicionada distalmente foram tracionada com uma pinça hemostática para facilitar o acesso. Com uma tesoura oftalmológica realizava-se uma secção parcial da artéria em um ângulo de 45 graus para facilitar a introdução do cateter. Após a introdução do cateter (*Angiocath* 22GAX1.00 IN (0,9x 25 mm) BD ®, de aproximadamente 1 cm na artéria, o mesmo era fixado com a linha distal). O cateter foi acoplado a um transdutor de pressão (NARCO BioSystem, Houston, Texas) conectado a um polígrafo para registro, e também para digitar o sinal de pressão mediante um conversor Analógico-Digital-Digital Analógico (*DATA TRANSLATION - AT 2801-A*) — acoplado a um computador. Aguardou-se a estabilização dos níveis de pressão arterial por um tempo de aproximadamente 30 minutos. A calibração do transdutor foi realizada antes de iniciar o registro da pressão arterial em todos os experimentos. Após a coleta dos dados, desconectava-se a cânula do transdutor de pressão e procedia-se à colheita de sangue arterial através do cateter, o qual era acondicionado no frasco VACUETTE. Estes foram identificados e, posteriormente,



centrifugados e, em seguida, encaminhados ao laboratório para dosagem hormonal no plasma.

Após a mensuração da pressão arterial, era realizada a toracotomia. Os corações foram removidos rapidamente e colocados em um copo de Béquer de 5 mL contendo solução de TYRODE composição em (mM), NaCl=136,0; KCl=5,0; MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O=0,98; CaCl<sub>2</sub>=2,0; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>=0,36; NaHCO<sub>3</sub>=11,9; e Glicose=5,5, com pH=7,4.

Rapidamente o coração era colocado em uma placa de Petri, contendo solução de TYRODE previamente gaseificada com mistura carbogênica (95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>).

O coração era fixado na placa de Petri e iniciada a secção do músculo cardíaco no sentido longitudinal na linha média desde o ápice até aos átrios (linha interventricular), para exposição das câmaras esquerda e direita. Com uma pinça fixava-se a extremidade tendínea do papilar, para facilitar a dissecação da extremidade que se encontrava inserida na parede ventricular.

O músculo papilar era transferido para uma câmara de 5 mL, tendo uma das extremidades presa a um transdutor de força (Fort-10, *Transuction Laboratories Co.*), e a outra extremidade presa a um gancho que estava acoplado a um micromanipulador o qual servia para manipular o comprimento do músculo, permitindo variações de comprimento na escala de micrometros (µm).

Os músculos eram estirados até L<sub>max</sub> (comprimento do músculo no qual a tensão ativa é máxima) e estimulados com pulsos supralimiaries de voltagem (10 a 15 V) duração no máximo de cinco milissegundos (ms), através de um par de eletrodos de platina posicionados ao longo de toda a extensão do músculo. A frequência de estimulação padrão era de 0,5 Hz (condição estabilizada). As preparações eram mantidas por um período de estabilização de 60 minutos e, em seguida, realizados os protocolos experimentais. A força desenvolvida (F) era medida por meio de transdutor de força isométrica (NARCO BioSystem, Houston, Texas) e registrados em polígrafo *Lafayette Instrument Company*, Indiana, USA.

### 3.2.2 Parâmetros avaliados

Foram analisados os seguintes parâmetros: pico de força isométrica (F), tempo de ativação (TA), tempo de relaxamento (TRe), potenciação da contração isométrica (PR) obtida após pausas na estimulação elétrica de 15, 30 e 60 s.

Para o cálculo do tempo de ativação e do tempo de relaxamento, era traçada uma linha na base do registro e uma linha vertical através do pico do registro. Em seguida, procedia-se à contagem dos milímetros desde a intercessão destas linhas à esquerda, (TA) e à direita (TRe) até o encontro com a linha de registro. Uma vez obtido os valores em milímetros, estes eram, de acordo com a velocidade do papel, transformados em ms. A potenciação relativa foi considerada como razão entre a amplitude da contração antes da pausa. Este procedimento era realizado com a finalidade de se evitarem erros promovidos por estado inotrópico diferenciado das contrações controle.

À exceção da potenciação relativa cujos valores eram relativos, a calibração do papel era realizada nos registros de análise e em conformidade com a velocidade de deslocamento do papel.

A velocidade máxima de produção de força ( $+df/dt$ ) e a velocidade máxima de relaxamento ( $-df/dt$ ), foi calculada traçando-se uma tangente no registro obtido durante a fase da contração e de relaxamento, respectivamente. Os dados estão expressos em força produzida (g) por segundo (g/seg).

### 3.2.3 Protocolos experimentais

Com a finalidade de avaliar o efeito da falta dos hormônios  $T_3$  e  $T_4$  sobre as intervenções inotrópicas foram realizados os seguintes estudos: após período de estabilização, avaliamos a dependência do desenvolvimento da força de contração isométrica (F) dos músculos papilares, e as alterações da concentração extracelular de cálcio  $[Ca^{2+}]$  (0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 5; 10 mM), na solução de TYRODE.

### 3.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ELÉTRICA DO CORAÇÃO MEDIANTE ELETROCARDIOGRAFIA

Animais do grupo experimental — e do grupo controle — foram colocados em uma campânula anestesiados com éter, e posteriormente submetidos ao registro eletrocardiográfico utilizando eletrocardiógrafo *Mikromed ER 661* (Hungria), realizado nas derivações convencionais DI, DII, DIII, AVR e AVL.

### 3.4 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO CARDÍACA PELA ECOCARDIOGRAFIA

Animais do grupo experimental e do grupo controle — eram submetidos à anestesia geral com cloridrato de ketamina 50 mg/kg e cloridrato de xilasina 20 mg/kg, e após a tricotomia foram analisados com equipamento de ecocardiografia bidimensional modelo Sonos 5500 (*Hewlet Packard*, USA), com transdutores setorial S12 (5-12 mHz) e limiar 15L6 (7-15 mHz). A fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) foi medida na posição paraesternal longitudinal, de acordo com o método de Simpson (WYATT et al., 1980). Este procedimento foi realizado pelo Prof. Dr. Nelson Itiro Miyague, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Laboratório de Técnica Operatória.

A ecocardiografia fornece dados a respeito do tamanho e função sistólica (como bomba) através dos volumes e fração de ejeção e diastólica (distensibilidade) através da onda A, onda E e o TRIV.

Os seguintes parâmetros foram utilizados:

- a) área diastólica (cm<sup>2</sup>), volume diastólico final (mL), área sistólica (cm<sup>2</sup>) volume sistólico final, (mL) — os volumes são mensurados pelo método de Simpson que calcula o volume da cavidade do ventrículo esquerdo considerando que ela seja formada por diversos segmentos com espessura e área transversa conhecidas. O volume da cavidade será igual à soma dos diversos volumes dos segmentos. Conhecendo-se o volume diastólico final e o volume sistólico do ventrículo esquerdo, pelo método de Simpson, é possível saber o volume de ejeção e assim calcular a fração de ejeção ventricular:

- b) fração de ejeção (FE%) — é obtida dividindo-se o volume sistólico de ejeção pelo volume diastólico final, multiplicando-se então o resultado por 100;
- c) o fluxo mitral normal apresenta dois picos durante de velocidades diastólicas. O primeiro pico mostra a velocidade do fluxo protodiástole, durante a fase de enchimento rápido e passivo do ventrículo esquerdo que ocorre após a abertura da valva. Este pico é chamado Onda E (m/s);
- d) o segundo pico é telediastólico e corresponde ao aumento da velocidade de fluxo após a contração atrial esquerda, sendo chamado de Onda A (m/s);
- e) tempo sistólico(s), intervalo de tempo mensurado a partir do fechamento da valva atrioventricular esquerda até a abertura da valva aórtica;
- f) tempo diastólico(s): o tempo diastólico total foi mensurado como o intervalo de tempo transcorrido a partir do fechamento da valva aórtica até o fechamento da valva atrioventricular esquerda. Subtraindo-se deste intervalo de tempo, o tempo transcorrido a partir do fechamento da valva aórtica à abertura da valva mitral, obteve-se o tempo diastólico;
- g) frequência cardíaca (bpm), foi mensurada como o inverso do período transcorrido entre dois picos subseqüentes do complexo QRS;
- h) TRVI —Tempo de relaxamento isovolumétrico(s) – corresponde ao intervalo de tempo entre o fechamento da valva aórtica e abertura da valva atrioventricular esquerda, sendo um indicador da distensibilidade do ventrículo esquerdo. O TRIV é medido ao ecocardiograma como o tempo decorrido entre o ápice do movimento sistólico anterior da parede posterior do ventrículo esquerdo (que corresponde ao momento do fechamento da valva aórtica) e a abertura da mitral;
- i) índice de Tei — tempo de contração isovolumétrico somado ao tempo de relaxamento isovolumétrico dividido pelo tempo de ejeção. O índice de Tei (TEI et al., 1995) é obtido subtraindo-se do intervalo de tempo transcorrido entre o fechamento da valva atrioventricular esquerda até a sua abertura, o tempo de ejeção (intervalo de tempo transcorrido a partir da abertura da valva aórtica até o seu fechamento) e o resultado dividido pelo tempo de ejeção ventricular. Este índice é, portanto, útil, já que

existe correlação entre os tempos de contração e de relaxamento isovolumétricos com os valores máximos de pressão intraventricular medida nestas duas fases do ciclo cardíaco com o emprego de métodos diretos (transdutores de pressão). Assim, um aumento nos valores deste índice denota, indiretamente, comprometimento ventricular global (sistólico e/ou diastólico) (TEI et. al., 1995).

### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados, foram considerados estatisticamente diferentes quando a probabilidade de ocorrência da hipótese nula foi igual ou inferior a 0.5% ( $p < 0.05$ ) com o emprego de um programa de computador fabricado pela *Jandel Scientific Inc* (*Sigma Plot* versão 9.0 e *Sigma Stat* versão 2.0). Para comparação de uma única condição experimental em relação ao controle, no mesmo experimento, empregou-se o teste t de *Student* pareado e entre experimentos diferentes, o não-pareado. Para múltiplas condições experimentais empregou-se a análise de variância e para análise dos contrastes *a posteriori* o teste de *Tukey*. Os dados estão expressos com a média  $\pm$  erro padrão.

### 3.6 FÁRMACO E REAGENTES

Foram utilizados, durante a realização dos experimentos, os seguintes fármacos e reagentes:

- Cloreto de sódio (Merck)
- Cloreto de potássio (Merck)
- Cloreto de magnésio Heptahidratado (Merck)
- Cloreto de cálcio Dihidratado (Merck)
- Bicarbonato de sódio (Merck)
- Fosfato de sódio (Merck)
- Glicose anidra (Synth)
- Heparina 5000UI (Roche)
- Pentobarbital Sódico (Sigma)

## 4 RESULTADOS

### 4.1 EXPERIMENTOS REALIZADOS PARA A DETERMINAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL E DA CONTRAÇÃO ISOMÉTRICA DOS MÚSCULOS PAPILARES

#### 4.1.1 Dosagens Hormonais

Os níveis de T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> e TSH no grupo controle apresentavam-se dentro dos níveis de referência. O valor médio do T<sub>3</sub> neste grupo foi de 79,47 ng/dL (54,5 - 108 ng/dL).

O valor médio da dosagem de T<sub>4</sub>, foi de 4,96 µg/dL (1,53 – 10,7 µg/dL).

O valor médio de TSH foi de 0,056 µIU/mL.

No grupo experimental, os valores de T<sub>3</sub> foram inferiores a 40 ng/dL em 10 animais e em 4 (45,6 ng/dL); em 2 animais (46,6 ng/dL) e em 1 (58 ng/dL).

Os valores de T<sub>4</sub> foram inferiores a 1ng/dL nos 14 animais tratados com metimazol. Os valores médios de TSH foram de 3,95 µIU/mL (1,98 – 7,66 µIU/mL).

Os dados podem ser observados na Tabela 1.

TABELA 1 - VALORES DE T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> E TSH, NO GRUPO CONTROLE E NO GRUPO EXPERIMENTAL

Controle n=10			Experimental n=14		
T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	TSH	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	TSH
66,7	10,7	0,023	< 40	< 1	5,67
65,3	3,6	0,06	< 40	< 1	7,66
98,9	4,12	0,052	< 40	< 1	5,42
91	3,82	0,08	< 40	< 1	4,39
69,8	5,46	0,097	< 40	< 1	6,6
82,1	5,47	0,028	< 40	< 1	2,37
108	5,67	0,03	< 40	< 1	4,04
54,5	1,53	0,029	< 40	< 1	2,9
66,2	4,19	0,121	45,6	< 1	3,92
92,2	5,13	0,045	58	< 1	3,22
			< 40	< 1	2,58
			46,6	< 1	1,98
			< 40	< 1	2,58
			46,6	< 1	1,98

NOTA: T<sub>3</sub> total= triiodotironina circulante total; T<sub>4</sub>=tiroxina total; TSH=tirotrófina.

#### 4.1.2 Pressão Arterial

Em todos os animais era realizada a curva de calibração (Figura 5) antes do início do registro da pressão sistólica e diastólica.

Foi determinada a pressão sistólica e diastólica em 6 animais do grupo controle e em 5 do grupo experimental. A pressão arterial média foi verificada em 9 animais do grupo controle; a maior pressão arterial média foi de 122 mmHg a menor de 55 mmHg.

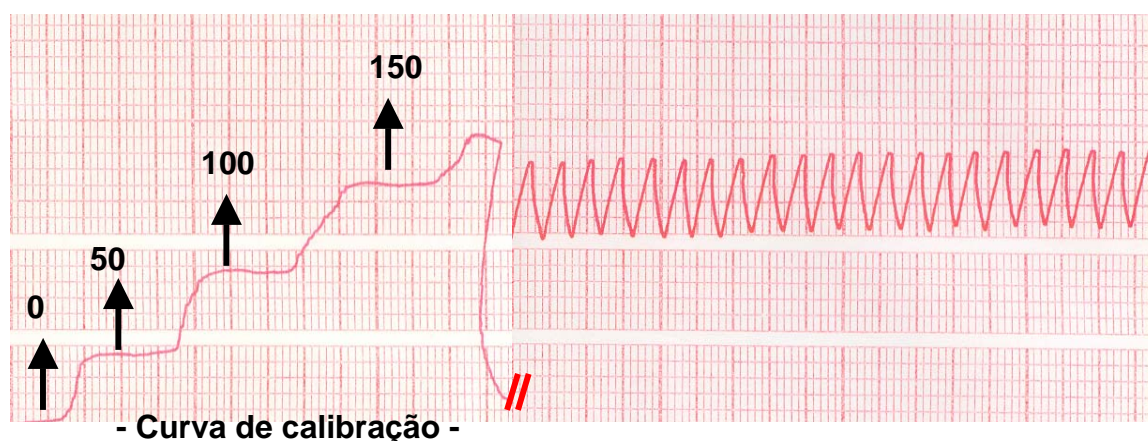
Os valores máximos e mínimos de pressão sistólica obtida no grupo experimental e controle foram respectivamente de 156 mmHg e 121 mmHg e o valor mínimo de pressão diastólica foi de 35 e 52 mmHg.

O valor da pressão média foi de  $93,44 \pm 20,43$  no grupo controle e de  $86,85 \pm 26,20$  no grupo experimental.

TABELA 2 - VALORES DA PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO E CONTROLE (mmHg)

	HIPOTIREOIDISMO		CONTROLE	
	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
Pressão Sistólica	103,4	31,55	94,8	19,79
Pressão Diastólica	68,6	39,57	78,33	14,07
Pressão Média	96,85	26,2	93,44	20,43

FIGURA 5 – EXEMPLO DE REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL.



NOTA: Valores em mmHg.

#### 4.1.3 Contração Isométrica dos Músculos Papilares

Os efeitos das diferentes concentrações na solução de TYRODE (Curva de Cálcio — 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 5,0; 10 mM) sobre a força isométrica (F) desenvolvida pelos músculos papilares nos grupos controle e modelo experimental de hipotireoidismo, são ilustrados pelo traçado típico de dois experimentos (Figura 6). Na distribuição dos valores das contrações isométricas, nas diferentes concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$  entre os grupos, não houve diferença significativa.

Analisando o grau de inclinação da curva não se observa diferença entre os grupos controle e hipotireóideo.

A potenciação pós-pausa foi utilizada para avaliar a atividade do retículo sarcoplasmático (RS).

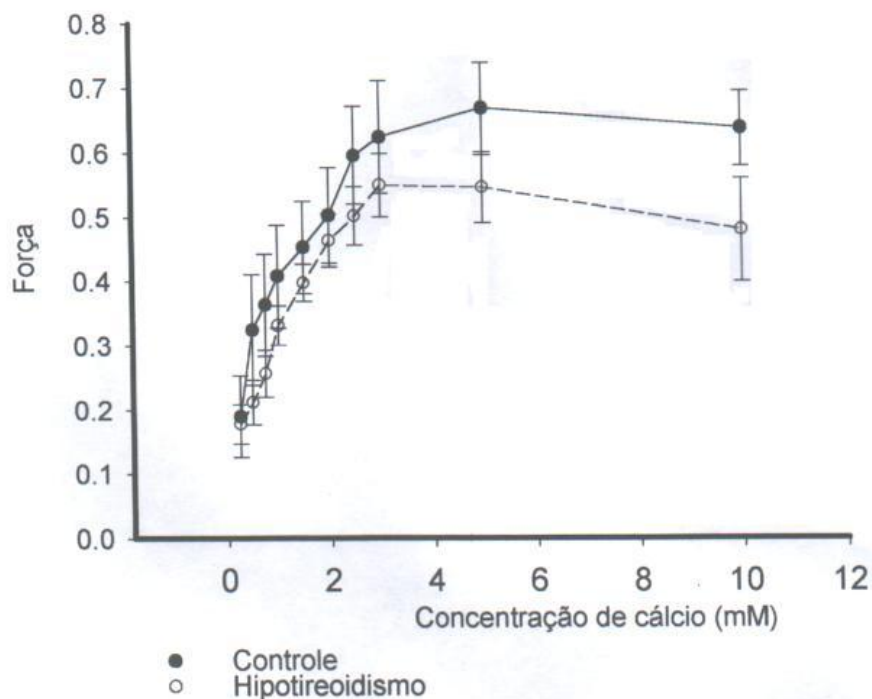
Na Figura 7, observa-se exemplo de registros das contrações pós-pausas.

As contrações pós-pausa (CPP) foram registradas após as pausas de 15, 30 e 60 s e analisadas como potenciação relativa (PR), no qual não houve diferença estatisticamente significativa.

A força máxima não foi alterada no grupo experimental. A quantidade de  $\text{Ca}^{2+}$  para obter 50% desta força foi de 0,68 mM em ambos grupos.



GRÁFICO 1 - REPRESENTAÇÃO DA FORÇA MÁXIMA NAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO NOS GRUPOS CONTROLE E HIPOTIREÓIDEO



Realizada análise da curva nos grupos controle (N=10) e experimental (N=10) em relação ao tempo de ativação, obteve-se uma média no grupo experimental de 0,357 seg e no controle de 0,387 seg;  $t=1,62$ ;  $p=0,122$ , não ocorrente diferença estatisticamente significativa.

Em relação ao tempo de relaxamento, no grupo experimental — a média foi de 0,636 seg e no grupo controle de 0,606 seg;  $t=1,68$ ;  $p=0,11$ , sem diferença estatisticamente significativa.

O tempo médio de início da ativação, no grupo experimental foi de 0,15 seg; e no grupo controle=0,14 seg;  $t=0,59$  e  $p=0,55$ , sem diferença significativa.

O tempo médio gasto para relaxamento em segundos, no grupo experimental — foi de 0,198 e no grupo controle de 0,17;  $t= 2,28$ ;  $p=0,035$ , sem diferença significativa. Estes valores podem ser observados na Tabela 9 e 10.

TABELA 3 - VALORES MÉDIOS DOS TEMPOS DE ATIVAÇÃO, RELAXAMENTO, DE ATIVAÇÃO MÉDIA E TEMPO GASTO PARA RELAXAMENTO

Segundos	Experimental	controle	P
Tempo Ativação	0,357	0,387	0,122
Tempo Relaxamento	0,636	0,606	0,11
Tempo de Ativ. Média	0,15	0,141	0,55
Tempo Gasto Relax.	0,198	0,17	0,035

FIGURA 6 - EXEMPLOS DE REGISTROS TÍPICOS DE CONTRAÇÕES ISOMÉTRICAS DE MÚSCULOS PAPILARES DE RATOS (UM CONTROLE E UM HIPOTIREOIDEO) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE  $\text{Ca}^{2+}$  (ZERO  $\text{Ca}^{2+}$ , 2 mM; 5 mM E 10 mM).

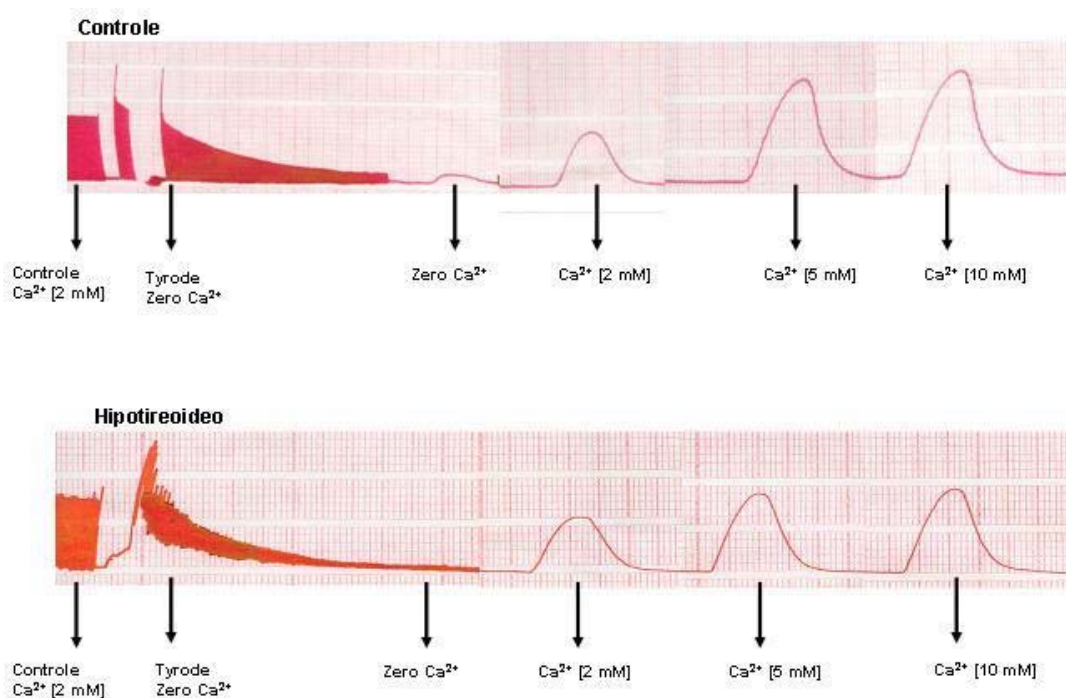
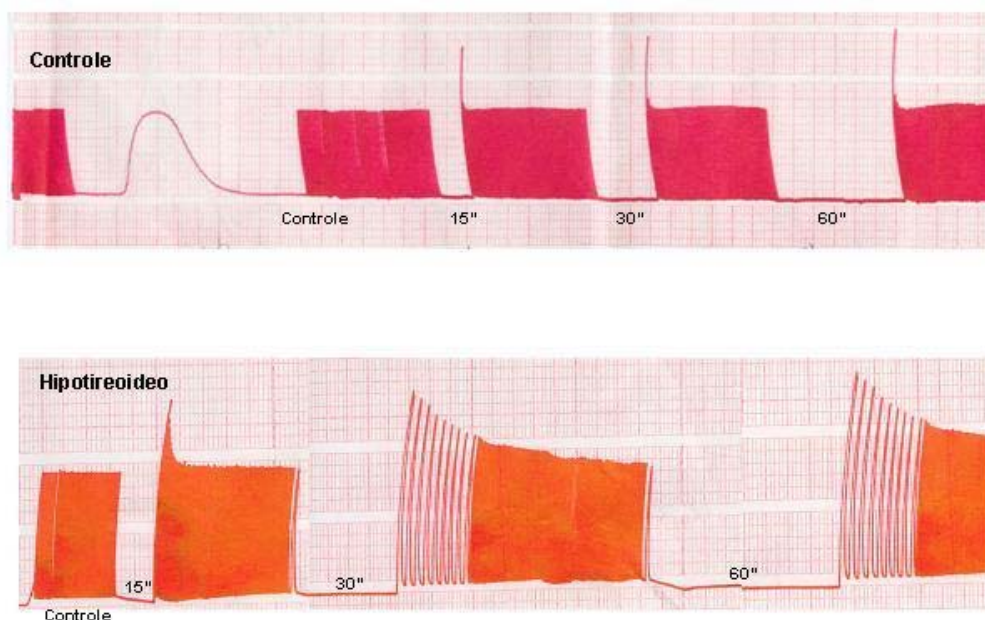


FIGURA 7 - EXEMPLO DE UM REGISTRO TÍPICO DE POTENCIAÇÕES PÓS-PAUSAS (15; 30 E 60 s) OBTIDOS DE UM RATO CONTROLE E UM HIPOTIREÓIDEO



Foi analisada a curva de 6 animais controle e experimental na concentração de 10 mM de  $\text{Ca}^{2+}$  traçando uma tangente na contração e no relaxamento estabelecendo os valores  $df/dt$  em gramas por segundo.

Na concentração de 2 mM de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular os valores medidos de  $df/dt$  foi 0,731 g/seg para o hipotireoidismo e 0,695 g/seg para o controle ( $p=0,685$ ); e no relaxamento de 0,603 e 1,018, para o hipotireoidismo e controle respectivamente ( $p=0,007$ ), como pode ser observado na Tabela 4.

Os valores máximos da produção de força do grupo experimental foi de 0,9516 e do controle 0,705,  $p=0,088$ , e no relaxamento foi de 0,9866 e 1,47 para o hipotireoidismo e controle respectivamente,  $p=0,0069$ , valores observados na Tabela 5.

TABELA 4 - VALORES DE VELOCIDADE MÁXIMA DE PRODUÇÃO DE FORÇA (+df/dt) E DE RELAXAMENTO (-df/dt) EXPRESSAS EM g/seg DE PAPILARES ISOLADOS DE RATOS CONTROLE E HIPOTIREÓIDEO, EM SOLUÇÃO DE TYRODE - 2 mM DE CÁLCIO

	Hipotireoidismo		Controle	
	Contração	Relaxamento	Contração	Relaxamento
Média	0,7317	0,6033	0,6950	1,0183
Mediana	0,7250	0,6800	0,7150	1,0000
Desvio Padrão	0,1175	0,1484	0,1807	0,2623
Erro Padrão	0,0480	0,0606	0,0738	0,1071
	t=0,41	t=3,38		
	p=0,68	p=0,007		

TABELA 5 - VALORES DE VELOCIDADE MÁXIMA DE PRODUÇÃO DE FORÇA (+df/dt) E DE RELAXAMENTO (-df/dt) EXPRESSAS EM g/seg DE PAPILARES ISOLADOS DE RATOS CONTROLE E HIPOTIREÓIDEO, EM SOLUÇÃO DE TYRODE - 10 mM DE CÁLCIO

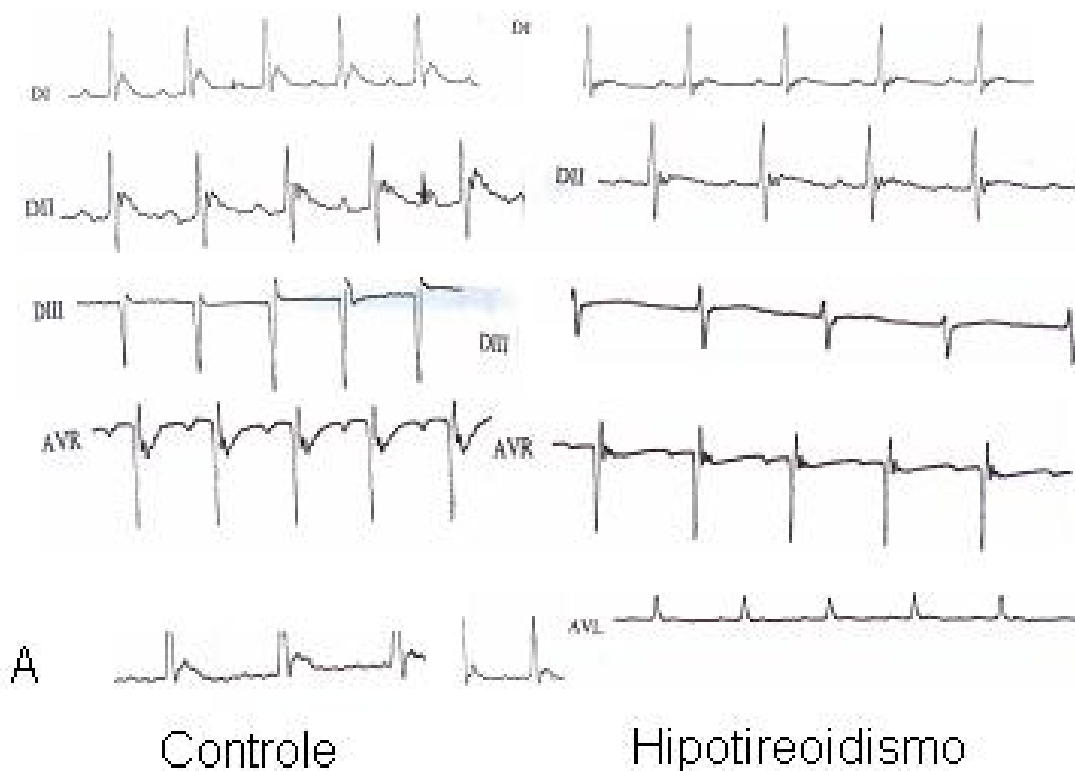
	Hipotireoidismo		Controle	
	Contração	Relaxamento	Contração	Relaxamento
Média	0,9516	0,9867	0,7050	1,4700
Mediana	0,9500	1,0600	0,6350	1,4650
Desvio Padrão	0,2637	0,3382	0,1807	0,0903
Erro Padrão	0,1077	0,1380	0,0738	0,0369
	t= 1,88	t= 3,38		
	p= 0,088	p= 0,0069		

#### 4.1.4 Eletrocardiograma

A análise do traçado do eletrocardiográfico foi realizada nas derivações D1, DII, DIII, AVR e AVL. Os animais do grupo controle mostraram eixo normal, complexo QRS normal, espaço PR=0,5 e a onda T com repolarização precoce, na velocidade de 100 m/s.

No grupo experimental — hipotireoidismo os traçados mostraram o complexo QRS achatado, o espaço PR com valores de 0,4 a 0,45, e a onda de repolarização mais precoce quando comparada com o grupo controle. O animal do grupo experimental-hipotireoidismo número 8 apresentou um entalhe no complexo QRS-sugerindo um distúrbio de condução ventricular.

FIGURA 8 – EXEMPLO DE TRAÇADO ELETROCARDIOGRÁFICO DE UM ANIMAL CONTROLE E DE UM HIPOTIREÓIDEO



#### 4.1.5 Ecocardiograma

O valor médio do volumes diastólicos no grupo experimental – foi de 0,49 mL,  $\pm 0,078$  e no grupo controle de 0,50 mL,  $\pm 0,07$ , o valor médio do volume sistólico no hipotireoidismo foi de 0,28ml,  $\pm 0,048$  e no controle de 0,24 mL,  $\pm 0,04$ , não apresentando diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Na Figura 9 está demonstrado a imagem obtida por ecocardiografia de um rato.

Em relação à Fração de Ejeção (FE%) foi significativamente diferente na comparação entre os grupos, no hipotireoidismo a média foi de 43,34,  $\pm 4,7$  e no grupo controle de 53,03  $\pm 4,57$ ,  $p=0,001$ .

A onda A no grupo experimental apresentou valores de 324,5  $\pm 119,09$  m/s e no grupo controle de 447,5  $\pm 71,18$  m/s,  $p= 0,045$ . Na figura 10 um exemplo de imagem ecocardiográfica típica para mensuração das ondas A e E.

O tempo de relaxamento isovolumétrico no hipotireoidismo foi de 61,99  $\pm 0,13$  m/s e no controle de 28,37  $\pm 0,04$  m/s,  $p<0,001$ , significativamente diferentes.

O índice de Tei no grupo hipotireoidismo foi de 0,51  $\pm 0,11$  e no grupo controle de 0,32  $\pm 0,10$ ,  $p= 0,001$ , com diferença significativa. Na Figura 11 pode ser observada a representação do Índice de Tei.

A média da frequência cardíaca no grupo experimental foi de 196,22  $\pm 19,82$  bpm, (valor máximo = 235 e mínimo = 165), e no grupo controle de 242,89  $\pm 45,52$ , valor máximo= 300 e mínimo= 165). Estes dados diferiram estatisticamente significativos ( $p=0,015$ ).

Os valores podem ser observados nas Tabelas 10 e 11.

FIGURA 9 - EXEMPLO DE IMAGEM ECOCARDIOGRÁFICA OBTIDA DE UM RATO VISUALIZANDO O VOLUME CARDÍACO

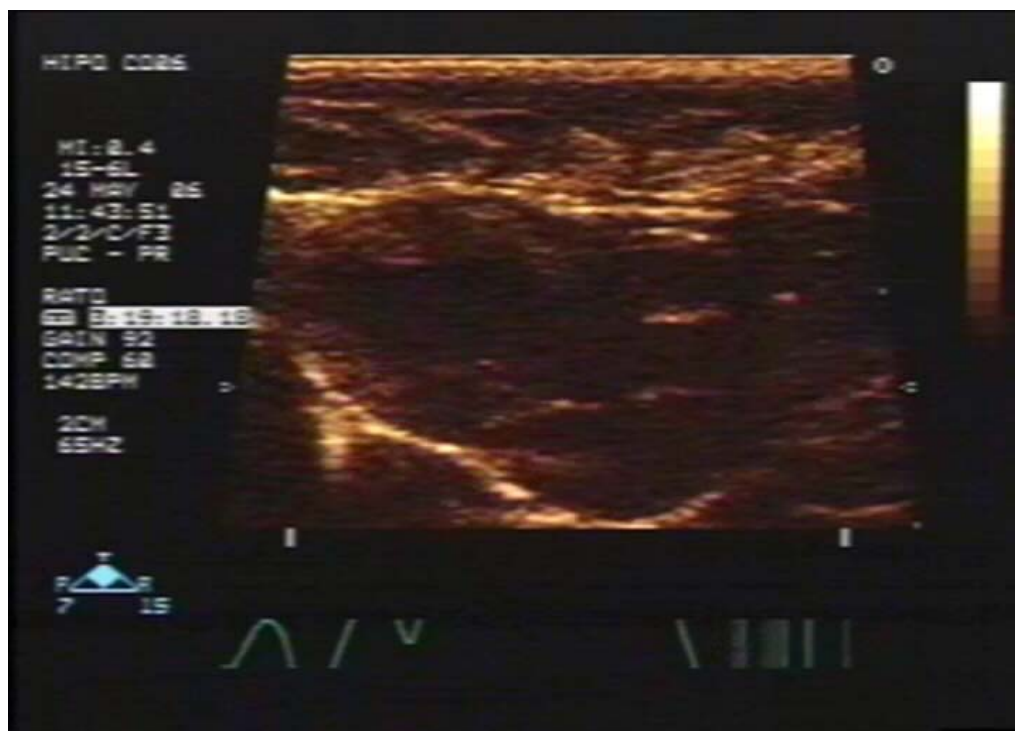


FIGURA 10-EXEMPLO DE IMAGEM ECOCARDIOGRÁFICA DE UM RATO, VISUALIZANDO A ONDA A E ONDA E

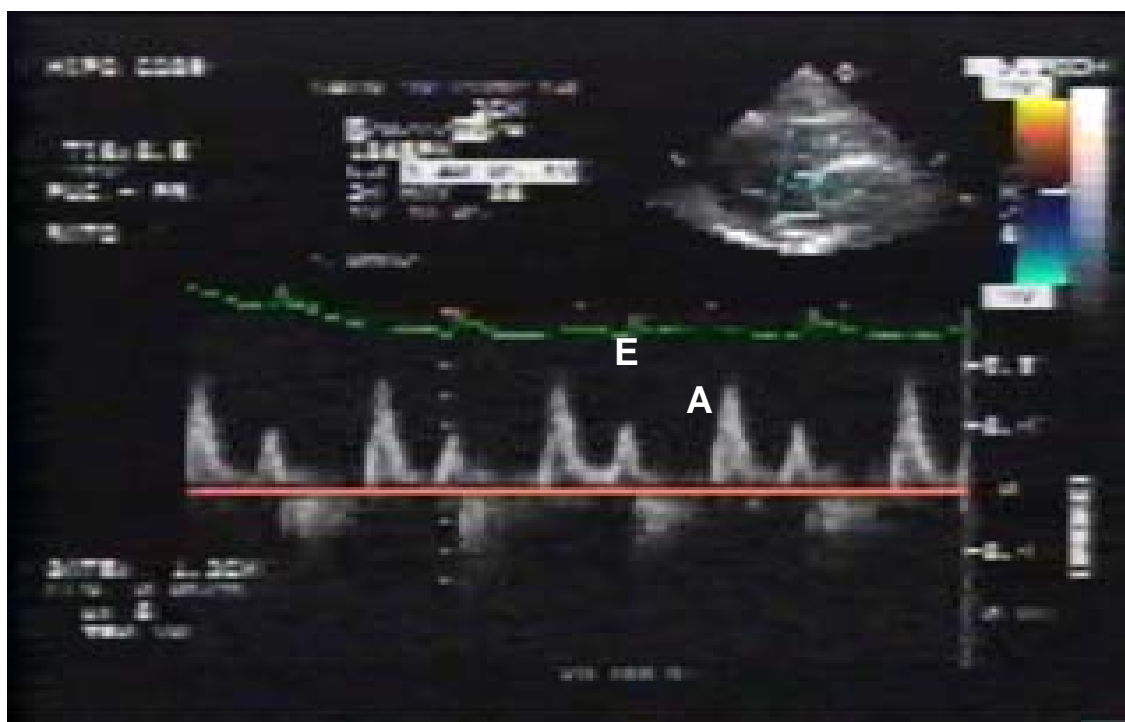


FIGURA 11 – EXEMPLO DE UMA IMAGEM ECOCARDIOGRÁFICA, DEMONSTRANDO O CÁLCULO DO ÍNDICE DE TEI

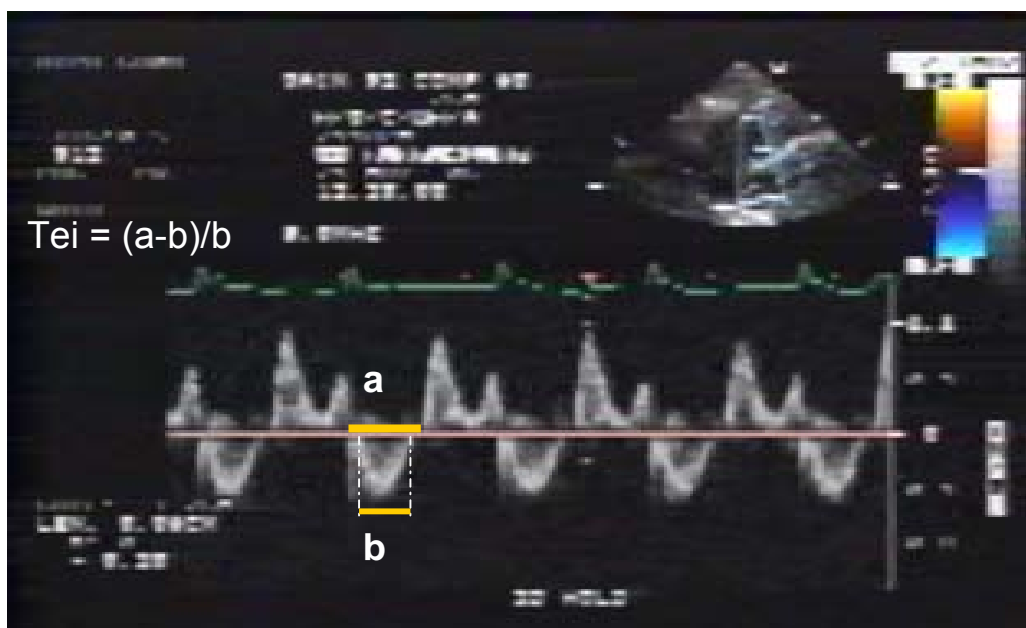


TABELA 6 - VALORES DE PERFORMANCE CARDÍACA DE ANIMAIS CONTROLE E HIPOTIREÓDEOS OBTIDOS POR ECOCARDIOGRAFIA

	AD	AS	FE	Onda E	OndaA	TS	FC	TD	VD	VS	TRIV	DS
	cm <sup>2</sup>	cm <sup>2</sup> l	%	m/s	m/s	s	bpm	s	mL	mL	ms	mL
Controle N=9												
Média	0,86	0,59	53,04	763,07	447,50	88,48	242,89	141,33	0,50	0,24	28,37	0,27
Erro padrão	0,10	0,02	1,52	47,65	29,06	2,90	15,18	11,45	0,03	0,01	1,47	0,01
Hipotiroidismo N=10												
Média	0,92	0,63	43,34	324,50	652,26	155,00	196,22	174,77	0,49	0,28	61,99	0,21
Erro padrão	0,03	0,02	1,52	42,11	36,91	5,16	6,61	9,84	0,02	0,02	4,37	0,01

NOTAS: AD=área diastólica; AS=área sistólica; FE=fração de ejeção; TDT=tempo diastólico total; TS=tempo sistólico; FC=frequência cardíaca; TD=tempo diastólico; VD=volume diastólico; VS=volume sistólico; TRIV=tempo de relaxamento isovolumétrico; DS=débito sistólico; DC=débito cardíaco.



## 5 DISCUSSÃO

A função primária do coração é garantir o débito adequado de sangue para atender, de forma global, às demandas metabólicas de todos os órgãos e sistemas. Apesar dos complexos mecanismos envolvidos na regulação do débito cardíaco, estes podem ser inseridos em três grupos: o mecanismo que ajusta de momento a momento o débito cardíaco está representado pela regulação heterométrica (lei de Frank Starling); o mecanismo de regulação homeométrica (contratilidade miocárdica) que opera graças às flutuações nos níveis intracelulares de cálcio, e ocorre a cada ciclo cardíaco. Um terceiro mecanismo envolve a sensibilização do sistema de regulação do complexo troponina tropomiosina, presente nos filamentos finos. Em condições fisiológicas a regulação do débito cardíaco é realizada por meio de um ou da combinação destes 3 mecanismos (BERNE et al., 2004).

O mecanismo de regulação heterométrica é dependente do volume diastólico final e, portanto, depende do retorno venoso. Assim, qualquer fator que o altere, como, por exemplo, a resistência vascular periférica total, o volume circulante e a complacência do leito venoso poderão levar a alterações no débito cardíaco (BERNE et al., 2004).

O mecanismo homeométrico de regulação do débito cardíaco opera sempre que fatores neuro-humorais, como níveis circulantes de catecolaminas, angiotensina, tônus simpático, dentre outros, venham a modificar a condutância dos canais de cálcio presentes no sarcolema, dos trocadores de  $\text{NaCa}^{2+}$ , da bomba de cálcio. Também de particular importância são os mecanismos envolvidos na homeostasia do cálcio intracelular, em particular o retículo sarcoplasmático. O receptor da rianodina e da SERCA2 presentes na membrana do retículo sarcoplasmático, bem como de todos os fatores endógenos que modifiquem suas atividades, são importantes para a modulação da quantidade de cálcio que é liberada e/ou recaptada por esta organela (BERNE et al., 2004).

Além destes 3 mecanismos de regulação do débito cardíaco, a regulação da frequência cardíaca, possibilita que o débito cardíaco seja ajustado às diferentes condições de vida do indivíduo.

Estes mecanismos isoladamente ou em conjunto operam para que a bomba cardíaca gere força (pressão) suficiente para garantir que a resistência oferecida ao

deslocamento do sangue seja vencida. Portanto, estes mecanismos devem ser suficientemente eficientes a permitir que se estabeleça um gradiente de pressão artério-venosa que vença os fatores de resistência dados pelas propriedades intrínsecas do sangue (viscosidade) e geométricas (comprimento e raio) dos vasos sangüíneos.

Empregando a lei de Ohm, poderíamos dizer que:

$$\text{Débito cardíaco} = \Delta P/R,$$

Onde,  $\Delta P$  = Gradiente de pressão artério-venosa

R = resistência vascular.

Como o débito cardíaco por definição é a quantidade de sangue bombeada na unidade de tempo, poderemos reescrever:

$$DS \times FC = \Delta P/R$$

onde DS é o débito sistólico,

FC é a frequência cardíaca

Como nem todo volume diastólico final (volume de sangue existente no interior do ventrículo no momento do fechamento da valva atrioventricular esquerda, ou no direito, no momento do fechamento da válvula tricúspide) é ejetado durante a fase de ejeção ventricular, permanece no coração uma certa quantidade de sangue, designado como volume sistólico de reserva.

Portanto, o débito sistólico é igual: VDF-VSR.

Assim, poderemos reescrever:

$$(VDF-VSR) \times FC = \Delta P/R$$

Rearranjando a equação:

$$(VDF-VSR) \times FC \times R = \Delta P$$

como fluxo ou DC pode ser calculado a partir da equação de Poiseuille:

$$DC = \Delta P \times \pi/8 \times r^4/l \times 1/\eta$$

Rearranjando a equação

$$DC/\Delta P = \pi/8 \times r^4/l \times 1/\eta,$$

Como  $DC/\Delta P = 1/R$ , podemos rearranjar a equação:

$$R = 8/\pi \times l/r^4 \times \eta$$

Assim, substituindo R na equação:

$$(VDF-VSR) \times FC \times R = \Delta P$$

Chegamos a:

$$(VDF-VSR) \times FC \times (8/\pi \times l/r^4 \times \eta) = \Delta P$$

Como  $8/\pi$  é o fator numérico e o comprimento do leito vascular (l) não se altera no indivíduo adulto e, considerando o coeficiente de viscosidade sanguínea  $\eta$  como constantes (o que é uma simplificação, pois o sangue não é um fluido newtoniano), poderemos dizer que:

O fator resistência vascular é governado pelo diâmetro vascular, principalmente das arteríolas que em última instância é a sede do controle da resistência vascular periférica.

O sistema vascular não é constituído de tubos rígidos. Assim as variações de pressão arterial são fenômenos mais complexos, pois uma parte da energia cinética e de pressão é convertida em energia potencial elástica nas paredes do sistema vascular, especialmente nas artérias. Assim as variações nos níveis de pressão arterial durante um ciclo cardíaco podem ser interpretadas levando-se em consideração três variáveis: quantidade de volume sanguíneo existente no compartimento arterial antes de se iniciar a fase de ejeção ventricular (V), do volume de sangue ejetado pelo ventrículo esquerdo (débito sistólico), e das propriedades viscoelásticas das paredes arteriais. Assim, pode-se dizer que a diferença entre a pressão máxima (sistólica) e a mínima (diastólica), ou seja, a pressão de pulso é igual a  $PS-PD = \Delta v \cdot Ev/V$ , onde: PS, pressão sistólica, PD, pressão diastólica,  $\Delta v$ , volume sistólico, Ev, coeficiente volume/elasticidade das paredes arteriais e V é o volume de sangue existente no compartimento arterial imediatamente antes do início da fase de ejeção ventricular (abertura da valva aórtica). Assim, a pressão sistólica é diretamente proporcional ao débito sistólico e a diastólica é inversamente proporcional a V. Como a quantidade de volume existente no compartimento arterial é dependente da resistência vascular periférica total e da frequência cardíaca, fatores que alterem isoladamente ou em combinação estas 2 variáveis, poderão (não existindo outras alterações cardiovasculares) afetar os níveis de pressão diastólica (pós-carga). O fator Ev depende das propriedades

viscoelásticas das paredes arteriais. Estes não se modificam em curto espaço de tempo (semanas) e, portanto, estudos realizados em curto espaço de tempo provavelmente não alteram os níveis de pressão arterial por alterações nas propriedades passivas da parede arterial (BERNE et al., 2004).

A regulação da pressão arterial envolve, portanto, mecanismos que ajustam o débito cardíaco e retorno venoso, a resistência vascular periférica total, o volume de sangue circulante e as propriedades elásticas das paredes arteriais. Em condições fisiológicas a homeostasia da pressão arterial é obtida mediante a combinação destes fatores (BERNE et al., 2004).

Assim, alterações isoladas ou em conjunto das variáveis, volume diastólico final, volume sistólico de reserva, frequência cardíaca e resistência ajustam os níveis de pressão arterial.

Dentre os fatores neuro-humorais que estão envolvidos na regulação da pressão arterial está o hormônio tireoidiano  $T_3$ . Na literatura é amplamente relatado que este hormônio altera importantes parâmetros das funções cardiovasculares. Com o objetivo de melhor elucidar as ações deste hormônio, induziu-se hipotireoidismo em ratos e quantificou-se de forma direta a pressão arterial, a força de contração de papilares isolados em diferentes concentrações de  $Ca^{2+}$  extracelular e a potenciação pós-pausa. Realizamos também eletrocardiografia e mensuramos, através de ecocardiografia, as variáveis: frequência cardíaca, tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV), débito sistólico, volume diastólico final, tempo de diástole, débito cardíaco e fração de ejeção ventricular.

Os dados obtidos neste trabalho demonstram que os animais hipotireóidicos apresentaram níveis de pressão arterial que não diferiram das do grupo controle.

No grupo de animais com hipotireoidismo, constituído de 14 animais, foi determinada a pressão sistólica e diastólica em 5 animais. Obteve-se valores de pressão arterial média de 88,07 mmHg. No grupo controle o valor da pressão arterial média foi de 93,44 mmHg. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Considerando que a frequência cardíaca e o débito sistólico dos animais com hipotireoidismo eram menores, estatisticamente significativas, estes dados, em conjunto com os de pressão arterial sugerem que a pressão arterial se manteve em

valores próximos aos do grupo controle por incremento da resistência vascular periférica total.

O hormônio  $T_3$  afeta o desempenho cardíaco e o sistema vascular através de mecanismos genômicos (resultado de sua interação com receptores nucleares nos miócitos cardíacos) e não-genômicos (extranucleares) (KAHALY & DILLMANN, 2005), influenciando a frequência cardíaca, as funções sistólica e diastólica e a resistência vascular periférica total (BIONDI & KLEIN, 2004; KLEIN & OJAMAA, 2001b; FAZIO et al., 2004).

Os hormônios tireoidianos diminuem a resistência vascular periférica por aumento da liberação de vasodilatadores locais pelo aumento do consumo de  $O_2$ . No estudo de PARK et al. (1997), utilizando células musculares lisas isoladas da aorta de ratos, observou-se vasodilatador direto na resistência arterial muscular esquelética. Este efeito vasodilatador do  $T_3$  parece ser multifatorial, apresentando componentes endotélio independentes e dependentes. Estes dados sugerem que o efeito vasodilatador contribui para a diminuição da resistência vascular.

O aumento da resistência vascular periférica total verificado no hipotireoidismo não está totalmente compreendido, mas provavelmente é multifatorial: alterações na produção de calor, alterações nos fluxos de  $Na^+/K^+$  causados por modulação nos canais retificados de  $K^+$ . Mudanças locais ocasionadas pela liberação de hormônios vasoativos pelo endotélio podem ser outro mecanismo já que as células endoteliais apresentam receptores nucleares, o que produz tanto vasoconstrição (endotelina-1), como vasodilatação (adrenomedulina) (DIEKMAN et al., 2001).

O óxido nítrico é produzido através da transformação da L-arginina para L-citrulina pela família das enzimas conhecidas como óxido nítrico sintetase (NOS), sendo um importante regulador do tônus vascular. Quesada et al. (2002) analisaram as alterações na atividade do óxido nítrico sintetase nos tecidos renais e cardiovasculares em ratos Wistar com hipotireoidismo, hipertireoidismo e eutireóideos. No grupo com hipotireoidismo a atividade do óxido nítrico sintetase (NOS) mostrou padrão heterogêneo estando aumentada em ambos os ventrículos e reduzida na aorta. Na veia cava, córtex e medula renal a atividade da enzima foi maior mas não alcançou grau de significância, demonstrando que a ação do  $T_3$  é

complexa, e que o aumento da resistência vascular periférica verificada no hipotireoidismo é multifacetado.

A investigação das ações em bases celulares e moleculares do  $T_3$  na reatividade vascular de células vasculares endoteliais em cultura, e de células da musculatura lisa vascular foi realizada por Ojamaa et al. (1996). Observou-se que o  $T_3$  produziu relaxamento celular, de forma rápida e similar aos conhecidos agentes vasoativos, como agonistas adrenérgicos. Constatou-se que o  $T_3$  promove o relaxamento da musculatura lisa vascular sem provocar um aumento da produção endotelial de óxido nítrico (NO) ou liberação de nitrito, não sendo observadas alterações nos níveis de cGMP intracelular ou da redução no nível de fosforilação da cadeia leve de miosina.

Outro estudo demonstrou a ação não-genômica do  $T_3$ , postulando que a ativação do TR pode iniciar efeitos decorrentes de elemento não responsivo ao hormônio tireoidiano no sistema cardiovascular, através do cruzamento do fosfatidil inositol 3-quinase via (P13 quinase/proteína quinase Akt). O Akt tem um alvo importante que é o óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS), o qual é fosforilado e ativado pelo Akt, e é um importante mediador da função vascular. A rápida ativação da via P13 quinase/Akt pelo  $T_3$  conduziu um aumento na atividade eNOS, diminuiu a pressão arterial média, aumentou o fluxo de sangue cerebral e reduziu o tamanho do infarto cerebral em camundongos (HIROI et al., 2006).

Diekman et al. (2001b) estudaram as alterações na resistência vascular periférica nos casos de excesso ou deficiência dos hormônios tireoidianos e correlacionaram-nas com alterações nos níveis plasmáticos de peptídeo atrial natriurético, adrenalina, e hormônios endoteliais adrenomedulina e endotelina-1. As alterações na resistência vascular periférica não se correlacionaram com as concentrações plasmáticas de adrenomedulina. Em comparação aos pacientes com hipertireoidismo, nos pacientes hipotiróidicos a atividade plasmática da renina, aldosterona e o peptídeo atrial natriurético encontraram-se diminuídos, e as catecolaminas plasmáticas aumentadas. Os valores de resistência vascular periférica total (RVPT) correlacionaram-se com os níveis de  $T_3$  em 46%, sugerindo que fatores neuro-humorais também contribuem para as alterações da RVPT.

As alterações nas velocidades de contração sistólica, relaxamento diastólico, frequência cardíaca, resistência vascular periférica total e pressão

arterial, encontram-se em descrições clínicas e investigação utilizando modelos animais (STREETEN et al., 1988; FOMMEI & IERVASI, 2002; WEGENER et al., 2003; KAASIK et al., 1997a; SHENOY et al., 2001; ROHRER & DILLMANN, 1988). A interpretação dos resultados obtidos em diferentes estudos é bastante complexa, haja vista os diferentes modelos experimentais e espécies utilizadas, a forma e o estágio do hipotireoidismo, a duração do mesmo e as variáveis analisadas. Tem sido relatada a associação de hipotireoidismo com hipertensão arterial em estudos clínicos, com a prevalência oscilando de 0 a 50% (SAITO et al., 1983).

Streeten et al. (1988) mediram a prevalência de hipotireoidismo em 688 pacientes com hipertensão, e em 25 (3,6%) encontraram hipotireoidismo que foram tratados com L-T<sub>4</sub>. Em 8 destes pacientes (40%), a pressão diastólica diminuiu para valores inferiores a 90 mmHg após tornarem-se eutireóides, podendo ser suspensa medicação anti-hipertensiva.

Fommei & Iervasi (2002) relataram a relação fisiológica entre pressão arterial e modificações neuro-humorais presentes no hipotireoidismo agudo em pessoas normotensas. Em 12 pacientes normotensos com tireoidectomia total foram estudadas as variações dos níveis do hormônio tireoidiano, e da pressão arterial. Com a retirada do hormônio tireoidiano houve aumento na pressão arterial, particularmente a diastólica em 4 casos. O aumento nos níveis das catecolaminas circulantes, aldosterona e cortisol sugere que o hormônio tireoidiano participa do controle da homeostasia da pressão arterial sistêmica em indivíduos normotensos, e que o sistema simpático e adrenal pode contribuir para a hipertensão arterial em pacientes hipotireoídicos.

Gumieniak et al. (2004) estudaram em 284 pacientes eutireóides a associação entre a função tireoideana e a homeostasia da pressão arterial e não detectaram relação com o sistema renina-angiotensina-aldosterona.

A investigação da complacência da artéria radial, espessura da parede, bem como da complacência da artéria carótida em pacientes hipotireoídicos, normotensos, mostrou aumento da espessura da parede e da complacência da artéria radial e que as alterações não são uniformes através da árvore arterial, porém estas são reversíveis com a reposição hormonal (GIANNATTASIO et al., 1997).

Sato et al. (2005) investigaram as conseqüências da diminuição do hormônio tireoideano e o aumento da calcificação vascular *in vivo*. Verificaram que estas estão associadas com diminuição na expressão da proteína Gla, sugerindo que o hormônio tireoideano possui um efeito protetor contra a calcificação da musculatura lisa vascular e conseqüentemente efeito sobre a complacência vascular. Dernellis & Panaretou (2002) selecionaram 30 pacientes de 1004 com hipertensão arterial e hipotireoidismo e verificaram, mediante o emprego de ecocardiografia, o aumento da rigidez aórtica e hipertensão diastólica. Este dado demonstra que no hipotireoidismo é provável que as alterações das propriedades elásticas dos vasos sangüíneos também contribuam para o incremento da pressão arterial.

No presente estudo não foram encontradas alterações significativas nos valores da pressão arterial nos animais com hipotireoidismo, não havendo contudo discordância com trabalhos que relatam incidências de hipertensão de 0 a 50% dos indivíduos investigados (SAITO et al., 1983; FOMMEI & IERVASI, 2002; STREETEN et al., 1988).

No presente estudo verificou-se que a freqüência cardíaca no grupo com hipotireoidismo foi de  $196,22 \pm 19,82$  e no grupo controle foi de  $242,89 \pm 4,52$ . Na literatura relaciona o cronotropismo reduzido com a diminuição dos níveis plasmáticos do hormônio tireoideano. Valente et al. (1989) demonstraram que a tireoidectomia e hipofisectomia de ratos produziram bradicardia, e esta foi resolvida pela administração de  $T_3$ . Os hormônios hipofisários (GH - hormônio do crescimento, ACTH - hormônio adrenocorticotrófico e FSH e LH (gonadotrofinas)) parecem não influenciar os valores de freqüência cardíaca. Nos animais submetidos a tireoidectomia e simpatectomia, a diminuição da freqüência cardíaca observada após a tireoidectomia se sobrepôs à diminuição da freqüência cardíaca induzida pela simpatectomia. Nestes animais, a administração de  $T_3$  reverteu o efeito da tireoidectomia e simpatectomia, sugerindo que este hormônio apresenta efeitos diretos no sistema de automaticidade cardíaca (VALENTE et al., 1989).

A redução do débito cardíaco observado neste estudo, deveu-se não somente à redução do débito sistólico, mas também à redução da freqüência cardíaca. Esta é uma das principais variáveis cardiovasculares afetadas no hipotireoidismo (VALENTE et al., 1989). Existem pelo menos duas possibilidades



pelas quais a frequência cardíaca pode ser alterada: modificação direta das propriedades elétricas das células de automaticidade intrínseca (nodo sinusal), ou alterações nos níveis de fatores neuro-humorais que modulam a atividade deste marca-passo primário, como, por exemplo, catecolaminas circulantes, tônus simpático, dentre outros. Apesar de o efeito cronotrópico positivo exercido pelo  $T_3$  estar bem caracterizado, as bases moleculares de suas ações não têm sido investigadas em detalhes. Foram caracterizados dois genes responsáveis pela expressão de canais iônicos envolvidos na geração de corrente iônica ativada por hiperpolarização (If), que contribui para a atividade de marca-passo: HCN2 e HCN4. Os genes HCN2 codificam os canais responsáveis pelo componente rápido da If enquanto o HCN4 o componente lento (SANTORO et al., 1998; LUDWIG et al., 1998). A presença do  $T_3$  provoca aumento na expressão destes genes, promovendo aumento da frequência cardíaca, aumento da velocidade de produção de força e de relaxamento de musculatura cardíaca isolada, o que sugere a ausência da participação do sistema nervoso autonômico nestas ações (GLOSS et al., 2001; LUDWIG et al., 1998). O hormônio tireoidiano aumenta também a expressão de outras proteínas envolvidas indiretamente na modulação das propriedades elétricas da membrana citoplasmática como a do trocador Na/Ca, cálcio ATPase do retículo sarcoplasmático, canais de cálcio do tipo L e T e de receptores rianodínicos (GRUPP et al., 1993). Os efeitos não-nucleares de  $T_3$  são rápidos na sua instalação e observa-se mudanças nas respostas do receptor adrenérgico no coração, no sarcolema ATPase e nas correntes iônicas de repolarização em miócitos (SUN et al., 2000b; SUN et al., 2000a). A densidade da corrente de  $K^+$  diminui significativamente no hipotireoidismo quando comparada com miócitos ventriculares no estado de eutireoidismo, sugerindo que os componentes moleculares do Ito (*transient outward current*), incluem produtos dos genes Kv4.2 e Kv4.3 e são regulados pelo  $T_3$  em nível de transcrição. A redução na densidade do Ito pode explicar a prolongada duração no potencial de ação e o prolongado intervalo Q-T observado por eletrocardiografia. Já a regulação do IK- (*slowly inactivating K<sup>+</sup> current*) pelo  $T_3$  é realizada pelo mecanismo não genômico ou extranuclear (SUN et al., 2000b; SUN et al., 2000a; DAVIS & DAVIS, 2002).

Além destes efeitos diretos nos miócitos, o  $T_3$ , provavelmente, influencia também o tônus do sistema simpático, o que provoca de forma indireta alterações

da resistência vascular periférica total, resultando em alterações hemodinâmicas e conseqüentemente da freqüência cardíaca (GLOSS et al., 2001; DIEKMAN et al., 2001b; BIRK et al., 1992; LUDWIG et al., 1998; HIROI et al., 2006).

O hormônio da tireóide promove efeito positivo na velocidade, na força de contração sistólica, e no tempo de relaxamento no coração. Nossos dados demonstraram que animais com hipotireoidismo apresentam redução da contratilidade miocárdica, o que promovendo conseqüentemente redução do débito sistólico. Como o volume diastólico final não foi alterado, isso levou a uma redução da fração de ejeção ventricular. Verificou-se também que estes animais apresentaram alteração diastólica manifestada pela redução da velocidade de relaxamento isométrico (mensurado em papilares isolados) e aumento do tempo de relaxamento isovolumétrico (medido por ecocardiografia). Estes efeitos, em conjunto com a redução da freqüência cardíaca, promoveram redução do débito cardíaco. Caso os valores de resistência vascular não tivessem aumentado, a conseqüência teria sido redução nos níveis de pressão arterial, o que não foi verificado.

O número de pontes cruzadas formadas no estado produtor de força e a velocidade do ciclo de pontes cruzadas determinam a velocidade e a força de contração muscular. Na ausência de íons cálcio, a tropomiosina promove bloqueio estérico da interação do sítio de ligação da cabeça da miosina à actina. A posição da tropomiosina no filamento fino depende da conformação do complexo troponina. A ligação do íon cálcio à subunidade C do complexo troponina (troponina C) promove mudanças conformacionais no complexo troponina-tropomiosina, o qual resulta no deslocamento da molécula de tropomiosina em direção à ranhura do filamento fino, expondo, assim, o sítio de ligação deste filamento à miosina. A conseqüência destas alterações é a formação de pontes transversas no estado de forte ligação e produtora de força, iniciando o ciclo de pontes transversas. A formação do complexo miosina-actina aumenta enormemente a atividade ATPásica da cabeça da miosina. Portanto, a força sistólica máxima, a velocidade de contração e de relaxamento do músculo cardíaco e a atividade ATPase da miosina são dependentes das flutuações nas concentrações do íon cálcio intracelular. Os genes para as cadeias  $\alpha$   $\beta$  da cadeia pesada da miosina (MyHC) são regulados pelo  $T_3$ . As proteínas  $\alpha$  e  $\beta$  da cadeia pesada da miosina formam homodímeros ou heterodímeros: MyHC  $\alpha$  forma a isoforma  $V^1$ , a qual apresenta alta atividade

ATPásica; a MyHC  $\beta$  homodímera forma a isoforma  $\beta$  que apresenta baixa atividade ATPásica e a MyHC  $\alpha/\beta$  heterodímera forma a isoforma  $V^2$ . Cada uma destas isoformas contém uma idêntica cadeia leve da miosina. A composição da cadeia pesada da miosina reflete a performance mecânica do coração. No miocárdio do ventrículo do rato adulto três isoformas de miosina foram identificadas e estas são designadas como  $V^1, V^2$  e  $V^3$  apresentando, nesta ordem, atividade decrescente de atividade da ATPase e de mobilidade eletroforética. A presença do hormônio  $T_3$  altera as isoformas da miosina em músculo cardíaco de rato. Em ratos adultos eutireóides, a isoforma predominante (80 a 90%) é a MyHC  $\alpha$ , ( $V^1$ ). No músculo cardíaco de ratos jovens ou hipertireóidico observa-se a isoforma  $V^1$ , no rato hipotireóidico a isoforma existe como  $V^3$ . A actina ativa a atividade Mg-ATPase das três isoformas, tendo a isoforma  $V^1$  atividade ATPásica 3 a 5 vezes superior à de  $V^3$ . Existem correlações do desempenho contrátil do miocárdio com as isoformas da miosina. Gibson et al. (1992) compararam parâmetros da ativação cardíaca com  $Ca^{2+}$  de rato hipotireóidico (predominância da isoforma  $V^3$ ), eutireóidicos (isoformas  $V^1$  e  $V^3$ , com predominância de  $V^1$ ) e ratos jovens (isoforma  $V^1$ ). Nos animais com hipotireoidismo, verificou-se que o intervalo de tempo necessário para o alcance do pico de tensão é reduzido e o tempo necessário para se obter 50% de relaxamento é maior. Contudo, a velocidade máxima de tensão e o pico de tensão não são significativamente diferentes. Estas observações sugerem que os músculos dependem dos estoques internos de cálcio para a ativação da contração, enquanto ventrículos de outras espécies, como coelho (predomínio da isoforma  $V^3$ ), utilizam estoques superficiais.

Ohga et al. (2002) relataram que a disfunção cardíaca observada no hipotireoidismo é causada por alterações do processo de acoplamento excitação-contracção. As velocidades de contracção e de relaxamento ventricular foram significativamente menores no rato hipotireóidico. Como obtiveram, no músculo cardíaco, elevados níveis de fosfolamban e baixos níveis de SERCA2, estas alterações poderiam explicar as alterações funcionais cardíacas observadas. Contudo, é pouco provável que somente a transformação da isoforma da miosina de  $V^1$  para  $V^3$ , seja a única explicação para a disfunção ventricular sistólica e diastólica, visto que em outros modelos experimentais (diabetes tipo 2), ocorre a mesma mudança na isoforma da miosina (de  $V^1$  para  $V^3$ ), sem, contudo, promover idêntica

alteração na função sistólica e diastólica (OHGA et al., 2002). Outro argumento contrário, é que em músculo cardíaco de ratos, que contém 100% da isoforma MYHC V<sup>1</sup>, obtém-se aumento da performance cardíaca com a administração de T<sub>3</sub>, tornando-os hipertireóidicos (GRUPP et al., 1993). Também acredita-se que mudanças nas isoformas da troponina I ou troponina T não melhoram a contratilidade miocárdica (DIECKMAN & SOLARO, 1990).

Wolska et al. (1997) demonstraram em miócitos de ratos com hipertireoidismo diminuição do pH intracelular e aumento da concentração intracelular de Na, de expressão da SERCA2 e do trocador Na/H, sugerindo que T<sub>3</sub> pode modular a atividade cardíaca modificando de outros sistemas de transporte transmembrana.

No estado relaxado, a concentração de íons cálcio alcança 10<sup>-7</sup> a 10<sup>-8</sup> M, e no pico da contração esta concentração pode chegar a 10<sup>-5</sup> M. O estado inotrópico cardíaco é regulado nesta faixa de concentração. Números fatores podem modificar as concentrações intracelulares deste íon e, portanto, alterar o estado contrátil do músculo cardíaco. Dentre estes fatores está o T<sub>3</sub> (DILLMANN, 2002). A atividade contrátil nos miócitos cardíacos depende da entrada de cálcio na célula, a qual ocorre através do canal de cálcio tipo L. Este influxo de íons cálcio dispara a liberação de grandes quantidades de íons cálcio que se encontram armazenadas no retículo sarcoplasmático por um mecanismo descrito como liberação de cálcio induzida por cálcio. A saída destes íons do retículo sarcoplasmático ocorre através de um canal (receptor da rianodina) que está presente na cisterna terminal desta organela. Este canal foi inicialmente identificado e purificado graças à ligação específica da rianodina (alcalóide obtido de uma planta, *Ryania speciosa*) a esta proteína. O influxo do Ca<sup>2+</sup> através do canal de cálcio tipo L, e a saída do cálcio do RS através do canal de rianodina, são ambos aumentados pelo T<sub>3</sub> e os genes do canal de cálcio tipo L e rianodina são acentuadamente sensíveis ao T<sub>3</sub> (JIANG et al., 2000).

O nível de cálcio citosólico é o principal determinante da magnitude da contração cardíaca durante a sístole e a de sua remoção, a determinante da velocidade de relaxamento diastólico. O relaxamento diastólico é primariamente mediado pela bomba de cálcio, localizada na membrana do RS, uma estrutura reticular que circunda as miofibrilas. Esta bomba é denominada ATPase do retículo

sarcoplasmático (SERCA2 e é fortemente inibida por uma proteína — o fosfolambam quando esta se encontrar no estado não fosforilado (KISS et al., 1994; KISS et al., 1998). A fosforilação da fosfolambam remove o efeito inibitório da PLB na bomba SERCA2, o T<sub>3</sub> aumenta acentuadamente os níveis de SERCA2 bem como o estado fosforilado da PLB, ambos processos contribuem para aumentar a velocidade do relaxamento diastólico (KAASIK et al., 1997b).

Kaasik et al. (1997) compararam os efeitos do hipotireoidismo e hipertireoidismo na atividade da bomba de cálcio do RS (SERCA2) de vesículas isoladas juntamente com a avaliação funcional do RS em liberar e recaptar Ca<sup>2+</sup>. As velocidades de captação de Ca<sup>2+</sup> foram maiores nas preparações de hipertireoidismo e menores no hipotireoidismo, quando comparados com estados eutireóidicos. No hipertireoidismo houve um aumento em 10 vezes na atividade da SERCA2 nos átrios, porém o aumento foi de somente duas vezes nos ventrículos. O mecanograma deste trabalho mostra que, em comparação com o estado eutireóidico, o hipotireoidismo promoveu uma diminuição da tensão máxima ((dt) e da velocidade de contração enquanto reduziu a velocidade de relaxamento, ambos músculos atrial e papilares). A fração de recirculação de Ca<sup>2+</sup> (RFA) é um índice de quantidade fracionada de Ca<sup>2+</sup> que é seqüestrada durante a diástole e liberada na sístole subsequente. No hipotireoidismo este parâmetro foi significativamente menor em ambos, átrios e músculos papilares. O aumento na atividade da bomba SERCA2 explica a maior velocidade de relaxamento no miocárdio ventricular em animais com hipertireoidismo. Kaasik et al. (1997) observaram no seu estudo, que grandes mudanças nas velocidades de recaptção de cálcio realizada pela bomba de cálcio do RS estavam associadas às grandes alterações no relaxamento atrial e músculos papilares, em resposta a mudança do hipotireoidismo para hipertireoidismo. No presente trabalho avaliou-se a curva df/dt da contratilidade e relaxamento dos músculos papilares. Os dados obtidos demonstram aumento no tempo de relaxamento isométrico dos animais com hipotireoidismo. O tempo de relaxamento em músculo isolado é equivalente ao tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) que pode ser mensurado por ecocardiografia. No presente estudo, a ecocardiografia de animais com hipotireoidismo demonstrou aumento do TRIV. Resultados semelhantes foram obtidos de animais submetidos ao hipotireoidismo, com a mesma freqüência cardíaca sob estimulação elétrica extrínseca constante e com

valores próximos aos dos animais eutireóidicos (OHGA et al., 2002). Portanto, os dados obtidos em nosso laboratório não podem, provavelmente, ser atribuídos à redução da frequência cardíaca dos animais.

A SERCA2 desempenha um papel substancial no processo de relaxamento diastólico. Os altos níveis de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular presentes durante a sístole estão diminuídos para níveis sub-micromolares pela ação deste e de outras enzimas transportadoras de  $\text{Ca}^{2+}$ . Portanto, a velocidade de relaxamento diastólico é dependente da velocidade pela qual o  $\text{Ca}^{2+}$  é seqüestrado durante a diástole. Rohrer & Dillmann (1988) quantificaram pelo método de *Nonthern blot* os níveis de SERCA2 em ratos com hipertireoidismo e hipotireoidismo e os compararam com animais eutireóidicos. Nos ratos hipotireóidicos o nível estável de SERCA2/RNA foi de somente 36% dos animais controle, enquanto no hipertireóidico os níveis de RNA foram aumentados para 136%. Assim, o efeito do hormônio tireoidiano na melhora da contratilidade miocárdica e o aumento na velocidade de relaxamento diastólico podem, em parte, estar relacionados a alterações específicas nos níveis de RNA da SERCA2.

O hormônio ativo da tireóide ( $\text{T}_3$ ) exerce efeito a nível celular através da ligação com receptores nucleares específicos. Estes receptores nucleares pertencem à família supergene c-erbA; Foram descritos quatro receptores, dos quais, com três ( $\alpha^1, \beta^1, \beta^2$ ) o  $\text{T}_3$  possui alta afinidade, enquanto o receptor  $\alpha^2$  não tem ligação dominante com  $\text{T}_3$  e funciona como um antagonista deste hormônio. No rato os três receptores têm distribuição específica nos tecidos, os receptores  $\alpha$  encontram-se em todos os tecidos, os receptores  $\beta^1$  estão expressos em tecidos como fígado, rim cérebro e coração, os receptores  $\beta^2$  estão expressos somente na pituitária e hipotálamo. A distribuição em humanos é similar, só não é idêntica aquela encontrada no rato, embora o  $\beta^2$ -receptor não tenha sido clonado (DILLMANN, 1990).

O RS serve como sistema regulatório no ciclo da contração — relaxamento do músculo, pelo controle da concentração intracelular do cálcio livre. A recaptação de  $\text{Ca}^{2+}$  pelo retículo sarcoplasmático determina a velocidade de relaxamento do miocárdio. Além disso, a quantidade absoluta de  $\text{Ca}^{2+}$  no RS durante a diástole (potencialmente disponível para liberação na excitação celular) é determinante da força contrátil. Assim, duas ações clínicas do hormônio tireoidiano (isto é, aumento

da velocidade de relaxamento do miocárdio e inotropismo) poderiam ser obtidas através da modulação da atividade do SERCA2. Davis & Davis (1993); Suko (1973) empregando preparações diferentes de RS cardíacos de coelhos eutireóidicos, hipertireóidicos e hipotireóidicos, mensuraram a recaptação de  $\text{Ca}^{2+}$  dependente de ATP, sua capacidade de armazenar e concentração de cálcio e, a hidrólise de ATP pela ativação da SERCA2. A velocidade de recaptação de cálcio e a hidrólise de ATP ativada por cálcio pelo RS foram significativamente aumentadas no hipertireoidismo, enquanto ambas as atividades estavam marcadamente reduzidas no hipotireoidismo. Isto sugere que a velocidade de transporte de cálcio pelo RS, que está aumentada no hipertireoidismo e reduzida no hipotireoidismo, encontrado *in vitro*, poderia ser parcialmente responsável pelo encurtamento no tempo de relaxamento do músculo cardíaco no estado hipertireóideo e pelo prolongamento no tempo de relaxamento no estado hipotireóidico observado *in vitro* e *in vivo*.

Rodgers et al. (1986) demonstraram que 8 semanas após a tireoidectomia de ratos Wistar hipertensos, ocorreram alterações no relaxamento dos ventrículos, na atividade do RS e hipertrofia de ventrículo. O prejuízo no relaxamento que ocorre no hipotireoidismo está funcionalmente relacionado com a redução na velocidade de sequestração de cálcio pelo RS (SUKO et al, 1973).

O hormônio tireoidiano altera a contratilidade cardíaca alterando as funções sistólica e diastólica. Os efeitos inotrópicos do  $\text{T}_3$  são mediados em parte por sua capacidade para regular a transcrição dos genes codificando as proteínas transportadoras de cálcio do sarcolema e do RS, bem como proteínas específicas miofibrilares. A contração do cardiomiócito é dependente primariamente da liberação de cálcio do RS que é desencadeado pelo  $\text{Ca}^{2+}$  que entra pela via canal de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L durante a despolarização da membrana. O relaxamento do miócito durante a diástole envolve a recaptação de cálcio para o RS pela ativação da SERCA2. A atividade da SERCA2, por outro lado, é regulada pela fosfolamban, uma proteína integral do RS, a qual possui atividade inibitória quando se encontra no estado não-fosforilado. As alterações funcionais associadas com hipotireoidismo incluindo redução da contratilidade e dos transientes intracelulares de cálcio são acompanhadas pela diminuição na expressão da SERCA2 e aumento da expressão da proteína fosfolamban (KISS et al., 1998).

Shenoy et al. (2001) estudaram os níveis de expressão do trocador Na/Ca (NCX), PLB e SERCA2 nos átrios e ventrículos de ratos com hipotireoidismo e num subgrupo deste, após 7 dias de tratamento com  $T_3$ . Os ventrículos, mas não os átrios de animais com hipotireoidismo, tiveram uma diminuição de 50% na expressão da SERCA2. Nestes animais, os níveis de PLB foram aumentados em 5 vezes nos átrios e 1,6 vezes nos ventrículos. Os animais tratados com  $T_3$  tiveram os níveis de expressão de SERCA2 e PBL normalizados e apresentaram níveis de expressão do NCX maiores nos átrios que nos ventrículos. Estes dados sugerem que as expressões de proteínas transportadoras são sensíveis ao hormônio tireoidiano, tendo os átrios maior sensibilidade ao tratamento com  $T_3$ . A mudança da expressão destas proteínas em resposta ao hormônio tireoidiano, pode ser em parte responsável pela melhora na função do ventrículo esquerdo observada com administração de  $T_3$ . A maior responsividade dos átrios ao  $T_3$  pode ser uma das explicações para a maior susceptibilidade dos átrios às arritmias cardíacas (fibrilação ventricular).

Boerth & Artman (1996) avaliaram a influência do hormônio tireoidiano na expressão do NCX e SERCA2 no miocárdio dos ventrículos de coelho durante o período de maturação pós-natal e de animais adultos, e verificaram que o nível de expressão do NCX está aumentado e de SERCA2 está diminuído no hipotireoidismo; estes achados sugerem que a regulação coordenada auxiliaria para explicar que o coração do rato hipotireóidico é mais dependente e que o coração hipertireóidico menos dependente do fluxo de cálcio transsarcolema que o eutireóideo.

Koss & Kranias (1996) revisaram o importante papel regulador da fosfolamban na contratilidade miocárdica, e que a sua fosforilação libera seu efeito inibitório, inibindo a enzima  $Ca^{2+}$  SERCA2 ATPase a qual transporta o  $Ca^{2+}$  do citosol para o lúmen, mediando o relaxamento no miocárdio dos mamíferos.

Kiss et al. (1998) avaliaram o papel do fosfolamban em animais normais ou com deficiência do gene para esta proteína e estudaram as conseqüências do estado de hipotireoidismo, eutireoidismo e hipertireoidismo neste modelo experimental. Demonstraram que o hormônio tireoidiano induz aumentos similares nos níveis teciduais da SERCA2 tanto na presença como na ausência da fosfolamban. Observaram também redução da contratilidade e da velocidade de



relaxamento cardíaco em animais hipotireóidicos. Esta redução foi, contudo, menor em animais com hipotireoidismo e com deficiência de fosfolamban. No entanto, a performance cardíaca dos animais com hipotireoidismo e com deficiência de fosfolamban foi estatisticamente menor do que os animais com deficiência de fosfolamban, mas eutireóidicos. Estes dados sugerem que o hormônio tireoidiano desempenha outros papéis na contratilidade miocárdica, e sua ação não é apenas por alterações nos níveis de fosfolamban. Assim, alterações não só nos níveis celulares da fosfolamban, mas também de sua atividade, podem ser um determinante crítico das respostas contráteis a estados tireoidianos alterados no coração de mamífero. O grau de fosforilação desta proteína é um dos mecanismos envolvidos na regulação da eficiência de transporte do cálcio pela SERCA2, do citoplasma para o lúmen do retículo sarcoplasmático (KISS et al., 1998; KISS et al., 1994a). A concentração e o nível de fosforilação do fosfolamban são aumentados no hipotireoidismo. A administração de T<sub>3</sub> em animais eutireóidicos reduz a quantidade desta proteína, bem como aumenta o nível de fosforilação da mesma, promovendo aumento da frequência cardíaca e da fração de ejeção (OJAMAA et al., 2000b; OJAMAA et al., 2000a). Os mecanismos celulares envolvidos no aumento do nível de fosforilação do fosfolamban induzido pelo T<sub>3</sub>, não estão completamente elucidados. Uma possibilidade seria de que o hormônio da tireóide, aumentando o número de receptores beta adrenérgicos, elevaria o nível de proteína G, levando como consequência a um aumento na concentração de AMPc, e aumento na atividade da proteína cinase C intracelular. O resultado seria um aumento da sensibilidade cardíaca à estimulação simpática (OJAMAA et al., 2000b; OJAMAA et al., 2000a).

Na avaliação ecocardiográfica de camundongos com deficiência de fosfolamban foram observadas alterações no pico da velocidade transmitral pré-diastólica precoce, no pico de velocidade aórtica e na velocidade de encurtamento circunferencial. Estes achados indicam que a fosfolamban regula a função basal do ventrículo esquerdo (HOIT et al., 1995).

KISS et al. (1994b); KISS et al. (1994a) estudaram as mudanças nos níveis da proteína fosfolamban e seu efeito regulatório na captação de Ca<sup>2+</sup> pelo RS e função ventricular esquerda de ratos hipotireóidicos e hipertireóidicos. O hipotireoidismo está associado à diminuição da função ventricular basal esquerda,

enquanto no hipertireoidismo estes parâmetros estavam elevados, em comparação com os corações eutireóides. Os níveis teciduais de fosfolamban estavam aumentados no hipotireoidismo, e diminuídos no hipertireoidismo; a SERCA2 reduzida no hipotireoidismo, mas aumentado no hipertireoidismo, conseqüentemente a relação relativa de fosfolamban para SERCA2 foi maior no hipotireoidismo e menor no hipertireoidismo. Estes achados indicam que alterações nos níveis de fosfolamban em diferentes estados tireoidianos podem refletir na captação de  $\text{Ca}^{2+}$  pelo RS; na afinidade da SERCA2 para o  $\text{Ca}^{2+}$  e na velocidade de relaxamento do miocárdio.

Os dados do presente estudo, obtidos de preparações isoladas (músculo papilares) e de ecocardiografia, estão de acordo com os publicados na literatura. A redução na velocidade de relaxamento isométrico encontrado nas preparações isoladas de papilar de animal com hipotireoidismo coincide com os dados de ecocardiografia (aumento no TRIV). Contudo, diferentemente do que foi obtido pela ecocardiografia (aumento no tempo de contração isovolumétrica), não foi observada nas preparações de papilares isolados, alteração na velocidade máxima de contração isométrica. Isto sugere que fatores endógenos poderão mediar alterações no processo de acoplamento excitação-contração do músculo cardíaco de animais hipotireóidicos, levando a um aumento da duração da fase de contração isovolumétrica.

A estimulação elétrica de preparações isoladas de músculo cardíaco (músculo papilar ou trabecular), fornece importantes informações a respeito do estado contrátil e eletrofisiológico do miocárdio de indivíduos com hipotireoidismo (DIMEO et al., 1997b; ROSAROLL et al., 1996; DIMEO et al., 1995; BING et al., 1994; DIMEO et al., 1994; PENNOCK et al., 1994; DIMEO et al., 1993; GIBSON et al., 1992; SNOW et al., 1992; ROSAROLL et al., 1991; SHARP et al., 1985). Tem sido demonstrado, nestas condições experimentais, que o hipotireoidismo reduz a velocidade de repolarização, aumentando como conseqüência a duração do potencial de ação (DIMEO et al., 1997a; DIMEO et al., 1997b; DIMEO et al., 1994) e modulando o estado contrátil por alterações no processo de acoplamento excitação-contração e nas mudanças das isoformas da miosina (BING et al., 1994; YAGI et al., 2001). No hipotireoidismo, a redução da velocidade de repolarização parece envolver a redução na densidade de corrente de potássio (I-Ks) resistente a

dofetilida Bosch et al. (1999) e a corrente de potássio ativada por ATP (LIGHT et al., 1998). A menor velocidade de desenvolvimento de tensão e de relaxamento em preparações de músculo cardíaco isolado, se deve provavelmente a uma redução na velocidade da liberação e recaptção de íons cálcio, respectivamente, pelo RS (YAGI et al., 2001). A interrupção da estimulação elétrica por um tempo pré-determinado e o subsequente retorno da mesma promove, no primeiro abalo desencadeado, um aumento na força de contração muscular cardíaca. Este evento, apesar de complexo, tem sido atribuído à maior liberação de cálcio do RS. Isto porque, durante o período de quiescência, a SERCA2 teria tempo maior para transportar íons cálcio do citoplasma para o RS, onde o mesmo ficaria armazenado e disponível (MILL et al., 1992). Este fenômeno, conhecido como potenciação pós-pausa, no presente trabalho, não foi estatisticamente diferente. Estes dados sugerem que, apesar da redução na velocidade máxima de relaxamento muscular tanto em papilares isolados quanto do coração *in vivo* (aumento do TRIV) esta não foi suficiente para comprometer o tempo necessário para a recaptção e armazenamento de cálcio pelo RS. É provável que diferenças entre os dois grupos de animais poderiam se manifestar se houvesse sido imposto às preparações de papilar isolado uma frequência de estimulação elétrica mais alta. No animal intacto, o índice de Tei obtido por ecocardiografia fornece informações a respeito das funções sistólica e diastólica da performance cardíaca. No presente trabalho, o índice de Tei do grupo de animais com hipotireoidismo diferia de forma estatisticamente significativa do grupo controle. A análise conjunta deste índice com o tempo sistólico e tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV), os quais se encontram aumentados no grupo de animais com hipotireoidismo, indicam existir, neste grupo, comprometimento da função sistólica e diastólica. A redução da fração de ejeção ventricular (redução do débito sistólico) reforça ainda mais o mecanismo de prejuízo da função sistólica. A comparação dos dados de volume diastólico final e volume sistólico não mostraram diferença significativa entre os grupos. Contudo, quando se obtém, a partir destes dados, a fração de ejeção ventricular e o débito sistólico, verificamos existir diferença significativa entre os grupos. A explicação para esta aparente discrepância reside no fato de que, com a normalização em percentual do volume diastólico final que é ejetado (fração de ejeção), minimiza-se a dispersão dos dados. Comparando-se a probabilidade de ocorrência da hipótese

nula para o volume diastólico final verifica-se que esta é muito maior do que a dos volumes sistólicos. Assim, duplicando-se o número de observações, mas mantendo-se os mesmos valores obtidos experimentalmente, em qualquer dos grupos para a variável, volume sistólica, obtém-se um valor de  $p < 0,05$ . Esta simulação nos permite recusar a hipótese de nulidade e aceitar a hipótese alternativa de que, para o volume sistólico, existe diferença significativa entre os grupos. O aceite desta alternativa nos remete à análise da função ventricular, que permite inferir que, como não ocorreu diferença no volume diastólico final entre os grupos, a contratilidade miocárdica dos animais com hipotireoidismo está reduzida. Por estas razões, é também razoável hipotetizar que os animais com hipotireoidismo devem apresentar uma redução do retorno venoso e/ou comprometimento da distensibilidade ventricular. Isto porque, em condições fisiológicas, o aumento do volume sistólico, para um mesmo valor de retorno venoso, teríamos um aumento do volume diastólico final e como consequência aumento do débito sistólico pelo mecanismo de *Frank-Starling*, o que não foi observado. Assim a redução do débito cardíaco dos animais com hipotireoidismo é consequência, provavelmente, de uma redução da contratilidade miocárdica por mecanismo homeométrico e da frequência cardíaca, discutidas anteriormente. As reduções dos picos das velocidades de sangue transmitral na fase inicial de enchimento ventricular (onda E), apesar de não ser estatisticamente significativa, e na fase tardia (onda A), a qual é dependente da sístole atrial sugere que o ventrículo esquerdo apresentou uma redução de sua distensibilidade. Estes dados estão de acordo com os de outros autores (TURHAN et al., 2006; BIONDI et al., 1999; OZHAN et al., 2005).

Atualmente, utiliza-se em humanos a ecocardiografia como método não-invasivo, para definir parâmetros seriados e monitorar defeitos congênitos, progressão de doenças e estabelecer critérios para o tratamento (KAHALY et al., 1995). A técnica é ainda relativamente incomum como método de estudo em animais de experimentação. No entanto seu o emprego isoladamente ou em combinação com outras pode fornecer informações importantes acerca da fisiopatologia de inúmeras doenças como as disfunções tireoidianas.

Parâmetros de função cardíaca avaliados por ecocardiografia Doppler obtidos de pacientes com hipotireoidismo subclínico demonstraram comprometimento da função sistólica e prolongamento do tempo de relaxamento

diastólico (TRVI), sugerindo existir anormalidades no enchimento diastólico (BIONDI et al., 1999; VITALE et al., 2002; ARINC et al., 2006; ZONCU et al., 2005; TURHAN et al., 2006; MONZANI et al., 2001).

A avaliação da performance cardíaca por intermédio de ecocardiografia de indivíduos com deficiência aguda do hormônio tireoidiano ocasionada por tireóidectomia, demonstra disfunção sistólica ventricular esquerda e aumento no tempo de relaxamento ventricular (DI PAOLA et al., 2004; CHERNISKE et al., 2004; GROSSMANN et al., 1994). Nestes indivíduos, o prolongado tempo de relaxamento isovolumétrico indica que o ventrículo esquerdo é acentuadamente mais lento que o normal e que este prolongamento é devido ao aumento do período diastólico precoce, sugerindo existir prejuízo do relaxamento ativo (KAHALY et al., 1995; VITALE et al., 2002).

Estudos invasivos como a ventriculografia e cateterismo cardíaco foram realizados em pacientes submetidos à tireoidectomia total, com o conseqüente quadro de hipotireoidismo agudo, avaliados em repouso e durante o exercício. Os resultados demonstram diminuição do débito cardíaco, volume cardíaco, volume diastólico final e aumento na resistência vascular periférica, sugerindo que estas alterações estão primariamente relacionadas com as condições de carga (WIESHAMMER et al., 1988).

A técnica de ecocardiografia é uma ferramenta útil e não-invasiva na avaliação cardíaca de camundongos e ratos (WILLIAMS et al., 1998). Parâmetros de dimensões atriais e ventriculares, e da performance cardíaca, permitem estudos longitudinais de processos patológicos, como a persistência do ducto arterioso e da disfunção tireoidiana (SLAMA et al., 2005; BROWN et cols, 2002). O emprego desta técnica em animais de experimentação submetidos ao hipotireoidismo crônico fornece informações a respeito da fisiopatologia desta doença. Estudos com ratos tratados com propiltiuracil durante 6 semanas ou 1 ano promoveram a redução nos níveis de  $T_3$  em aproximadamente 30% em ambos os grupos (TANG et al., 2005). Nestes animais foi medido, mediante ecocardiografia, o diâmetro interno da parede ventricular, a espessura da parede ventricular anterior, espessura da parede posterior todos durante a sístole e diástole, e as frações de ejeção e de encurtamento. Parâmetros físicos (massa corpórea e cardíaca), frequência cardíaca, fluxo sangüíneo coronariano, comprimento de miócitos e morfologia

arteriolar também foram mensurados. Ambos os grupos de animais com hipotireoidismo apresentaram aumento no diâmetro interno dos ventrículos, tanto na sístole como na diástole, redução da espessura da parede ventricular posterior na sístole e diástole, redução da fração de ejeção e da fração de encurtamento. A relação massa cardíaca/peso corpóreo foi reduzida em aproximadamente 20%. Além destas alterações ecocardiográficas, em ambos os grupos ocorreu redução da frequência cardíaca e da pressão intraventricular durante a sístole, mas não na pressão diastólica final. O comprimento dos miócitos foi aumentado em 18% no grupo de animais submetidos ao hipotireoidismo por um ano. O fluxo sanguíneo coronariano por unidade de massa ventricular, bem como a densidade arteriolar, foram reduzidos em aproximadamente 50% nos animais submetidos ao hipotireoidismo. Estes dados sugerem que o hipotireoidismo se constitui em causa primária e/ou fator de risco para o desenvolvimento da insuficiência cardíaca (TANG et al., 2005; KAHALY & DILLMANN, 2005).

O tempo de relaxamento isovolumétrico é definido como o intervalo de tempo que se inicia a partir do fechamento da valva aórtica (estando a valva atrioventricular esquerda fechada), pois a pressão intraventricular é menor do que a existente na raiz da aorta, mas superior à atrial esquerda, até que a valva atrioventricular esquerda se abra, como conseqüência do aumento da pressão atrial esquerda e redução da pressão intraventricular esquerda. Neste intervalo de tempo a concentração intracelular de cálcio deve ser reduzida de cerca de  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  para  $10^{-7}$  em aproximadamente 100 milissegundos (para uma frequência cardíaca de 70 por minuto). A recaptação de íons cálcio pela SERCA2 do RS ocorre nesse período. A presença do fosfolambam e o seu grau de fosforilação regulam a atividade da SERCA2. O  $T_3$  regula ambos os genes transcricionais destas proteínas como também modifica as isoformas da Na/K ATPase e da densidade de canais de cálcio dependentes de voltagem (KLEIN & OJAMAA, 2001b). As alterações ecocardiográficas obtidas neste estudo podem ser explicadas por alterações neste sistema de homeostase do cálcio intracelular.

As alterações cardiovasculares verificadas no hipotireoidismo e no hipertireoidismo, assemelham-se às alterações observadas na redução e no aumento, respectivamente, do tônus simpático. Contudo, a influência do hormônio tireoidiano na sensibilidade adrenérgica é controversa (BILEZIKIAN & LOEB, 1983).

A ação das catecolaminas na função ventricular pode ser devido ao efeito inotrópico próprio e às ações periféricas que podem aumentar ou diminuir os fatores que influenciam a carga hemodinâmica (BRUTSAERT ET AL., 1980; FORFAR et al., 1982).

As ações não-genômicas foram evidenciadas pela primeira vez em seres humanos eutireóides quando se administrou  $T_3$  a estes indivíduos. Nestes, ocorreu aumento significativo do débito cardíaco, por aumento da frequência e da contratilidade miocárdica, e diminuição da resistência vascular periférica promovendo vasodilatação, além de apresentar aumento na relação baixa frequência cardíaca/alta frequência cardíaca, sugerindo aumento na atividade simpática (SCHMIDT et al., 2002). Como estas alterações, provocadas pelo  $T_3$ , ocorreram em poucos minutos após a administração deste hormônio, os autores acreditam que estes efeitos não são decorrentes de sua atividade genômica.

Bilezikian & Loeb (1983) revisaram os estudos sobre a influência do hormônio tireoidiano nos receptores  $\alpha$  e  $\beta$  adrenérgicos e a menor sensibilidade adrenérgica de animais com hipotireoidismo. Verificaram que o hormônio tireoideano induz mudanças no número de receptores adrenérgicos quantificados, a partir da atividade da adenilciclase. No coração do rato hipotireóidico tem sido relatada diminuição de 30 a 40% do número e da sensibilidade dos receptores  $\beta$ .

Os receptores para catecolaminas pertencem à família de receptores da proteína G ligada ao receptor (GPCR). GRKs-proteína G ligada ao receptor quinase fosforilam à forma ativada do  $\beta$ -receptor adrenérgico, desempenhando papel importante na desentização e modulação destes receptores.

O sistema adrenérgico e os hormônios tireoidianos interagem fisiologicamente de maneira coordenada. Em vários sistemas os hormônios tireoidianos exacerbam a atividade dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos mediando ações das catecolaminas por aumento do acúmulo do AMPc, atuando em ambos os níveis receptor e pós-receptor, além de sobre-regular a transcrição dos efeitos do AMPc (BILEZIKIAN & LOEB, 1983). Penela et al. (2001) observaram aumento nos níveis de GRKs (proteína G ligada ao receptor quinase) no coração de rato hipotireóidico que poderia contribuir para a sensibilidade adrenérgica na função cardíaca.

No coração, o hormônio tireoidiano causa efeitos cardioestimulatórios que são similares à estimulação simpática mediada por catecolaminas via receptores  $\beta$ -

adrenérgicos. Os receptores  $\beta$ -adrenérgicos são essenciais para a modulação da atividade cardiovascular. A estimulação dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos pelas catecolaminas ativa a adenilciclase e resulta no aumento do AMPc intracelular. Os 3 receptores  $\beta$  são expressos nos miócitos cardíacos regulando os batimentos cardíacos, a contratilidade e a vasoatividade. O receptor  $\beta^1$  primariamente medeia o cronotropismo e inotropismo enquanto o  $\beta^2$  e  $\beta^3$  regulam o tônus vascular e a taxa metabólica. Bachman et al. (2004) formularam a hipótese de que o hormônio tireoidiano e receptores  $\beta$  operam independente do excesso de hormônio, mostrando que os efeitos do excesso de  $T_3$  na função cardíaca persiste apesar da ausência de receptores  $\beta$ .

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que o hormônio tireoidiano afeta o desempenho cardíaco e o sistema vascular através de mecanismos genômicos (resultantes da interação com receptores nucleares nos miócitos cardíacos) e não-genômicos (extranucleares), (TEI et al., 1997; KAHALY & DILLMANN, 2005) influenciando os batimentos cardíacos, função sistólica e diastólica e a resistência vascular periférica, e conseqüentemente o desempenho cardíaco (BIONDI et al., 2002; KLEIN & OJAMAA, 2001b; FAZIO et al., 2004).

Neste trabalho não foram observadas alterações significativas no valor de pressão arterial do grupo de animais com hipotireoidismo, provavelmente porque estes animais, tendo tido uma redução do débito cardíaco, apresentaram um aumento da resistência vascular periférica total.

Assim, a redução da velocidade máxima de relaxamento encontrada nas preparações isoladas de músculo papilar de animais com hipotireoidismo e do tempo de contração e de relaxamento isovolumétricos, verificados por ecocardiografia, aliados a uma redução do débito cardíaco (por redução da frequência cardíaca de sua contratilidade e redução da distensibilidade ventricular), são decorrentes de complexas alterações na homeostasia do cálcio intracelular e transsarcolemal. Este estudo demonstra também que o modelo de hipotireoidismo em ratos, aliado às técnicas de ecocardiografia e de tecidos isolados para seu estudo, pode ser muito útil para o entendimento da fisiopatologia a curto e longo prazo desta disfunção tireoidiana.



## 6 CONCLUSÕES

Neste estudo as avaliações eco e eletrocardiográfica de ratos hipotireóides demonstraram que esta disfunção tireoidiana promove cronotropismo, inotropismo e lusitropismo negativo, além do aumento da resistência vascular periférica total. Em papilares isolados eletricamente estimulados, não foram observadas alterações na força máxima, na velocidade máxima de desenvolvimento de força, na potenciação pós-pausa ou na relação força versus concentração extracelular de íon cálcio. Contudo a velocidade máxima de relaxamento foi reduzida. Estes dados sugerem que no hipotireoidismo fatores endógenos contribuem para as alterações cardiovasculares observadas.

## 7 APÊNDICE

TABELA 7 - VALORES DA PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO E GRUPO CONTROLE (mmHg)

	Controle n=9			Hipo N=14		
	PS	PD	PM	PS	PD	PM
	103	83	89	100	44	62
	103	80	87	72	54	59
	121	100	107	89	78	81
	88	77	80	156	132	140
	62	52	55			71
		X	122	100	35	57
	100	78	85			131
		X	100			62
		X	116			100
						82
						100
						71
						100
						100
Média	94,8	78,33	93,44	103,4	68,6	96,85
Desvio Padrão	19,59	14,07	20,43	31,55	39,57	26,2

NOTA: PS=pressão sistólica, PD=pressão diastólica, PM=pressão média.

TABELA 8 - TABELA DOS TEMPOS DE ATIVAÇÃO, RELAXAMENTO, DE ATIVAÇÃO MÉDIA E TEMPO GASTO PARA O RELAXAMENTO NO CONTROLE (unidade – mseg)

Controle	T Ativação	T Relax	Início Ativ	T Gasto R
1	0,43	0,56	0,18	0,22
2	0,4	0,6	0,2	0,16
3	0,42	0,57	0,14	0,14
4	0,38	0,61	0,16	0,18
5	0,31	0,68	0,1	0,2
6	0,45	0,55	0,15	0,13
7	0,41	0,58	0,12	0,14
8	0,36	0,64	0,16	0,18
9	0,36	0,63	0,1	0,13
10	0,35	0,64	0,1	0,22
Média + EP	0,387	0,606	0,141	0,17

TABELA 9 - TABELA DOS TEMPOS DE ATIVAÇÃO, RELAXAMENTO, DE ATIVAÇÃO MÉDIA E TEMPO GASTO PARA O RELAXAMENTO NO HIPOTIREOIDISMO (mseg)

Hipo	T Ativação	T Relax	Início Ativ	T Gasto R
1	0,4	0,6	0,16	0,2
2	0,4	0,59	0,18	0,23
3	0,4	0,6	0,16	0,2
4	0,35	0,64	0,14	0,19
5	0,37	0,62	0,17	0,18
6	0,35	0,65	0,15	0,19
7	0,34	0,65	0,1	0,18
8	0,31	0,68	0,1	0,19
9	0,37	0,62	0,2	0,22
10	0,28	0,71	0,14	0,2
Média + EP	0,357	0,636	0,15	0,198

TABELA 10- VALORES DE PERFORMANCE CARDÍACA DE ANIMAIS  
CONTROLE OBTIDOS POR ECOCARDIOGRAFIA

	ADC	ASC	FEC	Onda EC	OndaAC	TDC	TSC	FCC	TDC	VDC	VSC	TRIVC	DSC	DCC
	0,95	0,66	44,56	689,66	361,00	107,33	82,00	300,00	143,00	0,51	0,28	29,00	0,23	68,50
	0,90	0,57	52,16	881,33	575,00	115,33	97,66	204,00	175,66	0,45	0,22	30,00	0,24	48,35
	0,87	0,52	58,80	1066,66		107,66	73,33	299,00	86,33	0,44	0,18	26,67	0,26	77,84
	0,09	0,55	57,50	633,33	409,66	111,33	85,66	274,00	100,66	0,44	0,19	24,33	0,25	68,39
	1,05	0,64	51,52	765,66	451,33	120,00	99,00	242,00	187,00	0,60	0,29	27,00	0,31	74,66
	1,05	0,61	56,20	627,66		136,66	97,00	239,00	126,33	0,61	0,27	39,00	0,34	82,38
	0,83	0,52	52,40	789,66	452,00	109,00	83,00	156,00	155,00	0,39	0,19	27,00	0,20	31,88
	1,00	0,66	48,43	776,66	436,00	120,00	93,00	240,00	171,00	0,55	0,28	24,33	0,27	64,40
	0,99	0,58	55,76	637,00		125,33	85,66	232,00	127,00	0,54	0,24	28,00	0,30	69,44
Média	0,86	0,59	53,04	763,07	447,50	116,96	88,48	242,89	141,33	0,50	0,24	28,37	0,27	65,09
Erro padrão	0,10	0,02	1,52	47,65	29,06	3,24	2,90	15,18	11,45	0,03	0,01	1,47	0,01	5,24

NOTAS: AD=área diastólica; AS=área sistólica; FE=fração de ejeção; TDT=tempo diastólico total; TS=tempo sistólico; FC=frequência cardíaca; TD=tempo diastólico; VD=volume diastólico; VS=volume sistólico; TRIV=tempo de relaxamento isovolumétrico; DS=débito sistólico; DC=débito cardíaco.

TABELA 11- VALORES DE PERFORMANCE CARDÍACA DE ANIMAIS COM HIPOTIREOIDISMO OBTIDOS POR ECOCARDIOGRAFIA

	ADH	ASH	FEH	Onda E	Onda A	TDH	TSH	FCH	TDH	VDH	VSH	TRIVH	DSH	DCH
	0,80	0,58	36,50	725,66		234,33	149,00	203,00	148,00	0,39	0,25	52,00	0,14	28,76
	0,84	0,55	46,20	602,00	382,00	225,66	154,66	202,00	165,00	0,41	0,22	55,00	0,19	38,04
	0,88	0,58	45,30	839,33		197,66	158,00	235,00	144,66	0,44	0,24	52,00	0,20	46,69
	0,95	0,66	44,76	591,66	391,66	250,00	164,66	165,00	139,66	0,50	0,27	53,00	0,23	38,61
	0,88	0,65	36,73	610,00	447,66	242,33	167,66	197,00	157,33	0,46	0,29	60,00	0,17	33,16
	0,84	0,58	43,56	561,33	369,33	292,00	184,33		212,00	0,42	0,24	95,60	0,18	
	1,04	0,74	38,63	436,66	158,33	213,33	129,00	198,00	194,66	0,63	0,39	63,00	0,25	48,97
	0,96	0,62	51,23	664,33	429,33	201,00	133,33	205,00		0,52	0,25	51,00	0,27	54,33
	1,00	0,70	42,96	776,00	142,00	250,00	161,33	178,00	203,66	0,54	0,31	73,00	0,23	41,35
	1,02	0,67	47,56	715,66	275,66	238,66	148,00	183,00	208,00	0,57	0,30	65,30	0,27	49,23
Média	0,92	0,63	43,34	652,26	324,50	234,50	155,00	196,22	174,77	0,49	0,28	61,99	0,21	42,13
Erro Padrão	0,03	0,02	1,52	36,91	42,11	8,74	5,16	6,61	9,84	0,02	0,02	4,37	0,01	2,78

TABELA 12- VALORES DE DF/DT CÁLCIO EXTERNO = 10 mM EXPRESSOS EM g/seg

		Hipotireoidismo		Controle	
		Contração	Relaxamento	Contração	Relaxamento
	1	0,52	1,32	1	1,43
	2	1	0,56	0,62	1,5
	3	1,3	0,6	0,65	1,62
	4	1,12	1,32	0,85	1,4
	5	0,87	1	0,55	1,5
	6	0,9	1,12	0,56	1,37
Média	3,5000	0,9517	0,9867	0,7050	1,4700
Erro Padrão	0,7638	0,1077	0,1380	0,0738	0,0369

TABELA 13 - VALORES DE DF/DT CÁLCIO EXTERNO = 2 mM EXPRESSOS EM g/seg

	Hipotireoidismo		Controle	
	Contração	Relaxamento	Contração	Relaxamento
1	0,75	0,68	0,81	1
2	0,91	0,41	0,81	1,3
3	0,81	0,68	0,5	1
4	0,6	0,68	0,5	1
5	0,7	0,75	0,93	1,25
6	0,62	0,42	0,62	0,56
t=	0,685	0,007		
Média	0,7317	0,6033	0,6950	1,0183
Mediana	0,7250	0,6800	0,7150	1,0000
Desvio Padrão	0,1175	0,1484	0,1807	0,2623
Erro Padrão	0,0480	0,0606	0,0738	0,1071

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arai, M., Otsu, K., MacLennan, D. H., Alpert, N. R., & Periasamy, M. (1991). Effect of Thyroid-Hormone on the Expression of Messenger-Rna Encoding Sarcoplasmic-Reticulum Proteins. **Circulation Research** 69, 266-276.

Arinc, H., Gunduz, H., Tamer, A., Seyfeli, E., Kanat, M., Ozhan, H., Akdemir, R., Celebi, H., & Uyan, C. (2006). Evaluation of right ventricular function in patients with thyroid dysfunction. **Cardiology** 105, 89-94.

Avkiran, M. (1999). Rational basis for use of sodium-hydrogen exchange inhibitors in myocardial ischemia. **American Journal of Cardiology** 83, 10G-17G.

Bachman, E. S., Hampton, T. G., Dhillon, H., Amende, I., Wang, J. F., Morgan, J. P., & Hollenberg, A. N. (2004). The metabolic and cardiovascular effects of hyperthyroidism are largely independent of beta-adrenergic stimulation. **Endocrinology** 145, 2767-2774.

Berne, M.R.; Levy M.N.; Koeppen, B.M.; Stanton, B.A. In **Fisiologia**, 2004. 415-433.

Bergh, J. J., Lin, H. Y., Lansing, L., Mohamed, S. N., Davis, F. B., Mousa, S., & Davis, P. J. (2005). Integrin alpha(v)beta(3) contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis. **Endocrinology** 146, 2864-2871.

Bilezikian, J. P. & Loeb, J. N. (1983). The Influence of Hyperthyroidism and Hypothyroidism on Alpha-Adrenergic and Beta-Adrenergic-Receptor Systems and Adrenergic Responsiveness. **Endocrine Reviews** 4, 378-388.

Bing, O. H. L., Hague, N. L., Perreault, C. L., Conrad, C. H., Brooks, W. W., & Morgan, J. P. (1994). Thyroid-Hormone Effects on Intracellular Calcium and Inotropic Responses of Rat Ventricular Myocardium. **American Journal of Physiology** 267, H1112-H1121.

Biondi, B., Fazio, S., Palmieri, E. A., Carella, C., Panza, N., Cittadini, A., Bone, F., Lombardi, G., & Sacca, L. (1999). Left ventricular diastolic dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 84, 2064-2067.

Biondi, B. & Klein, I. (2004). Hypothyroidism as a risk factor for cardiovascular disease. **Endocrine** 24, 1-13.



Biondi, B., Palmieri, E. A., Lombardi, G., & Fazio, S. (2002). Effects of thyroid hormone on cardiac function: The relative importance of heart rate, loading conditions, and myocardial contractility in the regulation of cardiac performance in human hyperthyroidism. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 87, 968-974.

Birk, E., Tyndall, M. R., Erickson, L. C., Rudolph, A. M., & Roberts, J. M. (1992). Effects of Thyroid-Hormone on Myocardial Adrenergic Beta-Receptor Responsiveness and Function During Late Gestation. **Pediatric Research** 31, 468-473.

Bluhm, W. F., Kranias, E. G., Dillmann, W. H., & Meyer, M. (2000). Phospholamban: a major determinant of the cardiac force-frequency relationship. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology** 278, H249-H255.

Boelaert, K. & Franklyn, J. A. (2005). Thyroid hormone in health and disease. **Journal of Endocrinology** 187, 1-15.

Boerth, S. R. & Artman, M. (1996). Thyroid hormone regulates Na<sup>+</sup>- Ca<sup>2+</sup> exchanger expression during postnatal maturation and in adult rabbit ventricular myocardium. **Cardiovascular Research** 31, E145-E152.

Bosch, R. F., Wang, Z. G., Li, G. R., & Nattel, S. (1999). Electrophysiological mechanisms by which hypothyroidism delays repolarization in guinea pig hearts. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology** 277, H211-H220.

Brent, G. A. (1994). The Molecular-Basis of Thyroid-Hormone Action. **New England Journal of Medicine** 331, 847-853.

Brown, L.; Fenning, A.; Chan, V.; Loch, D.; Wilson, K.; Anderson, B.; Burstow, D.; Echocardiographic Assesment of Cardiac Structure and Function in Rats. **Heart, Lung and Circulation** 2002; 11:167-173.

Brutsaert, D. L., Housmans, P. R., & Goethals, M. A. (1980). Dual Control of Relaxation - Its Role in the Ventricular-Function in the Mammalian Heart. **Circulation Research** 47, 637-652.

Cappola, A. R., Fried, L. P., Arnold, A. M., Danese, M. D., Kuller, L. H., Burke, G. L., Tracy, R. P., & Ladenson, P. W. (2006). Thyroid status, cardiovascular risk, and mortality in older adults. **Jama-Journal of the American Medical Association** 295, 1033-1041.

Carvalho, T.M. de; Pimentel, H.; Carvalho, PM. **Dados Estatísticos 2002/2003**. Disponível em: <[www.sbtn.org.br](http://www.sbtn.org.br)> Acesso em: 12 out. 2007

Cherniske, E. M., Carpenter, T. O., Klaiman, C., Young, E., Bregman, J., Insogna, K., Schultz, R. T., & Pober, B. R. (2004). Multisystem study of 20 older adults with Williams syndrome. **American Journal of Medical Genetics Part A** 131A, 255-264.

Corrêa Filho, H.R.; Vieira, J.B.F.; Silva, Y.SP.; Coelho, G.E., Cavalcante, F.C.; Pereira, M.P.L.; Inquérito sobre a prevalência de bócio endêmico no Brasil em escolares de 6 a 14 anos: 1994 a 1996. **Rev. Panam Salud Publica** 12(5), 2002. 317-328.

Costanzo, L.S. **Fisiologia**. In: Fisiologia Celular. 2.ed. El Sevier, 2002.

Danzi, S. & Klein, I. (2002). Thyroid hormone-regulated cardiac gene expression and cardiovascular disease. **Thyroid** 12, 467-472.

Davis, P. J. & Davis, F. B. (1993). Acute Cellular Actions of Thyroid-Hormone and Myocardial-Function. **Annals of Thoracic Surgery** 56, S16-S23.

Davis, P. J. & Davis, F. B. (2002). Nongenomic actions of thyroid hormone on the heart. **Thyroid** 12, 459-466.

Delmar, M., Ibarra, J., Davidenko, J., Lorente, P., & Jalife, J. (1991). Dynamics of the Background Outward Current of Single Guinea-Pig Ventricular Myocytes - Ionic Mechanisms of Hysteresis in Cardiac-Cells. **Circulation Research** 69, 1316-1326.

Dernellis, J. & Panaretou, M. (2002). Effects of thyroid replacement therapy on arterial blood pressure in patients with hypertension and hypothyroidism. **American Heart Journal** 143, 718-724.

Di Paola, R., Alagona, C., Pezzino, V., Mangiameli, S., & Regalbuto, C. (2004). Left ventricular function in acute hypothyroidism: a Doppler echocardiography study. **Italian Hearth Journal** 5, 857-863.

Dieckman, L. J. & Solaro, R. J. (1990). Effect of Thyroid Status on Thin-Filament  $Ca^{2+}$  Regulation and Expression of Troponin-I in Perinatal and Adult-Rat Hearts. **Circulation Research** 67, 344-351.

Diekman, M. J. M., Harms, M. P. M., Endert, E., Wieling, W., & Wiersinga, W. M. (2001). Endocrine factors related to changes in total peripheral vascular resistance after treatment of thyrotoxic and hypothyroid patients. **European Journal of Endocrinology** 144, 339-346.

Dillmann, W. H. (1990). Biochemical Basis of Thyroid-Hormone Action in the Heart. **American Journal of Medicine** 88, 626-630.

Dillmann, W. H. (2002). Cellular action of thyroid hormone on the heart. **Thyroid** 12, 447-452.

Dimeo, S., Piro, M. C., Venditti, P., & Deleo, T. (1995). Effect of Thyroid State on Cardiac Electrical-Activity of the Frog *Rana-Esculenta*. **General and Comparative Endocrinology** 100, 162-169.

Dimeo, S., Rosaroll, P. D., Piro, M. C., & Deleo, T. (1993). Electrophysiological Properties of Papillary-Muscle Fibers from Euthyroid and Hypothyroid Chick. **Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology** 105, 719-724.

Dimeo, S., Rosaroll, P. D., Piro, M. C., & Deleo, T. (1994). Electrophysiological Properties of the Hyperthyroid Rat-Heart. **Archives Internationales de Physiologie de Biochimie et de Biophysique** 102, 153-159.

Dimeo, S., Rosaroll, P. D., Venditti, P., Balestrieri, M., & Deleo, T. (1997a). Action potential configuration in heart papillary muscles from female rats in different thyroid states. **Archives of Physiology and Biochemistry** 105, 58-65.

Dimeo, S., Venditti, P., & Deleo, T. (1997b). Effect of iodothyronines on electrophysiological properties of rat papillary muscle fibres. **Hormone and Metabolic Research** 29, 225-230.

Dudley, S. C. & Baumgarten, C. M. (1993). Bursting of Cardiac Sodium-Channels After Acute Exposure to 3,5,3'-Triiodo-L-Thyronine. **Circulation Research** 73, 301-313.

Fazio, S., Palmieri, E. A., Lombardi, G., & Biondi, B. (2004). Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system. **Recent Progress in Hormone Research**, Vol 59 59, 31-50.

Fommei, E. & Iervasi, G. (2002). The role of thyroid hormone in blood pressure homeostasis: Evidence from short-term hypothyroidism in humans. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 87, 1996-2000.

Forfar, J. C., Muir, A. L., & Toft, A. D. (1982). Left-Ventricular Function in Hypothyroidism - Responses to Exercise and Beta-Adrenoceptor Blockade. **British Heart Journal** 48, 278-284.

Genuth, S. (2004). **The Thyroid Gland**. In Physiology, eds. Berne, R. M. & Levy, M. N., pp. 915-939. Elsevier Editora.

Giannattasio, C., Rivolta, M. R., Failla, M., Mangoni, A. A., Stella, M. L., & Mancia, G. (1997). Large and medium sized artery abnormalities in untreated and treated hypothyroidism. **European Heart Journal** 18, 1492-1498.

Gibson, L. M., Wendt, I. R., & Stephenson, D. G. (1992). Contractile Activation Properties of Ventricular Myocardium from Hypothyroid, Euthyroid and Juvenile Rats. **Pflugers Archiv-European Journal of Physiology** 422, 16-23.

Gloss, B., Trost, S. U., Bluhm, W. F., Swanson, E. A., Clark, R., Winkfein, R., Janzen, K. M., Giles, W., Chassande, O., Samarut, J., & Dillmann, W. H. (2001). Cardiac ion channel expression and contractile function in mice with deletion of thyroid hormone receptor alpha or beta. **Endocrinology** 142, 544-550.

Gordon, A. M., Homsher, E., & Regnier, M. (2000). Regulation of contraction in striated muscle. **Physiological Reviews** 80, 853-924.

Graf, H. **Atividade dos receptores nucleares dos hormônios tireoideanos e do ácido retinóico 9Cis em diferentes elementos responsivos do DNA**. 1-81. 2000. Dissertação. Universidade Federal do Paraná. 4-8-2000.

Greenspan, F. S. (1997). The thyroid gland. In **Basic & Clinical Endocrinology**, eds. Greenspan, F. & Strewler, G. J., pp. 192-262. Editora Appleton & Lange, London.

Grossmann, G., Wieshammer, S., Keck, F. S., Goller, V., Giesler, M., & Hombach, V. (1994). Doppler-Echocardiographic Evaluation of Left-Ventricular Diastolic Function in Acute Hypothyroidism. **Clinical Endocrinology** 40, 227-233.

Grupp, I. L., Subramaniam, A., Hewett, T. E., Robbins, J., & Grupp, G. (1993). Comparison of Normal, Hypodynamic, and Hyperdynamic Mouse Hearts Using Isolated Work-Performing Heart Preparations. **American Journal of Physiology** 265, H1401-H1410.

Gumieniak, O., Perlstein, T. S., Hopkins, P. N., Brown, N. J., Murphey, L. J., Jeunemaitre, X., Hollenberg, N. K., & Williams, G. H. (2004). Thyroid function and blood pressure homeostasis in euthyroid subjects. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 89, 3455-3461.

Hamdy, R. C. (2002). The thyroid gland: a brief historical perspective. **South Med J** 95, 471-473.

Harvey, C. B. & Williams, G. R. (2002). **Mechanism of thyroid hormone action**. *Thyroid* 12, 441-446.

Hiroi, Y., Kim, H. H., Ying, H., Furuya, F., Huang, Z. H., Simoncini, T., Noma, K., Ulek, K., Nguyen, N. H., Scanlan, T. S., Moskowitz, M. A., Cheng, S. Y., & Liao, J. K. (2006). Rapid nongenomic actions of thyroid hormone. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 103, 14104-14109.

Hoit, B. D., Houry, S. F., Kranias, E. G., Ball, N., & Walsh, R. A. (1995). In-Vivo Echocardiographic Detection of Enhanced Left-Ventricular Function in Gene-Targeted Mice with Phospholamban Deficiency. **Circulation Research** 77, 632-637.

Hoit, B. D., Khoury, S. F., Shao, Y. F., Gabel, M., Liggett, S. B., & Walsh, R. A. (1997). Effects of thyroid hormone on cardiac beta-adrenergic responsiveness in conscious baboons. **Circulation** 96, 592-598.

Incerpi, S. (2005). Thyroid hormones: Rapid reply by surface delivery only. **Endocrinology** 146, 2861-2863.

Incerpi, S., Luly, P., De Vito, P., & Farias, R. N. (1999). Short-term effects of thyroid hormones on the Na/H antiport in L-6 myoblasts: High molecular specificity for 3,3,5-triiodo-L-thyronine. **Endocrinology** 140, 683-689.

Jiang, M., Xu, A., Tokmakejian, S., & Narayanan, N. (2000). Thyroid hormone-induced overexpression of functional ryanodine receptors in the rabbit heart. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology** 278, H1429-H1438.

Kaasik, A., Minajeva, A., Paju, K., Eimre, M., & Seppet, E. K. (1997). Thyroid hormones Differentially affect sarcoplasmic reticulum function in rat atria and ventricles. **Molecular and Cellular Biochemistry** 176, 119-126.

Kahaly, G., Mohrkahaly, S., Beyer, J., & Meyer, J. (1995). Left-Ventricular Function Analyzed by Doppler and Echocardiographic Methods in Short-Term Hypothyroidism. **American Journal of Cardiology** 75, 645-648.

Kahaly, G. J. & Dillmann, W. H. (2005). Thyroid hormone action in the heart. **Endocrine Reviews** 26, 704-728.

Kiss, E., Brittsan, A. G., Edes, I., Grupp, I. L., Grupp, G., & Kranias, E. G. (1998). Thyroid hormone-induced alterations in phospholamban-deficient mouse hearts. **Circulation Research** 83, 608-613.

Kiss, E., Jakab, G., Kranias, E. G., & Edes, I. (1994). Thyroid Hormone-Induced Alterations in Phospholamban Protein Expression - Regulatory Effects on Sarcoplasmic-Reticulum Ca<sup>2+</sup> Transport and Myocardial Relaxation. **Circulation Research** 75, 245-251.

Klein, I. & Ojamaa, K. (2001a). Mechanisms of disease: Thyroid hormone and the cardiovascular system. **New England Journal of Medicine** 344, 501-509.

Klein, I. & Ojamaa, K. (2001b). Thyroid hormone - Targeting the vascular smooth muscle cell. **Circulation Research** 88, 260-261.

Koss, K. L. & Kranias, E. G. (1996). Phospholamban: A prominent regulator of myocardial contractility. **Circulation Research** 79, 1059-1063.

Larsen, P. R., Davies, T. F., Schlumberger, M. J., & Hay, I. D. (2003). Thyroid physiology & diagnostic evaluation of patients with thyroid disorders. In **Textbook of Endocrinology** pp. 331-373. Elsevier Science.

Light, P., Shimoni, Y., Harbison, S., Giles, W., & French, R. J. (1998). Hypothyroidism decreases the ATP sensitivity of K-ATP channels from rat heart. **Journal of Membrane Biology** 162, 217-223.

Ludwig, A., Zong, X. G., Jeglitsch, M., Hofmann, F., & Biel, M. (1998). A family of hyperpolarization-activated mammalian cation channels. **Nature** 393, 587-591.

Machackova, J., Barta, J., & Dhalla, N. S. (2005). Molecular defects in cardiac myofibrillar proteins due to thyroid hormone imbalance and diabetes. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology** 83, 1071-1091.

Mendonça, S. C. L.; Jorge, P. T. Estudo da Função Tireoideana em uma população com mais de 50 anos. **Arq. Bras. Endocrinol Metab** 2002, 46/5: 557-565.

Meyer, M., Bluhm, W. F., He, H. P., Post, S. R., Giordano, F. J., Lew, W. Y. W., & Dillmann, W. H. (1999). Phospholamban-to-SERCA2 ratio controls the force-frequency relationship. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology** 276, H779-H785.

Mill, J. G., Vassallo, D. V., & Leite, C. M. (1992). Mechanisms Underlying the Genesis of Postrest Contractions in Cardiac-Muscle. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 25, 399-408.

Monzani, F., Di Bello, V., Caraccio, N., Bertini, A., Giorgi, D., Giusti, C., & Ferrannini, E. (2001). Effect of levothyroxine on cardiac function and structure in subclinical hypothyroidism: A double blind, placebo-controlled study. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 86, 1110-1115.

Morkin, E. (1993). Regulation of Myosin Heavy-Chain Genes in the Heart. **Circulation** 87, 1451-1460.

Muntz, K. H. (1992). Autoradiographic Characterization of Beta-Adrenergic-Receptor Subtype in the Canine Conduction System. **Circulation Research** 71, 51-57.

Mylotte, K. M., Cody, V., Davis, P. J., Davis, F. B., Blas, S. D., & Schoenl, M. (1985). Milrinone and Thyroid-Hormone Stimulate Myocardial Membrane Ca-2+-Atpase Activity and Share Structural Homologies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 82, 7974-7978.

Nascimento, M. L.; Silva, P. C. A.; Simoni, G.; Lobo, G.; Souza, S. C. D. (1997). Resultados preliminares de um programa de detecção precoce para hipotireoidismo congênito. **Jornal de Pediatria** 73, 176-179.

Nesi-França, S.; Pereira, R. M.; Lara, F.; Pelacz, J. M.; Morizaki, T. M. Y.; Ditzel, E. C.; Bogusezowski, M. C. S.; Wittig, E. O.; Domingos, M. T.; Sandrini, R.; De Lacerda, J. (2005). Triagem neonatal para hipotireoidismo congênito (HC) no estado do Paraná: avaliação de 591 casos detectados em 14 anos. **Revista Médica de Minas Gerais** 15, 83.

Ohga, Y., Sakata, S., Takenaka, C., Abe, T., Tsuji, T., Taniguchi, S., & Takaki, M. (2002). Cardiac dysfunction in terms of left ventricular mechanical work and energetics in hypothyroid rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology** 283, H631-H641.

Ojamaa, K., Kenessey, A., & Klein, I. (2000). Thyroid hormone regulation of phospholamban phosphorylation in the rat heart. **Endocrinology** 141, 2139-2144.

Ojamaa, K., Klemperer, J. D., & Klein, I. (1996). Acute effects of thyroid hormone on vascular smooth muscle. **Thyroid** 6, 505-512.

Ozhan, H., Yazici, M., Albayrak, S., Erbilin, E., Bulur, S., Akdemir, R., & Uyan, C. (2005). Elastic properties of the ascending aorta and left ventricular function in patients with hypothyroidism. *Echocardiography-A Journal of Cardiovascular Ultrasound and Allied Techniques* 22, 649-656.

Park, K. W., Dai, H. B., Ojamaa, K., Lowenstein, E., Klein, I., & Sellke, F. W. (1997). The direct vasomotor effect of thyroid hormones on rat skeletal muscle resistance arteries. **Anesthesia and Analgesia** 85, 734-738.

Penela, P., Barradas, M., Alvarez-Dolado, M., Munoz, A., & Mayor, F. (2001). Effect of hypothyroidism on G protein-coupled receptor kinase 2 expression levels in rat liver, lung, and heart. **Endocrinology** 142, 987-991.

Pennock, G. D., Milavetz, J. J., Raya, T. E., Bahl, J. J., Goldman, S., & Morkin, E. (1994). Identification of Simple Substituted Phenols with Thyromimetic Activity - Cardiac Effects of 3,5-Diiodo-4-Hydroxyphenylpropionic Acid. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 268, 216-223.

Polikar, R., Burger, A. G., Scherrer, U., & Nicod, P. (1993). The Thyroid and the Heart. **Circulation** 87, 1435-1441.

Quesada, A., Sainz, J., Wangenstein, R., Rodriguez-Gomez, I., Vargas, F., & Osuna, A. (2002). Nitric oxide synthase activity in hyperthyroid and hypothyroid rats. **European Journal of Endocrinology** 147, 117-122.

Redwood, C.S.; Moolman-Smook, J.C.; Watkins, H. Properties of mutant contractile proteins that cause hypertrophic cardiomyopathy. **Cardiovascular Research** 1999 oct; 44(1) 20-26.

Rodgers, R. L., Black, S., Katz, S., & McNeill, J. H. (1986). Thyroidectomy of Shr - Effects on Ventricular Relaxation and on Sr Calcium-Uptake Activity. **American Journal of Physiology** 250, H861-H865.

Rodondi, N., Newman, A. B., Vittinghoff, E., de Rekeneire, N., Satterfield, S., Harris, T. B., & Bauer, D. C. (2005). Subclinical hypothyroidism and the risk of heart failure, other cardiovascular events, and death. **Archives of Internal Medicine** 165, 2460-2466.

Rohrer, D. & Dillmann, W. H. (1988). Thyroid-Hormone Markedly Increases the Messenger-Rna Coding for Sarcoplasmic-Reticulum  $Ca^{2+}$ -Atpase in the Rat-Heart. **Journal of Biological Chemistry** 263, 6941-6944.

Rohrer, D. K., Hartong, R., & Dillmann, W. H. (1991). Influence of Thyroid-Hormone and Retinoic Acid on Slow Sarcoplasmic-Reticulum  $Ca^{2+}$  ATPase and Myosin Heavy-Chain Alpha-Gene Expression in Cardiac Myocytes - Delineation of Cis-Active Dna Elements That Confer Responsiveness to Thyroid-Hormone But Not to Retinoic Acid. **Journal of Biological Chemistry** 266, 8638-8646.

Rosaroll, P. D., Dimeo, S., & Deleo, T. (1991). Effects of the Thyroid State on the Electrical-Properties of Rat Papillary-Muscle Fibers. **Pflugers Archiv-European Journal of Physiology** 419, R51.

Rosaroll, P. D., Venditti, P., Dimeo, S., & Deleo, T. (1996). Effect of cold exposure on electrophysiological properties of rat heart. **Experientia** 52, 577-582.

Rudinger, A., Mylotte, K. M., Davis, P. J., Davis, F. B., & Blas, S. D. (1984). Rabbit Myocardial Membrane  $Ca^{2+}$ -Adenosine Triphosphatase-Activity - Stimulation In Vitro by Thyroid-Hormone. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 229, 379-385.

Saito, I., Ito, K., & Saruta, T. (1983). Hypothyroidism As A Cause of Hypertension. **Hypertension** 5, 112-115.

Sala-Roca, J., Marti-Carbonell, M. A., Garau, A., Darbra, S., & Balada, F. (2002). Effects of dysthyroidism in plus maze and social interaction tests. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 72, 643-650.

Santoro, B., Liu, D. T., Yao, H., Bartsch, D., Kandel, E. R., Siegelbaum, S. A., & Tibbs, G. R. (1998). Identification of a gene encoding a hyperpolarization-activated pacemaker channel of brain. **Cell** 93, 717-729.

Sato, Y., Nakamura, R., Satoh, M., Fujishita, K., Mori, S., Ishida, S., Yamaguchi, T., Inoue, K., Nagao, T., & Ohno, Y. (2005). Thyroid hormone targets matrix Gla protein gene associated with vascular smooth muscle calcification. **Circulation Research** 97, 550-557.

Schmidt, B. M. W., Martin, N., Georgens, A. C., Tillmann, H. C., Feuring, M., Christ, M., & Wehling, M. (2002). Nongenomic cardiovascular effects of triiodothyronine in euthyroid male volunteers. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 87, 1681-1686.

Segal, J. (1990). Calcium Is the 1st Messenger for the Action of Thyroid-Hormone at the Level of the Plasma-Membrane - 1st Evidence for An Acute Effect of Thyroid-Hormone on Calcium-Uptake in the Heart. **Endocrinology** 126, 2693-2702.

Sharp, N. A., Neel, D. S., & Parsons, R. L. (1985). Influence of Thyroid-Hormone Levels on the Electrical and Mechanical-Properties of Rabbit Papillary-Muscle. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology** 17, 119-132.

Shenoy, R., Klein, I., & Ojamaa, K. (2001). Differential regulation of SR calcium transporters by thyroid hormone in rat atria and ventricles. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology** 281, H1690-H1696.



Slama, M., Ahn, J., Peltier, M., Maizel, J., Chemla, D., Varagic, J., Susic, D., Tribouilloy, C., & Frohlich, E. D. (2005). Validation of echocardiographic and Doppler indexes of left ventricular relaxation in adult hypertensive and normotensive rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology** 289, H1131-H1136.

Snow, T. R., Deal, M. T., Connelly, T. S., Yokoyama, Y., & Novitzky, D. (1992). Acute Inotropic Response of Rabbit Papillary-Muscle to Triiodothyronine. **Cardiology** 80, 112-117.

Streeten, D. H. P., Anderson, G. H., Howland, T., Chiang, R., & Smulyan, H. (1988). Effects of Thyroid-Function on Blood-Pressure - Recognition of Hypothyroid Hypertension. **Hypertension** 11, 78-83.

Suko, J. (1973). Calcium Pump of Cardiac Sarcoplasmic Reticulum - Functional Alterations at Different Levels of Thyroid State in Rabbits. **Journal of Physiology-London** 228, 563-582.

Sun, Z. Q., Ojamaa, K., Artman, M., Klein, I., & Coetzee, W. A. (2000a). Mechanism(s) underlying increased pacemaker activity of rat neonatal atrial myocytes thyroid hormone. **Biophysical Journal** 78, 224A.

Sun, Z. Q., Ojamaa, K., Coetzee, W. A., Artman, M., & Klein, I. (2000b). Effects of thyroid hormone on action potential and repolarizing currents in rat ventricular myocytes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism** 278, E302-E307.

Tang, Y. D., Kuzman, J. A., Said, S., Anderson, B. E., Wang, X. J., & Gerdes, A. M. (2005). Low thyroid function leads to cardiac atrophy with chamber dilatation, impaired myocardial blood flow, loss of arterioles, and severe systolic dysfunction. **Circulation** 112, 3122-3130.

Tei, C. New non-invasive index for combined systolic and diastolic ventricular function. **J. Cardiol.** 1995; 26:135-6.

Tei, C., Nishimura, R. A., Seward, J. B., & Tajik, A. J. (1997). Noninvasive Doppler-derived myocardial performance index: Correlation with simultaneous measurements of cardiac catheterization measurements. **Journal of the American Society of Echocardiography** 10, 169-178.

Turhan, S., Tulunay, C., Cin, M. O., Gursoy, A., Kilickap, M., Dincer, I., Candemir, B., Gullu, S., & Erol, C. (2006). Effects of thyroxine therapy on right ventricular systolic and diastolic function in patients with subclinical hypothyroidism: A study by pulsed wave tissue Doppler imaging. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 91, 3490-3493.

Valente, M., Desanto, C., Rosaroll, P. D., Dimaio, V., Dimeo, S., & Deleo, T. (1989). The Direct Effect of the Thyroid-Hormone on Cardiac Chronotropism. **Archives Internationales de Physiologie de Biochimie et de Biophysique** 97, 431-440.

Vanderpump, M. P. J., Tunbridge, W. M. G., French, J. M., Appleton, D., Bates, D., Clark, F., Evans, J. G., Hasan, D. M., Rodgers, H., Tunbridge, F., & Young, E. T. (1995). The Incidence of Thyroid-Disorders in the Community - A 20-Year Follow-Up of the Whickham Survey. **Clinical Endocrinology** 43, 55-68.

Vitale, G., Galderisi, M., Lupoli, G. A., Celentano, A., Pietropaolo, I., Parenti, N., De Divitiis, O., & Lupoli, G. (2002). Left ventricular myocardial impairment in subclinical hypothyroidism assessed by a new ultrasound tool: Pulsed tissue Doppler. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 87, 4350-4355.

Walsh, J. P., Bremner, A. P., Bulsara, M. K., O'Leary, P., Leedman, P. J., Feddema, P., & Michelangeli, V. (2005). Subclinical thyroid dysfunction as a risk factor for cardiovascular disease. **Archives of Internal Medicine** 165, 2467-2472.

Watras, J. M. (2004). Músculo. In **Fisiología**, eds. Berne, R. M., Levy, M. N., Koopen, B. M., & Staton, B. A., pp. 233-256. Elsevier.

Wegener, J. W., Lee, M., & Hofmann, F. (2003). Hypothyroidism does not affect the dihydropyridine sensitivity of precontracted murine uterus. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology** 81, 890-893.

Wieshammer, S., Keck, F. S., Waitzinger, J., Kohler, J., Adam, W., Stauch, M., & Pfeiffer, E. F. (1988). Left-Ventricular Function at Rest and During Exercise in Acute Hypothyroidism. **British Heart Journal** 60, 204-211.

Williams, G. R. (2000). Cloning and characterization of two novel thyroid hormone receptor beta isoforms. **Molecular and Cellular Biology** 20, 8329-8342.

Williams, R. V., Lorenz, J. N., Witt, S. A., Hellard, D. T., Khoury, P. R., & Kimball, T. R. (1998). End-systolic stress-velocity and pressure-dimension relationships by transthoracic echocardiography in mice. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology** 43, H1828-H1835.

Wolska, B. M., AveryhartFullard, V., Omachi, A., Stojanovic, M. O., Kallen, R. G., & Solaro, R. J. (1997). Changes in thyroid state affect pH(i) and Na-i(+) homeostasis in rat ventricular myocytes. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology** 29, 2653-2663.

Wyatt, H. L.; Heng, M.K.; Meerbaum, S. Cross-sectional echocardiography. II Analysis of mathematic models for quantifying volume of the famalin-fixed left ventricle. **Circulation**, 61:1119, 1980.

Yagi, N., Saeki, Y., Ishikawa, T., & Kurihara, S. (2001). Cross-bridge and calcium behavior in ferret papillary muscle in different thyroid states. **Japanese Journal of Physiology** 51, 319-326.

Yen, P. M. (2001). Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. **Physiological Reviews** 81, 1097-1142.

Zhang, J. S. & Lazar, M. A. (2000). The mechanism of action of thyroid hormones. **Annual Review of Physiology** 62, 439-466.

Zoncu, S., Pigliaru, F., Putzu, C., Pisano, L., Vargiu, S., Deidda, M., Mariotti, S., & Mercurio, G. (2005). Cardiac function in borderline hypothyroidism: a study by pulsed wave tissue Doppler imaging. **European Journal of Endocrinology** 152, 527-533.