

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**EFEITOS DO ACETATO DE METILPREDNISOLONA SOBRE A FUNÇÃO
CARDÍACA DE RATOS APÓS O INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO**

ALAN CHRISTHIAN BAHR

Porto Alegre

2018

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Ciências Básicas da Saúde
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia

**EFEITOS DO ACETATO DE METILPREDNISOLONA SOBRE A FUNÇÃO
CARDÍACA DE RATOS APÓS O INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO**

Alan Christian Bahr

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cavalheiro Schenkel

Dissertação Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:
Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas: Fisiologia

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a minha família, aos meus pais, e a minha irmã, pelo amor e pela ajuda em todos os momentos. Por toda a compreensão pelo tempo de distância em que tivemos que viver. Com certeza, não chegaria onde estou se não fosse o suporte de vocês.

Agradeço ao meu orientador Prof. Paulo Cavalheiro Schenkel, por todo empenho, apoio, e dedicação em suas orientações, agradeço imensamente a oportunidade de ser seu orientando, e por todo o conhecimento que me proporcionou. Sinto-me honrado em poder ter sido seu aluno.

À Prof^a Adriane Belló-Klein e Prof. Alex Sander Araujo pelo exemplo de pessoas sábias e pela dedicação que possuem aos componentes do Lab.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular (UFRGS) pelo esforço e dedicação a esse trabalho, em especial à Rayane Teixeira, Alexsandra Zimmer e Patrick Turck por toda parceria desenvolvida, sem vocês esse trabalho não teria sido realizado.

À Tânia Regina Fernandes, pela amizade, competência e dedicação com que atua em todos os trabalhos desenvolvidos no laboratório, incluindo este.

Agradeço a Cristiane Borré e Monica Wessner pela amizade que o mestrado nos proporcionou e por compartilharmos essa caminhada juntos, com muita tortura e diversão.

Agradeço ao meu amigo Taynan Luchi por toda parceria desenvolvida durante a realização deste trabalho, pelas madrugadas compartilhando o conhecimento e motivação para sempre realizar o melhor.

À banca que avalia essa dissertação, pelo interesse e tempo disponibilizado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Departamento de Fisiologia e à UFRGS, pelas oportunidades e estruturas disponíveis para realização deste trabalho.

Agradeço a Deus por trilhar meus caminhos.

EPÍGRAFE

**É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda que em vão que sentar-se, fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias frios em casa me esconder.
Prefiro ser feliz embora louco, que em conformidade de viver.**

Martin Luther King

RESUMO

Introdução: A inflamação e o estresse oxidativo estão associados à progressão do infarto agudo do miocárdio (IAM) para a insuficiência cardíaca (IC). Logo, o tratamento com metilprednisolona, um conhecido glicocorticoide com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, tem o potencial de mitigar a piora da função do ventrículo esquerdo após o IAM. Entretanto, a utilização de glicocorticoides após o IAM tem apresentado resultados contraditórios que podem ser decorrentes da maneira como são aplicados. **Objetivo:** Verificar a influência do período de administração de acetato de metilprednisolona sobre a função cardíaca de ratos após o infarto agudo do miocárdio. **Materiais e Métodos:** No experimento 1, foram utilizados 29 ratos Wistar machos divididos em 3 grupos: Sham (n=14), infartado tratado com salina logo após o IAM (IAM0 n=7) e infartado tratado 7 dias pós-IAM (IAM7 n=8). A função cardíaca foi avaliada 2 e 56 dias pós-IAM pelo exame de ecocardiografia. No experimento 2 foram utilizados 45 ratos Wistar machos divididos em 4 grupos: Sham (Sham, n=13); infartado (IAM, n=14); infartado e tratado com metilprednisolona no dia da indução do infarto (IAM+M0, n=7); infartado e tratado com metilprednisolona no 7º dia após a cirurgia (IAM+M7, n=7). A cirurgia do IAM foi realizada pela oclusão da artéria coronária descendente anterior esquerda. Uma dose única de acetato de metilprednisolona (40mg/kg,i.m.) foi aplicada nos animais dos grupos IAM+M. A função cardíaca foi avaliada pela ecocardiografia e pelo cateterismo ventricular 56 dias após a indução do infarto. Dados morfométricos e de estresse oxidativo do coração foram avaliados. No experimento 3, foram utilizados 16 ratos Wistar machos, sendo divididos em 2 grupos: grupo controle tratado com salina no dia 0 (C, n=5) e grupo tratado com acetato de metilprednisolona (40mg/kg. i.m.) no dia 0. A coleta de sangue ocorreu uma vez por semana durante oito semanas, para avaliação de parâmetros do soro. A função cardíaca foi avaliada pelo cateterismo ventricular 56 dias o início da administração farmacológica. Dados morfométricos e de estresse oxidativo do coração foram avaliados. **Parecer CEUA/UFRGS:** 30797. **Resultados:** Os grupos IAM e IAM+M0 e IAM+M7 apresentaram área de infarto de 50,4%, 54,8% e 55,1%, respectivamente. A fração de encurtamento e a mudança de área fracional do ventrículo esquerdo diminuíram

significativamente (37% e 39%) no grupo IAM em relação ao Sham. O tratamento iniciado no 7º dia promoveu um declínio adicional na mudança da área fracional (66%) quando comparado ao IAM. Tais parâmetros foram semelhantes entre os grupos IAM e IAM+M0. Observamos um aumento de 69% na pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) no grupo IAM quando comparado ao grupo Sham. O tratamento com acetato de metilprednisolona, independentemente do tempo de administração, foi capaz de atenuar a PDFVE apenas os grupos IAM e IAM+M7 apresentaram congestão pulmonar. Conclusão: Nossos resultados demonstram que o tratamento com metilprednisolona iniciado logo após o infarto agudo do miocárdio impede ou reverte o aumento da PDFVE e a congestão pulmonar. O tratamento realizado no 7º dia após o IAM também foi eficaz em atenuar a PDFVE, porém não reverteu a congestão pulmonar. Portanto, concluímos que o tratamento iniciado precocemente apresenta potencial em mitigar a transição do IAM para a insuficiência cardíaca.

Palavras-chave: Infarto Agudo do Miocárdio, Insuficiência Cardíaca, Metilprednisolona

ABSTRACT

Introduction: Inflammation and oxidative stress are associated with the progression of acute myocardial infarction (AMI) to heart failure (HF). Therefore, treatment with methylprednisolone, a known glucocorticoid with anti-inflammatory and antioxidant properties, has the potential to mitigate the worsening of left ventricular function after AMI. However, the use of glucocorticoids after AMI has presented contradictory results that may be due to the way they are applied. **Aim:** To verify the influence of the period of administration of methylprednisolone acetate on the cardiac function of rats after acute myocardial infarction. **Materials and Methods:** In the experiment 1, 29 male Wistar rats were divided into 3 groups: Sham (n = 14), infarcted treated with saline immediately after AMI (AMI0 n = 7) and infarcted treated 7 days after AMI (n = 8). Cardiac function was assessed 2 and 56 days post AMI by echocardiography. In the experiment 2, 45 male Wistar rats were divided into 4 groups: Sham (Sham, n = 13); infarcted (AMI, n = 14); infarcted and treated with methylprednisolone on the day of infarction induction (AMI+M0, n = 7); infarcted and treated with methylprednisolone on the 7th day after surgery (AMI+M7, n = 7). The AMI surgery was performed by occlusion of the left anterior descending coronary artery. A single dose of methylprednisolone acetate (40 mg / kg, i.m.) was applied to animals in the AMI-M groups. Cardiac function was assessed by echocardiography and ventricular catheterization 56 days after infarction induction. Morphometric and oxidative stress of the heart were evaluated. In the experiment 3, 16 male Wistar rats were divided into 2 groups: control group treated with saline at day 0 (C, n = 5) and group treated with methylprednisolone acetate (40mg / kg, im) at day 0. Blood collection occurred once a week for eight weeks for evaluation of serum parameters. Cardiac function was assessed by ventricular catheterization 56 days after initiation of pharmacological administration. Morphometric data and oxidative stress of the heart were evaluated. **CEUA / UFRGS opinion:** 30797. **Results:** The AMI and AMI+M0 and AMI+M7 groups presented an infarct area of 50.4%, 54.8% and 55.1%, respectively. The fraction of shortening and the change in fractional area of the left ventricle decreased significantly (37% and 39%) in the AMI group in relation to Sham. The treatment started on day 7 promoted an additional decline in the fractional area change (66%) when compared to AMI. These parameters were similar between the

AMI and AMI + M0 groups. We observed a 69% increase in left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) in the AMI group when compared to the Sham group. Treatment with methylprednisolone acetate, irrespective of the time of administration, was able to attenuate LVDEP only the AMI and AMI+M7 groups presented pulmonary congestion. Conclusion: Our results demonstrate that treatment with methylprednisolone initiated shortly after acute myocardial infarction prevents or reverses the increase in LVEDP and pulmonary congestion. Treatment on the 7th day after AMI was also effective in attenuating LVEDP, but did not reverse pulmonary congestion. Therefore, we conclude that the treatment started early has the potential to mitigate the transition from AMI to heart failure.

Keywords: Acute Myocardial Infarction, Heart Failure, Methylprednisolone

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH - Hormônio Adrenocorticotrópico
AHA - American Heart Association
AKT - Proteína Quinase B
ATD - Área Transversal na Diástole
ATS - Área Transversal na Sístole
AVC - Acidente Vascular Cerebral
CAT - Catalase
CK - Creatina Quinase
CRH – Hormônio Liberador de Corticotropina
CREAL - Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório
DC - Débito Cardíaco
DD - Diâmetro Diastólico
 dP/dT – Derivada Pressão/Volume
DS - Diâmetro Sistólico
DVCs - Doenças Cardiovasculares
EAO - Espécies Ativas de Oxigênio
ECG - Eletrocardiografia
EPPD – Espessura da Parede Posterior na Diástole
EPPS – Espessura da Parede Posterior na Sístole
ERK - Regulada por Sinal Extracelular
FC - Frequência Cardíaca
FE - Fração de Ejeção
FEnc - Fração de Encurtamento
GC - Glicocorticóide
GH - Hormônio do Crescimento
GLUT4 - Transportador de Glicose
GPx - Glutathione Peroxidase
GR - Glutathione Redutase
GSSG - Glutathione Oxidada
H₂O₂ - Peroxido de Hidrogênio
HC - Hipertrofia Cardíaca

IAM - Infarto Agudo do Miocárdio
IC - Insuficiência Cardíaca
ICBS - Instituto de Ciências Básicas da Saúde
IM - Índice de Massa
IMC - Índice de Massa Corporal
JNK - Quinase C-Jun N-Terminal
LPS - Lipopolissacarídeo
MMP - Metaloproteinases
MAF - Mudança da área fracional
MAPKs - Proteínas Quinases Ativadas por Mitógeno
NF- κ B - Fator Nuclear κ B
PNA - Peptídeo Natriurético Atrial
PDFVE - Pressão Diastólica Final do Ventrículo Esquerdo
PLB - Fosfolambam
PSVE - Pressão Sistólica do Ventrículo Esquerdo
O₂ - Oxigênio
QL - Quimioluminescência
PC - Peso Corporal
RC - Remodelamento Cardíaco
SERCA2a - Cálcio Atpase
SIM - Sistema de Informações sobre Mortalidade
SOD - Superóxido Dismutase
TBOOH - Hidróxido de Tert-Butil
TLR4 - Receptor Toll-Like 4
TNF- α - Fator de Necrose Tumoral
UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VD - Ventrículo Direito
VDF - Volume Diastólico Final
VE - Ventrículo Esquerdo
VSF - Volume Sistólico Final

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Características farmacológicas dos principais GC utilizados na prática clínica.

Tabela 2: Efeitos cardiovasculares dos glicocorticoides.

Tabela 3: Parâmetros obtidos durante a ecocardiografia para os diferentes grupos e tempos experimentais.

Tabela 4: Parâmetros ecocardiográficos obtidos 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

Tabela 5: Parâmetros hemodinâmicos obtidos pelo cateterismo do ventrículo esquerdo 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

Tabela 6: Análises morfométricas.

Tabela 7: Dados de estresse oxidativo em amostras de ventrículo esquerdo dos respectivos grupos experimentais.

Tabela 8: Dados da função cardíaca obtidos pelo cateterismo intraventricular 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

Tabela 9: Dados morfométricos.

Tabela 10: Dados de estresse oxidativo em amostras de ventrículo esquerdo dos respectivos grupos experimentais.

LISTA DE FIGURA

Figura 1: Ecocardiografia no modo M de Ratos Wistar não infartados realizado neste trabalho.

Figura 2: Ecocardiografia em modo M de Ratos Wistar infartados realizado neste trabalho.

Figura 3: Sequência de eventos desde a injúria isquêmica à insuficiência cardíaca.

Figura 4: Eixo hipotálamo-hipófise anterior para o controle da secreção de cortisol.

Figura 5: Mecanismo de ação dos glicocorticóides.

Figura 6: Desenho experimental realizado no experimento 1.

Figura 7: Desenho experimental realizado no experimento 2.

Figura 8: Desenho experimental realizado no experimento 3.

Figura 9: Área transversal na sístole obtidos na ecocardiografia 2 e 56 dias pós-IAM.

Figura 10: Volume sistólico final obtidos na ecocardiografia 2 e 56 dias pós-IAM.

Figura 11: Fração de ejeção obtido na ecocardiografia de 2 e 56 dias pós-IAM.

Figura 12: Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo obtido 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

Figura 13: Mudança da área fracional do ventrículo esquerdo obtido 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

Figura 14: Fração de ejeção do ventrículo esquerdo obtido 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

Figura 15: Mudança do peso corporal e ingestão alimentar em ratos controle e tratados com acetato de metilprednisolona.

Figura 16: Mudanças metabólicas em ratos tratados com acetato de metilprednisolona.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 17 |
| 1.1 Infarto Agudo do Miocárdio | 17 |
| 1.2 Estresse Oxidativo associado ao IAM | 26 |
| 1.3 Glicocorticóides (GC) | 28 |
| 2. HIPÓTESE | 35 |
| 3. OBJETIVOS | 36 |
| 3.1 Objetivo Geral | 36 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS GERAL | 37 |
| 4.1 Animais | 37 |
| 4.1.1 Cálculo Amostral | 37 |
| 4.1.2 Considerações Éticas | 37 |
| 4.1.3 Infarto Agudo do Miocárdio | 38 |
| 4.1.4 Tratamento com acetato de metilprednisolona | 38 |
| 4.1.5 Avaliação Funcional do Ventrículo Esquerdo | 39 |
| 4.1.6 Análise ecocardiográfica | 39 |
| 4.1.7 Análise das pressões intraventriculares | 40 |
| 4.1.8 Eutanásia e Análises Morfométrica | 40 |
| 4.1.9 Descarte de animais e resíduos químicos | 40 |
| 4.2 Experimento 1 | 41 |
| 4.2.1 Objetivos Específicos do Experimento 1 | 41 |
| 4.2.2 Materiais e Métodos Específicos do Experimento 1 | 41 |
| 4.2.3 Grupos Experimentais | 41 |
| 4.2.4 Protocolo Experimental | 42 |
| 4.2.5 Análise estatística | 42 |
| 4.3 Experimento 2 | 43 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.3.1 | Objetivos Específicos do Experimento 2 | 43 |
| 4.3.2 | Materiais e Métodos Específicos do Experimento 2 | 43 |
| 4.3.3 | Grupos Experimentais | 43 |
| 4.3.4 | Protocolo Experimental | 44 |
| 4.3.5 | Preparação dos Homogeneizados e Análises do Estado Redox do VE.. | 45 |
| 4.3.6 | Quantificação de Proteínas | 45 |
| 4.3.7 | Determinação da Peroxidação de Lipídios | 45 |
| 4.3.8 | Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)..... | 45 |
| 4.3.9 | Atividade da Catalase..... | 46 |
| 4.3.10 | Atividade da Glutathione Peroxidase (GPx) | 46 |
| 4.3.11 | Análise estatística | 47 |
| 4.4 | Experimento 3..... | 47 |
| 4.4.1 | Objetivos Específicos do Experimento 3 | 47 |
| 4.4.2 | Materiais e Métodos Específicos do Experimento 3 | 48 |
| 4.4.3 | Grupos Experimentais | 48 |
| 4.4.4 | Protocolo Experimental | 48 |
| 4.4.5 | Avaliação de parâmetros no soro e peso corporal | 49 |
| 4.4.6 | Análise do Estado Redox | 49 |
| 4.4.7 | Análise estatística | 49 |
| 5 | RESULTADOS..... | 50 |
| 5.1 | Experimento 1 | 50 |
| 5.1.1 | Dados Ecocardiográficos..... | 50 |
| 5.2 | Experimento 2 | 54 |
| 5.2.1 | Dados da função cardíaca obtidos pela ecocardiografia 56 dias após o infarto agudo do miocárdio..... | 54 |
| 5.2.2 | Dados da função cardíaca obtidos pelo cateterismo intraventricular 56 dias após o infarto agudo do miocárdio | 57 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 5.2.3 | Analises Morfométricas | 58 |
| 5.2.4 | Dados de Estresse Oxidativo no Ventrículo Esquerdo | 59 |
| 5.3 | Experimento 3 | 60 |
| 5.3.1 | Dados da função cardíaca obtidos pelo cateterismo intraventricular 56 dias após o infarto agudo do miocárdio | 60 |
| 5.3.2 | Analises Morfométricas | 61 |
| 5.3.3 | Dados de Estresse Oxidativo no Ventrículo Esquerdo | 63 |
| 5.3.4 | Alteração temporal da glicose, colesterol total, triglicerídeos, uréia e creatinina..... | 63 |
| 6. | DISCUSSÃO | 66 |
| 7. | CONCLUSÃO | 75 |
| 8. | PERSPECTIVA | 76 |
| 9. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 77 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Infarto Agudo do Miocárdio

As doenças cardiovasculares (DCVs) são a principal causa de morte no mundo. Estima-se que essas doenças foram responsáveis por 17,5 milhões de óbitos em 2012, dos quais 7,4 milhões e 6,7 milhões corresponderam à doença arterial coronariana e ao acidente vascular cerebral (AVC), respectivamente. Considerando a totalidade de mortes por DCVs, mais de três quartos ocorrem em países em desenvolvimento, como o Brasil (WHO, 2016).

As artérias coronárias exercem papel fundamental no funcionamento do coração por levarem sangue rico em nutrientes para o miocárdio (Mascherbauer, et al. 2017). Logo, a obstrução coronariana leva os cardiomiócitos ao sofrimento e pode leva-los rapidamente à necrose, processo conhecido como Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) (Frantz & Bauersachs, 2009; Hentschke, et al; 2017 Baracho, et al. 2017; Wang, et al. 2017). As principais causas de mortalidade nas primeiras horas pós-IAM são a parada cardiorrespiratória, fibrilação ventricular, angina instável e arritmias graves (Arquivos brasileiros de cardiologia, 2009; Carmo-Filho, et al. 2011; Arquivos brasileiros de cardiologia, 2000).

Embora a mortalidade pós-IAM tenha diminuído nas últimas décadas, um aumento significativo no número de pacientes acometidos com IAM tem sido relatado (Karbasi-Afshar, et al. 2013; Zamam & Koovor. 2014). Entre os anos de 1995 a 2003, foi registrado um aumento de 45,7% no número de internações por IAM (de 35.069 para 51.087) no Brasil. De acordo com informações do DATASUS, o Rio Grande do Sul foi o estado com maior número de óbitos por IAM no ano de 2010 (taxas de 65,93 internações e de 7,82 óbitos por 100 mil habitantes), seguido pelos estados de São Paulo (taxas de 7,33 óbitos e 55,12 internações por 100 mil habitantes) e Paraná (taxas de 6,41 óbitos e 48,02 internações por 100 mil habitantes) (Previdelli, 2013). Em 2013, o Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde apontou o IAM como a segunda principal causa de óbito no Brasil, sendo 85,9 mil mortes registradas (Azevedo, 2015). Já em 2014, segundo dados do DATASUS, cerca de 100 mil óbitos foram associados ao IAM.

A grande maioria dos indivíduos infartados sobrevivem ao insulto isquêmico e passarão por adaptações cardiovasculares que, dependendo do tempo, podem

evoluir para a insuficiência cardíaca (IC), essa é definida pela disfunção cardíaca que causa diminuição do suprimento sanguíneo para as demandas metabólicas dos tecidos (Pfeffer & Braunwald. 1990). Dados da *American Heart Association* (AHA) mostram uma incidência de 5,1 milhões de indivíduos com IC apenas nos Estados Unidos entre 2007 e 2012. Projeções futuras mostram que a prevalência de IC aumentará 46% entre 2012 e 2030, resultando em mais de 8 milhões de indivíduos com idade superior a 18 anos com IC. Em 2012, foram registradas 1.137.572 internações hospitalares no Brasil devido às doenças circulatórias, sendo aproximadamente 21% associadas a IC (Albuquerque, et al. 2015). Ou seja, 250 mil admissões hospitalares decorrentes da IC. Tais internações geram custos significativos e, com o aumento da expectativa de vida da população mundial, estima-se que chegarão a \$ 818 bilhões de dólares em 2030 (Xie, et al. 2013). Portanto, além da prevenção ao IAM, alternativas terapêuticas que visem mitigar a transição do IAM para a IC são de suma importância.

O IAM comumente acomete o ventrículo esquerdo (VE) e provoca uma disfunção contrátil (Phatharajaree, et al. 2007; Mascherbauer, et al. 2017). Alguns sinais e sintomas tais como a dor torácica ou do membro superior esquerdo, desconforto mandibular ou epigástrico, dispneia, diaforese, náuseas, fadiga ou síncope, combinados ou não, auxiliam no diagnóstico. A dor e o desconforto associados a um evento isquêmico podem ocorrer com esforço ou em repouso (Smith, et al. 2015). Além da anamnese, as principais ferramentas para o diagnóstico e acompanhamento da função cardíaca são o eletrocardiograma, o ecocardiograma e as medidas de pressão/volume do sistema cardiovascular pelo cateterismo.

O eletrocardiograma é considerado padrão ouro para o diagnóstico não invasivo das arritmias e distúrbios de condução, além de ser muito importante nos quadros isquêmicos coronarianos, constituindo-se em um marcador de doença do coração (Guimarães, et al. 2003). Essa ferramenta consolidou-se e ganhou ampla aceitação entre os médicos ao longo do tempo. Apesar de suas limitações, a eletrocardiografia constitui exame de baixo custo e muito útil na avaliação cardiológica de modo geral (Giffoni & Torre, 2010). As modificações eletrocardiográficas (ECG) estão entre os fatores que determinam o desfecho e o prognóstico a curto e longo prazo de pacientes com IAM (Karbasi-Afshar, et al. 2013). Entre essas modificações destacamos o desnivelamento do segmento ST, a

depressão desse segmento ST com elevação das ondas T indicam um sinal eletrocardiográfico precoce de IAM (Gorselen, et al. 2017). As alterações eletrocardiográficas em ratos infartados são evidentes logo após a oclusão coronariana, podendo permanecer inalterada por longo período depois disso (Smith, et al. 2015). A perda progressiva de miócitos e conseqüentemente sua substituição por tecido fibroso está ligado a diminuição no índice de amplitude do complexo QRS apresentado em ratos pós-IAM (Miranda, et al. 2007).

O ECG por si só é muitas vezes insuficiente para fazer o diagnóstico de um IAM (Smith, et al. 2015), desse modo, faz-se necessário o exame de ecocardiografia transtorácica. Esse fornece informações importantes sobre a função cardíaca, bem como sobre o processo de remodelamento ventricular e a viabilidade miocárdica (Esmailzadeh, Parsaee & Maleke. 2013). Dentre vários parâmetros ecocardiográficos, a estimativa da área lesada do miocárdio é bastante útil. Ela é mensurada pela análise do movimento da parede (hipocinesia e acinesia) em comparação com a parede que apresenta cinética normal (Esmailzadeh, Parsaee & Maleke. 2013). Outros achados ecocardiográficos clássicos da função do ventrículo esquerdo pós-IAM são: aumento dos diâmetros e das áreas dessa câmara, bem como diminuição da fração de ejeção (FE), da mudança de área fracional (MAF) e da fração de encurtamento (FEnc) (Figura 1 e 2) (Prastaro, et al. 2017; Hentschke, et al. 2017; Chen, et al. 2016). Dentre esses parâmetros, a FE é a mais utilizada como indicativa da função ventricular (Prastaro, et al. 2017). Em estudos com ratos foi possível observar uma redução da FE algumas horas depois da indução do IAM (Esmailzadeh, Parsaee & Maleke. 2013). Tal redução precoce da FE, também observada em grande parte dos indivíduos infartados (30 – 40%), pode tornar-se ainda mais significativa com o passar do tempo (Chen, et al. 2016; Sjoblom, et al. 2014). Um estudo avaliando ratos 28 dias após a indução do IAM demonstrou uma dilatação cardíaca associada com a redução significativa da FE, da mudança da área fracional e da fração de encurtamento (Esmailzadeh, Parsaee & Maleke. 2013; Chengode. 2016; Pfeffer, et al. 1979; Polegatto, et al. 2016; Chen, et al. 2016).

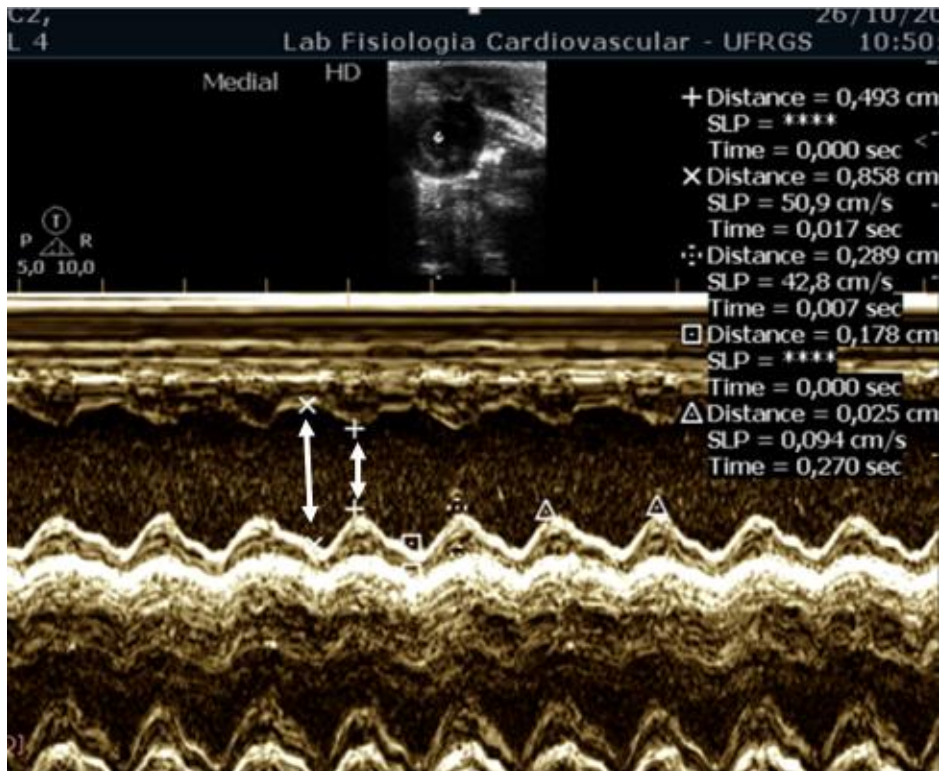


Figura 1: Ecocardiografia no modo M de Ratos Wistar não infartados realizado neste trabalho.

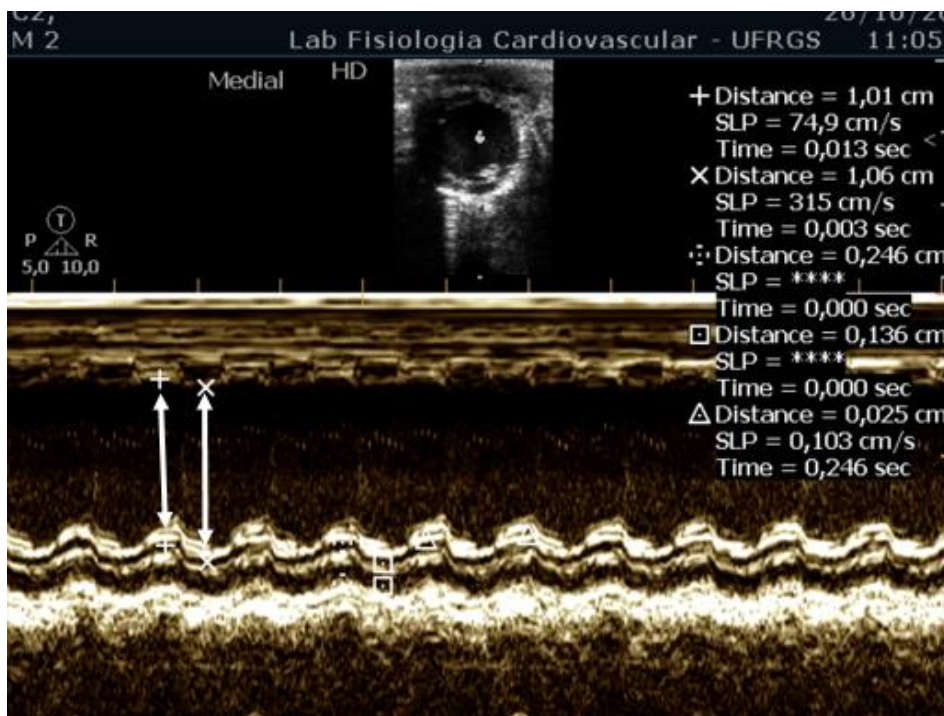


Figura 2: Ecocardiografia em modo M de Ratos Wistar infartados realizado neste trabalho.

Apesar de todos os parâmetros e benefícios oferecidos pela a ecocardiografia transtorácica, ela não possui a capacidade de analisar diretamente as pressões intraventriculares. Desse modo, para uma análise detalhada da função cardiovascular, faz-se necessário um exame de cateterismo cardíaco (Pacher, et al. 2008).

O cateterismo cardíaco é necessário para avaliar a gravidade da insuficiência hemodinâmica pós-IAM. Ele fornece dados sobre o sistema cardiovascular como, por exemplo, a resistência vascular, as pressões nas câmaras cardíacas, o débito cardíaco, etc (Movahed, et al. 2010; Fukuta, et al. 2017). Dentre outros parâmetros, as mensurações das pressões de enchimento, da pressão em cunha (pela a oclusão da artéria pulmonar) e da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) são fundamentais. Esses são parâmetros clássicos que, quando elevados, servem de alerta sobre um possível enchimento anormal e/ou alterações na própria câmara cardíaca (Hentschke, et al. 2017; Pacheco, et al. 2016; Singh. 1995; Pfeffer et al. 1999). O estudo de Pfeffer, et al. 1979 verificou uma forte correlação entre a PDFVE e a área infartada do VE, isso significa que grandes infartos podem levar a IC. Desse modo reforça ainda mais a utilização da PDFVE como um parâmetro indicativo de insuficiência cardíaca (Kienzle, et al. 2002; De Castro, et al. 2016; Schenkel, et al. 2012). Outros parâmetros obtidos no cateterismo são valiosos para a investigação da função cardiovascular. Dentre eles, as dP/dt máxima e mínima que consistem na mudança de pressão intraventricular ao longo do tempo. A diminuição da dP/dt máxima está relacionado com a redução do grau de força do ventrículo esquerdo (Okoshi & Tucci, 1996). Já a dP/dt mínima está relacionado ao volume diastólico final e a PDFVE. Portanto, a diminuição da dP/dt mínima está associado a um quadro de dilatação ventricular (Alves, et al. 2012). Tem sido relatado na literatura uma diminuição da dP/dt máxima, bem como um aumento da dP/dt mínima pós-IAM (Jeddi, et al. 2015). Essas alterações podem ser observadas precocemente 2 horas após a indução do IAM, assim com piora adicional com o decorrer do tempo (Teixeira, et al. 2017; Mitrega, et al. 2017; Wang, et al. 2016). Apesar do cateterismo cardíaco ser um procedimento valioso e relativamente seguro, é invasivo e pouco prático para se executar em pacientes para o qual ele não está claramente indicado. Além do mais, o uso de cateteres invasivos pode aumentar o risco de mortalidade em pacientes criticamente doentes (Esmailzadeh, Parsaee & Maleke. 2013).

Para melhor compreensão e elucidação das alterações cardíacas provenientes do IAM e sua transição para a IC, foram desenvolvidos modelos experimentais em diferentes animais. O modelo experimental de indução de IAM em ratos foi descrito inicialmente por Heimburger (1946), seguido por John & Olson (1954). Pfeffer e colaboradores (1979), além de aprimorarem a técnica cirúrgica de oclusão da artéria coronária descendente anterior em ratos, foram pioneiros em classificar o tamanho da área infartada e associá-la a função do ventrículo esquerdo. Eles classificaram a área infartada como pequena (4-30%), média (31-46%) ou grande (47-59%), sendo infartos superiores a 59% do ventrículo esquerdo incompatíveis com a vida (Pfeffer, et al. 1979). Esse trabalho foi um marco científico na área e serviu de base para seus sucessores aprofundarem a investigação dos mecanismos envolvidos no processo de Remodelamento Cardíaco (RC) pós-IAM, assim como na transição para a IC (De Castro, et al. 2015; Tavares, et al. 2012; Hill, et al. 2005; Pfeffer, et al. 1990; Vyden, et al. 1974).

A oclusão das artérias coronárias, principalmente quando essa induz lesões de grandes proporções, resulta em modificações estruturais cardíacas como, a degradação da rede de colágeno no local do infarto por aumento de MMP e a ação de citocinas pró-inflamatórias (Holmes, et al. 2005; Cahill & Kharbanda. 2017). Também podem ser observadas alterações bioquímicas pós-IAM como o aumento de Troponina no sangue (proteína liberada pelos cardiomiócitos quando esses sofrem danos irreversíveis) (Dous, Grigos & Grodman, 2017). Paralelamente ocorre o aumento da liberação de vasopressina, que possui ação vasoconstritora periférica e estimulação da síntese de proteínas nos miócitos ocasionando hipertrofia cardíaca, e consequentemente dilatação ventricular ao longo do tempo (Chan & Ng, 2010). Somado a isso, tem sido observada a maior liberação do peptídeo natriurético atrial (PNA), o qual provoca redução na resistência vascular sistêmica, como também diminuição na pressão venosa central, e aumento da natriurese (aumento da excreção de sódio na urina) (Khan, 2017). Modificações na atividade elétrica das regiões remanescente do coração infartado também podem ocorrer. De fato, alterações nos potenciais de ação das fibras de Purkinje, com redução dos potenciais de repouso e aumento no tempo de repolarização têm sido mostrados (Cutler, Jeyaraj & Rosenbaum, 2011; Pinto, 1999). Portanto, o RC envolve tanto a região infartada quanto a não infartada com alterações morfológicas, elétricas, bioquímicas,

genéticas, moleculares e celulares que ocorrem em resposta a determinadas lesões cardíacas. (Minicucci, et al. 2011; Singal, et al. 2000). Além do mais, essas adaptações ocorrem logo após o dano isquêmico e progridem por várias semanas (Reibis, et al. 2017).

Um dos principais determinantes do RC pós-IAM é o tamanho da lesão (Westman, et al. 2016). Embora o RC possa ser observado em corações acometidos com pequenos infartos (aproximadamente 20% do ventrículo esquerdo), esse é proeminente em grandes infartos (Frantz & Bauersachs, 2009; Zornoff, et al. 2009). Além disso, o tempo tem se mostrado outro determinante relevante no processo de RC. O remodelamento cardíaco inicia rapidamente, geralmente nas primeiras horas após um infarto, e continua com o passar do tempo (Cohn, et al. 2000). A curto prazo, o RC é um processo adaptativo aos aspectos funcionais (RC bem adaptado). Devido à morte de cardiomiócitos pós-IAM, o volume de ejeção do ventrículo esquerdo tende a tornar-se reduzido e, conseqüentemente, resulta no aumento dos volumes sistólico e diastólico finais dessa câmara (Cahill & Kharbanda. 2017; Reibis, et al. 2017). Embora fundamental para a manutenção da função de bomba do coração a curto prazo, essas adaptações acabam sobrecarregando os cardiomiócitos viáveis com o passar do tempo (RC mal adaptado) e, assim, degradando a função cardíaca. De fato, tem sido mostrado um aumento temporal da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, parâmetro clássico de insuficiência cardíaca, pós-IAM (Reibis, et al. 2017).

As alterações hemodinâmicas decorrentes do IAM parecem estar associadas com a maior formação de espécies ativas de oxigênio (EAO) e com a inflamação (Neri, et al. 2015; Parmeshwar, et al. 2017). A inflamação é desencadeada por lesão tecidual, e conseqüentemente medeia a cicatrização de feridas e afeta o remodelamento cardíaco (Westman, et al. 2016). Em casos de resposta inflamatória excessiva, como em quadros de isquemia, há o envolvimento de componentes da imunidade inata (Seropian, et al. 2014). Neste contexto ainda, podemos destacar o aumento da expressão do receptor toll-like 4 (TLR4) (uma molécula sinalizadora de substâncias pró inflamatórias) que está associado ao aumento da hipertrofia cardíaca em ratos, e posteriormente, dilatação ventricular (Parmeshwar, et al. 2017). Além dessa molécula sinalizadora, outras como, por exemplo o fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucinas 1 e 8 merecem destaque pois colaboram para a

ativação de Metaloproteinases (MMP) (Iyer, et al. 2016). As MMP são enzimas proteolíticas relacionadas com a degradação da matriz extracelular e com o remodelamento cardíaco (Phatharajaree, et al. 2007; Grzegorz, 2013; Cogni, et al. 2013). A primeira fonte de MMP pós-IAM são os neutrófilos que migram para a região lesada. Tal achado foi demonstrado por Iyer, et al. 2016 após 1 hora de oclusão coronariana seguida de 1 dia de reperfusão. Somado a isso, o aumento da liberação de citocinas inflamatórias pós-IAM promovem fibrose local e, conseqüentemente, levam à formação da cicatriz (Frantz & Bauersachs, 2009; Hori & Nishida. 2008). Apesar das experiências negativas com inibidores de citocinas inflamatórias em pesquisas anteriores, a resposta inflamatória permanece como um alvo potencial para intervenções terapêuticas (Azevedo, et al. 2016).

Evidências sugerem que alterações no sistema de transporte de cálcio ocorrem durante o processo de remodelamento cardíaco após o IAM. De fato, tem sido mostrada uma diminuição da oferta de cálcio aos cardiomiócitos durante a sístole, assim como um aumento de cálcio na diástole (Guo, et al. 2015). Dentre outras influências, isso ocorre devido a redução da expressão proteica da enzima cálcio ATPase (SERCA2a) e ao aumento da expressão proteica da Fosfolambam (PLB), proteínas responsáveis pela recaptção de cálcio do mioplasma. Portanto, esses achados sugerem que modificações nas proteínas responsáveis pelo trânsito de cálcio também podem contribuir para a transição do RC bem adaptado para o RC mal adaptado (insuficiência cardíaca) ao longo do tempo (Azevedo, et al. 2016).

A evolução para a IC pós-IAM é um desfecho comum e se caracteriza classicamente pelo aumento da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, congestão pulmonar e hipertrofia do ventrículo direito (VD) (Hentschke, et al. 2017; Pacheco, et al. 2016; Singh. 1995). Como já era de se esperar, estudo prévio do nosso grupo evidenciou uma dependência temporal para que os indicadores de IC passassem a ser observados com maior incidência após a indução do IAM (Hagen et al 2009; Schenkel et al. 2010). Sinais claros de IC não foram observados antes do 21º dia pós-IAM (Hagen et al 2009), tornando-se ainda mais evidentes a partir do 28º dia (Schenkel, et al. 2010)

A IC é uma síndrome clínica causada por defeitos estruturais e funcionais do miocárdio que resultam em alterações maléficas do enchimento e/ou da fração ejeção ventricular. A causa mais comum de IC é a redução da função diastólica do

ventrículo esquerdo (Goldraich, et al. 2010; Hogg, et al. 2004; Fontes-Carvalho & Leite, 2011). No entanto, a disfunção isolada ou concomitante do pericárdio, miocárdio, endocárdio, valvas cardíacas e/ou grandes vasos também pode estar envolvida. Alguns dos principais mecanismos patogênicos que conduzem à insuficiência cardíaca pós-IAM são: aumento da sobrecarga hemodinâmica, com disfunção relacionada à isquemia, remodelamento ventricular, estimulação neuro-humoral excessiva, utilização anormal de cálcio pelos cardiomiócitos, proliferação excessiva ou inadequada da matriz extracelular, apoptose acelerada e mutações genéticas (Fig. 3) (Inandar & Inandar, 2016; Singal, et al. 2000).

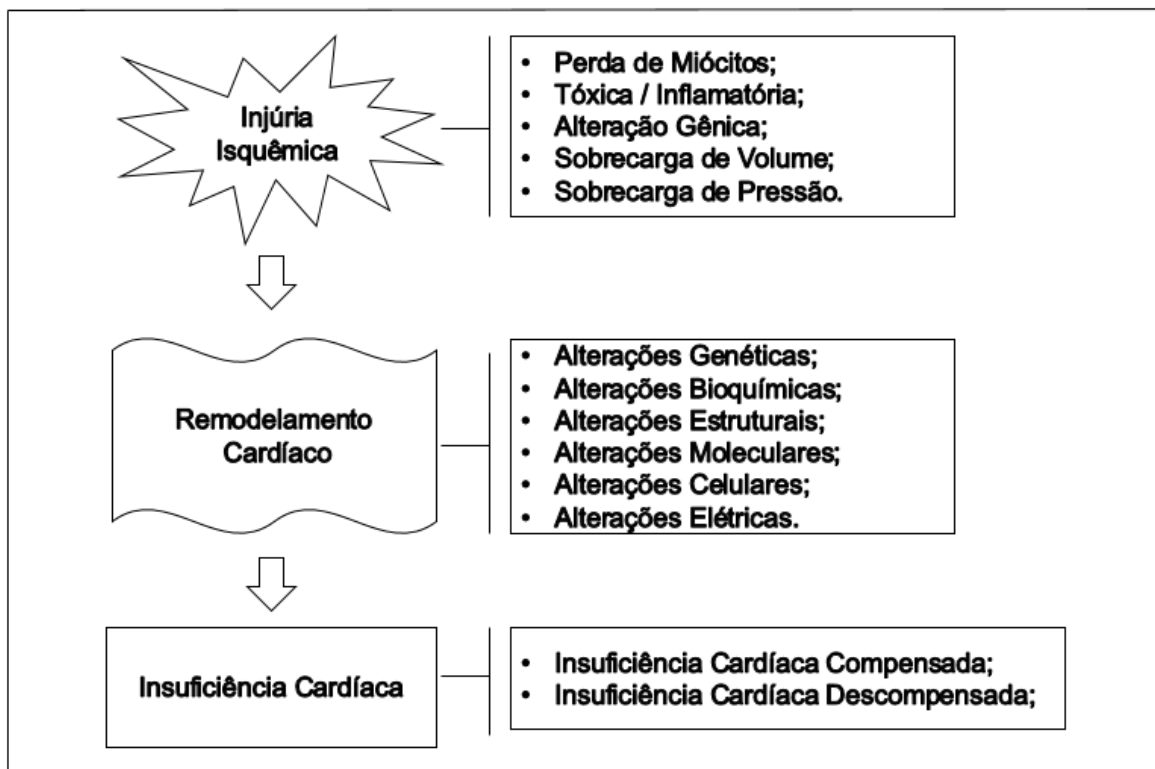


Figura: 3 Sequência de eventos desde a injúria isquêmica à insuficiência cardíaca.

Adaptado do estudo de Azevedo, et al. 2016.

Embora a incidência de novos casos de IAM tenha crescido nas últimas décadas, grande parte dos pacientes sobrevive à injúria aguda e necessitará de meios terapêuticos para retardar a transição para a IC (Gauí, Oliveira & Klan, 2014). Neste contexto, o controle do estado redox celular parece fundamental.

1.2 Estresse Oxidativo associado ao IAM

Os radicais livres são moléculas com um ou mais elétrons desemparelhados em seu último orbital, o que os torna muito instáveis e altamente reativos. Dessa forma, eles têm grande capacidade de ligar-se à outras moléculas integrantes da estrutura celular e seus derivados (Salvador & Henriques, 2004). A geração desses radicais livres ocorre normalmente, em baixos níveis, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citosol (Singh, et al. 1995). Suas funções biológicas são relevantes, constituindo por excelência um processo contínuo e fisiológico. No decorrer de um processo metabólico atuam como mediadores para transferência de elétrons, ocorrendo em diferentes reações bioquímicas.

O termo espécies reativas de oxigênio (EROs) é utilizado para incluir não apenas radicais livres de oxigênio, mas também alguns não radicais derivados de oxigênio (O_2) capazes de gerar radical livre como, por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Varvarousi, et al. 2014). A maior parte do oxigênio consumido é reduzido a dióxido de carbono e água nas mitocôndrias como resultado da geração de energia. Entretanto, aproximadamente 5% do oxigênio presente na mitocôndria não é reduzido completamente e acaba resultando na formação de EROs (Singer, 2013). As EROs podem ser produzidas por fontes endógenas ou exógenas. As principais fontes endógenas são: mitocôndria (metabolismo oxidativo), peroxissomos, citocromo P-450 e fagocitose. As principais fontes exógenas são: radiação UVA, cigarro, solventes orgânicos e paracetamol (Azevedo, et al. 2016; Salvador & Henriques, 2004). Independente da fonte, elas acabam danificando a fluidez e seletividade das membranas celulares, além de danificar funções nucleares, por oxidar fosfolípidios e proteínas da membrana (Kienzle, et al. 2002).

A produção contínua de EROs ativa um mecanismo de defesa antioxidante contra-regulatório (Singer, 2013). Ou seja, o sistema tenta ficar estável para que os danos estruturais sejam mínimos. Os antioxidantes estão presentes tanto no meio intracelular como no meio extracelular, sendo classificados em enzimáticos (glutathione peroxidase, catalase e superóxido dismutase) e não enzimáticos (vitamina A, vitamina E) (Singh, et al. 1995).

O desequilíbrio no estado redox, ou seja, o estresse oxidativo está relacionado com a diminuição dos níveis de enzimas antioxidantes, uma vasta produção de

EROs, ou uma combinação de ambas as condições (Salvador & Henriques, 2004). Ou seja, para se constituir uma condição normal de vida aeróbia é preciso ter um equilíbrio entre os antioxidantes e pró-oxidantes (Jones, 2006). Portanto, em estado de equilíbrio, os radicais livres formam-se para manter as condições fisiológicas (Llesuy, 2002). Por outro lado, um desequilíbrio associado ao aumento de pró-oxidantes desencadeia o processo de estresse oxidativo, podendo ocasionar danos as estruturas celulares, aos lipídios, proteínas e DNA (Kienzle, et al. 2002).

O estresse oxidativo está associado ao desenvolvimento de diversas doenças cardíacas (Polegatto, et al. 2016), a diminuição do fluxo coronariano ocasionado pelo IAM acaba dificultando a função das células que agora estão hipoperfundidas, assim se tornando um potencial para a formação de EROs (Llesuy, 2002). Estudos em humanos e ratos evidenciaram um aumento da produção de EROs após o infarto agudo do miocárdio (Grieve, et al. 2004). Juntamente com o aumento da carga de trabalho cardíaca há um aumento da reserva antioxidante que, momentaneamente, pode evitar o estresse oxidativo (Dorge, 2002). Porém, com o passar do tempo à capacidade antioxidante torna-se cada vez menor o que resulta no estresse oxidativo. Portanto, a redução dos antioxidantes parece contribuir para à patogênese da insuficiência cardíaca (Singh, et al. 1995). Pacientes com IC têm mostrado um aumento na atividade da enzima NADPH oxidase, uma grande fonte geradora de $O_2^{\bullet-}$. Embora evidências mostrem que a formação de ERO decorrente da maior ativação da NADPH oxidase seja importante para determinar o balanço redox em condições fisiológicas, têm sido mostrados aumentos pronunciados de ERO geradas por essa enzima em condições patológicas como o IAM (Grieve, et al. 2004). Corroborando esses achados, tem sido mostrada a depleção de glutathiona reduzida (GSH) e o acúmulo de glutathiona oxidada (GSSG) no tecido cardíaco ao longo do tempo pós-IAM (Kim, et al. 2003).

Hill & Singal, (1996) mostraram o aumento da relação GSH/GSSH ao final da primeira semana pós-IAM em ratos, mas que foi diminuindo de forma gradativa até tornar-se significativamente menor depois de 16 semanas, quando esses animais apresentaram sinais claros de IC (Kim, et al. 2002). Desse modo, o estado redox parece ter um papel fundamental ao direcionar algumas vias de sinalização intracelular para a sobrevivência ou morte celular (Singal, et al. 2000).

As proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAPKs), assim com a proteína quinase B (Akt), estão envolvidas tanto na via de sobrevivência quanto na via de morte celular (Munshi & Ramesh, 2013). As MAPKs são uma família de proteínas cinases que compreendem a proteína quinase regulada por sinal extracelular (ERK1/2), a quinase c-Jun N-terminal (JNK1/2) e a p38. A ERK 1/2 está diretamente relacionada com a sobrevivência celular, especificamente com ação sobre o crescimento e diferenciação celular (Muslin, 2008; Grzegorz. 2013). Já a JNK e a p38, proteínas redox sensíveis, estão intimamente ligadas com a morte celular (Dorge. 2002. McCubrey, et al. 2006).

O aumento na formação de ERO por diversas fontes tem influência sobre aumento da atividade de MMP (Holmes, et al. 2005). DelCarlo, et al. 2007, mostraram um aumento da produção de ROS associado ao aumento da produção de MMPs. Em células de músculo liso, a forma latente de MMP-2 (pro-MMP-2) é liberada após a produção estimulada de ROS por NADPH oxidase (Deem, 2004). No estudo de Grzegorz (2013), foi verificado o aumento da degradação das cadeias leves de miosina a partir do aumento do peroxinitrito e posteriormente a ativação de MMP em corações isolados de ratos submetidos à 60 minutos de isquemia. De fato, o peróxido de hidrogênio também mostrou aumentar os níveis de RNAm de colagenase / MMP-1 em fibroblastos dérmicos de humanos (Zhang, et al. 2002). Esses achados reforçam a correlação entre a ativação de MMP e as EROs.

O danos oxidativos em estruturas importantes para o funcionamento celular, tem sido classicamente relatado pós-IAM (Jones, 2006). Devido a redução do estresse oxidativo, a peroxidação de lipídios e proteínas, além de estabilizar as membranas celulares, os glicocorticóides podem ser uma alternativa de tratamento pós-IAM, resultando na melhora e recuperação da função no miocárdio pós-isquêmico e reperfundido (Varvarousi, et al. 2014).

1.3 Glicocorticóides (GC)

Os GC são hormônios esteroides regulados de maneira circadiana que exercem funções metabólicas e homeostáticas (Garcia, et al. 2007). Estímulos internos e externos são processados no hipotálamo para efetuar a liberação do hormônio liberador de corticotropina (CRH), que tem efeito na hipófise anterior para

estimular a síntese e a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH então age sobre o córtex adrenal para estimular a produção e a secreção de glicocorticoides (Fig. 4).

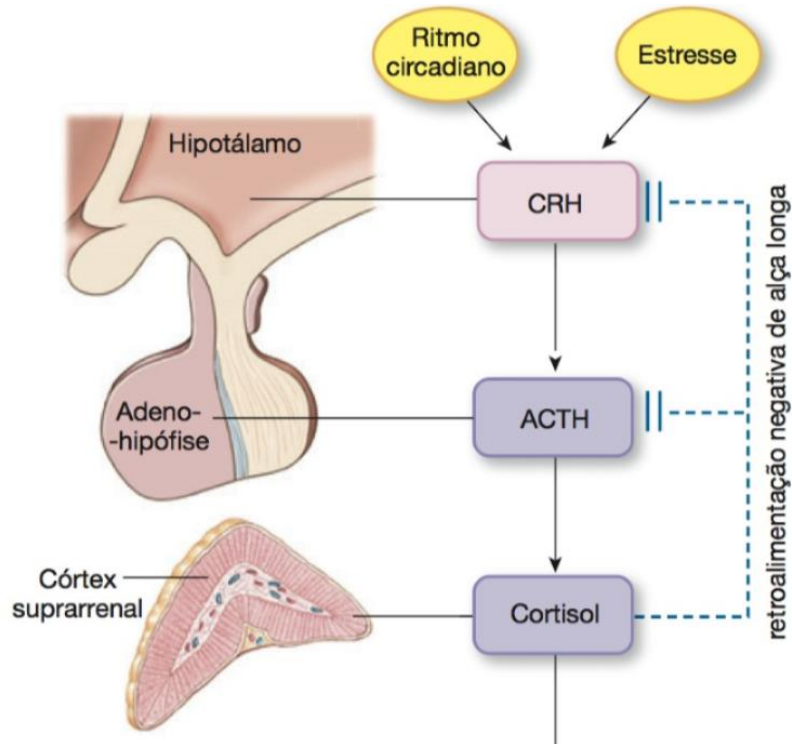


Figura 4: Eixo hipotálamo-hipófise anterior para o controle da secreção de cortisol (Silverthorn, 2017)

Os glicocorticóides atuam em quase todos os tecidos e órgãos do corpo para manter a homeostase tanto em resposta a mudanças normais no metabolismo quanto em situações de perturbações estressantes, podendo assim regular a função imune, crescimento esquelético, função cardiovascular, reprodução e cognição (Oakley & Cidlowski, 2013).

O mecanismo clássico de atuação dos GC se dá pela transcrição gênica (Silverthorn, 2017). O GC livre, por ser lipofílico, se difunde passivamente pela membrana plasmática da célula-alvo e se liga a receptores proteicos específicos no citoplasma. O complexo glicocorticoide-receptor sofre transformação estrutural e se torna capaz de penetrar no núcleo da célula, onde se liga a elementos responsivos aos GC (Fig. 5). Assim, induz tanto a síntese de proteínas anti-inflamatórias como

atuam no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos (Mannisi, et al. 1987; Ng & Celermajer, 2004; Garcia, et al. 2007).

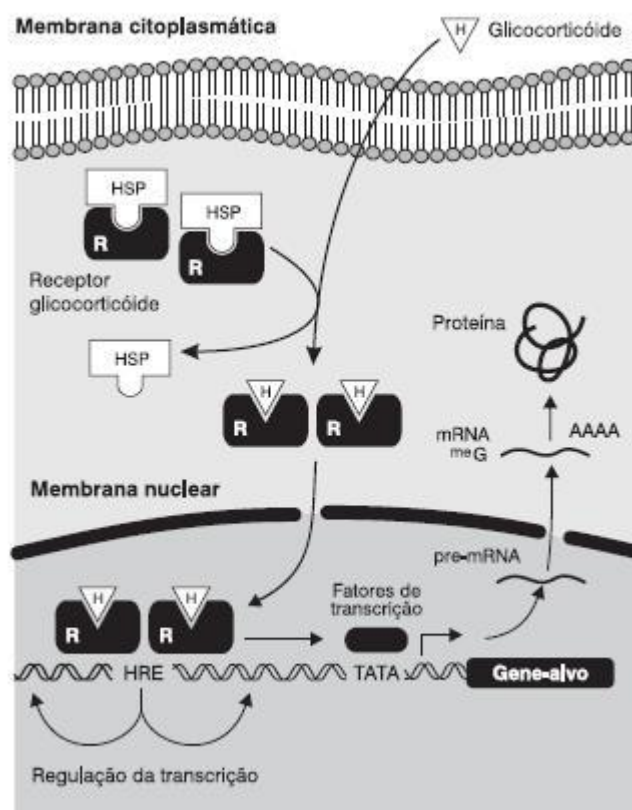


Figura 5: Mecanismo de ação dos glicocorticóides (Walker.2007).

Existem vários tipos de GC e a principal diferença entre eles está na potência relativa. Ou seja, depende da sua afinidade pelo receptor plasmático. Entretanto, a medida dessa potência não se baseia apenas na ação biológica intrínseca, mas também na duração dessa (Tabela 1). Dentre os GC, podemos mencionar a dexametasona, hidrocortisona, cortisona, prednisolona e metilprednisolona como fármacos encontrados atualmente no mercado farmacêutico, sendo que a metilprednisolona pode ser apresentada de duas formas: succinato de metilprednisolona e acetato de metilprednisolona. A primeira delas possui uma meia vida de 24 a 36 horas. Já o acetato de metilprednisolona possui em sua farmacocinética, distribuição imediata a partir de sua administração, com pico de efeito aos 7 dias e eliminação total em 21 dias, sendo que o efeito anti-inflamatório da metilprednisolona é encontrado nas duas formas.

Tabela 1: Características farmacológicas dos principais GC utilizados na prática clínica baseado por Freitas & Souza. 2007)

| | Equivalência de potência glicocorticóide (mg) | Equivalência de potência mineralocorticoide (mg) | Meia vida plasmática (minutos) | Duração da ação (horas) |
|---------------------------|--|---|--------------------------------------|----------------------------|
| Ação Rápida | | | | |
| Hidrocortisona | 20 | 0,8 | 90 | 8-12 |
| Cortisona | 25 | 1 | 30 | 8-12 |
| Ação Intermediária | | | | |
| Prednisona | 5 | 0,25 | 60 | 24-36 |
| Prednisolona | 5 | 0,25 | 200 | 24-36 |
| Metilprednisolona | 4 | 0 | 180 | 24-36 |
| Triancinolona | 4 | 0 | 300 | 24-36 |
| Ação Longa | | | | |
| Dexametasona | 0,75 | 0 | 200 | 36-54 |

Conforme descrito previamente, a inflamação também está bem documentada como determinante no remodelamento ventricular pós-IAM (Tabela 2) (Azevedo, et al. 2016). Neste contexto, a o tratamento com glicocorticóides pode ser benéfico devido a sua ação anti-inflamatória (Hadoke, et al. 2009). Além do mais, os GC podem inibir as interações endoteliais leucocitárias e a ativação não transcricional da síntese de óxido nítrico endotelial por inibirem a ativação do fator nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) (Xu et al. 1998). Somado a isso, os GC também podem evitar a ruptura dos lisossomas celulares e a subsequente liberação de proteases destrutivas na corrente sanguínea (Vyden, et al. 1974; Ng & Celermajer, 2004). Oakley e colaboradores (2015) investigaram, *in vivo*, os efeitos de glicocorticoides sobre o coração de camundongos transgênicos com IC. Os resultados desse estudo sugerem que os GC são fundamentais para o desenvolvimento e a função normal do coração (Hadoke, et al. 2009). De fato, o tratamento com dexametasona, um conhecido GC, tem sido associado com o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca e com a reversão da apoptose, sugerindo uma ação cardioprotetora (Ren, et al. 2012). Dentre outros

GC, a metilprednisolona pode proteger o coração de ratos Wistar machos dos danos promovidos pela inflamação induzida por lipopolissacarídeo (LPS) quando administrado em dose baixa (6 mg/kg) (Ko, et al. 2013). Os benefícios da metilprednisolona sobre a mecânica cardíaca têm sido associados aos reduzidos níveis de moléculas inotrópicas negativas no coração como, por exemplo, o peroxinitrito e o malondialdeído (Ko. et al, 2015). Do mesmo modo têm sido postulado na literatura os benefícios do tratamento com succinato de metilprednisolona pós-IAM. O estudo de Barzilai, et al. 1972, avaliou os efeitos do tratamento de metilprednisolona (500mg i.v 8-8 horas por 3 dias) em 446 pacientes acometidos com IAM, e constatou uma redução na taxa de mortalidade. Corroborando com esse resultado, o trabalho de Morrison, et al. (1976) que tratou 48 pacientes com dose única (2g i.v. 7-25 horas após a elevação de creatina quinase (CK) e constatou uma diminuição na área de infarto como também redução na mortalidade. Roberts et, al. (1976) avaliou 10 pacientes submetidos ao tratamento com metilprednisolona (30 mg/kg i.v. 6- 6 horas por 3 dias), encontrando resultados de diminuição da área de infarto, de casos de arritmia ventricular, e da taxa de mortalidade.

Tabela 2: Efeitos cardiovasculares dos glicocorticoides (Walker. 2007).

| Sítio de ação | Via receptores de glicocorticóides | Via de receptores mineralocorticóide |
|-----------------------------|---|--------------------------------------|
| Músculo liso vascular | ↑ Contratilidade | ↑ Inflamação perivascular |
| | ↓ Proliferação | ↕ Vasoconstrição |
| | ↓ Migração | |
| Célula endotelial | ↓ Vasodilatação dependente do endotélio | ↕ Vasodilatação |
| | ↓ Angiogênese | |
| Miocárdio | | ↑ Fibrose |
| Macrófagos | Citocinas | |
| | ↑ Apoptose | |
| | ↓ Fagocitose de neutrófilos apoptóticos | |
| Orgãos não cardiovasculares | Obesidade | Hipertensão |
| | Hipertensão | Protrombótica |
| | Dislipidemia | |
| | Resistência a insulina | |
| | Intolerância à glicose | |
| | Protrombótica | |

Neste contexto, a utilização de GCs pós-IAM sempre pareceu óbvia para retardar a piora funcional do coração. No entanto, por outro lado sua utilização foi desencorajada após o registro de efeitos adversos perigosos (Azevedo, et al. 2016). O uso de dexametasona pós-IAM agravou os danos cardíacos, com aumento da área de infarto e índice apoptótico, além de provocar hipertensão arterial, dislipidemia, obesidade e intolerância à glicose (Mihailidou, et al. 2009. Shokr, et al. 2016). O tratamento com prednisolona em pequenos infartos provocou um atraso no processo de cicatrização (Shizukuda, et al. 1991). O succinato de metilprednisolona aumentou o tamanho da área de infarto e a incidência de arritmia ventricular, com prejuízo na cicatrização (Hammerman, et al. 1983) e aumento da atividade de metaloproteinases (Garcia, et al. 2007).

Embora tais evidências amparem a não utilização dos GCs pós-IAM na clínica médica, ainda resta a dúvida se o insucesso não é decorrente da maneira como o tratamento foi conduzido. É provável que o principal fator limitante seja o período pós-IAM em que os GC foram administrados. Quando administrados muito

precocemente, acabam dificultando a formação da cicatriz e, conseqüentemente, favorece o RC mal adaptado (Vyden, et al. 1974. Mannisi, et al. 1987. Garcia, et al. 2007). Já quando administrados tardiamente, não foram eficazes em mitigar a transição do RC bem adaptado para o RC mal adaptado (Madias & Hood, 1984. Garcia, et al. 2007).

Embora a piora funcional possa ser observada nas primeiras horas logo pós-IAM, apenas a partir do 21º (Kienzle, et al. 2002) dia pós-IAM os sinais clássicos de IC passam a ser observados (Hagen et al 2009). Ou seja, a função cardíaca piora adicionalmente com o passar do tempo pos-IAM (Garcia, et al. 2007. Aires, et al. 2017). Neste contexto o estudo de Veiga e colaboradores (2013) determinou que aos 56 dias após o IAM, é possível encontrar aumento da hipertrofia do VD, presença de congestão pulmonar, e aumento da PDFVE com prejuízo na fração de ejeção do VE, corroborando a estes achados encontramos o trabalho de Bocalini, et al. 2012; Teixeira, et al. 2017; Minicucci, et al. 2013 que também encontraram os sinais de clássicos de IC após 56 dias do IAM.

Nosso grupo tem destacado o período entre o 0 e o 7º dia pós-IAM como crítico e decisivo sobre o destino do coração (Schenkel et al 2012). Estudos tem mostrado aumento de oxidantes e diminuição de antioxidantes no 7º dia pós-IAM, sendo possível evidenciar uma contribuição significativa para ativação de proteínas sinalizadoras responsáveis pelo RC mal adaptativo (Schenkel, et al. 2012; De Castro, et al. 2016; Schenkel, et al. 2010). Em consequência às alterações no estado redox e nas vias de sinalização até o sétimo dia, é possível encontrar repercussões funcionais aos 14 e aos 28 dias pós-IAM. Desse modo, a dúvida pertinente a este trabalho está em quais poderiam ser os efeitos da administração do acetato de metilprednisolona nas alterações ocasionadas até o sétimo dia, e se a abordagem terapêutica realizada nessas alterações já estabelecidas, poderiam melhorar a função cardíaca de ratos infartados.

2. HIPÓTESE

O momento em que o acetato de metilprednisolona é administrado após o infarto agudo do miocárdio é determinante para o desfecho da função cardíaca em ratos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Identificar uma melhor janela temporal pós-IAM para a administração de acetato de metilprednisolona, visando retardar a progressão para a insuficiência cardíaca.

O trabalho foi dividido em 3 experimentos. Portanto, os objetivos e os materiais e métodos específicos de cada experimento serão apresentados em separado. Já os materiais e métodos em comum entre os experimentos serão apresentados juntos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS GERAL

4.1 Animais

Foram utilizados ratos machos Wistar, com idade média de 35 dias, pesando aproximadamente 150 gramas provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno (33 x 17 x 40 cm), sendo quatro animais por caixa. Todos os animais foram mantidos sob condição padrão de biotério: ambiente com temperatura controlada (21°C), ciclo claro-escuro de 12 horas e umidade relativa do ar de 70%. Água e ração comercial foram oferecidas “ad libitum”. O ganho de peso foi aferido semanalmente.

4.1.1 Cálculo Amostral

Para o cálculo do “n” (número mínimo de animais), foi utilizado o Computer Programs for Epidemiologists (WIN PEPI – versão 9.1), utilizando-se um nível de significância de 0,05, poder estatístico de 90%. Além disso, foram acrescentados 30% para eventuais perdas durante o procedimento cirúrgico, chegando-se a um “n” amostral total de 91 animais.

4.1.2 Considerações Éticas

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul que aprovou sua realização com o número 30797. Todos os procedimentos desse estudo estiveram de acordo com a Lei 11794 e com as Diretrizes para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA) do CONCEA. Os experimentos só tiveram início após a aprovação do projeto.

4.1.3 Infarto Agudo do Miocárdio

Uma adaptação do modelo cirúrgico para indução do infarto agudo do miocárdio descrito por John & Olson, 1954 foi realizado em nossos experimentos ((Schenkel PC et. al., 2010; de Castro A et al., 2014). Para isso, os ratos foram anestesiados (90 mg/kg cetamina e xilazina 10 mg/kg, i.p.) e realizado tricotomia na região do hemitórax esquerdo. A assepsia do local foi feita com gaze estéril embebida em álcool 70%, seguida de solução de iodo 2%, e o excesso de iodo, foi removido novamente com o álcool 70%. Os animais foram colocados em decúbito dorsal e intubados com cânula traqueal (Gelko-14G) e ventilados com ventilador para roedores com volume constante (10 mL/kg). Um pequeno corte foi realizado no 4º espaço intercostal, seguido de rompimento do pericárdio para visualização do coração, sem exteriorizá-lo. Uma vez observada a artéria coronária descendente anterior, foi realizada sua oclusão no seu ramo superior, utilizando fio mononylon 6.0. Após a ligadura da coronária, a incisão torácica foi fechada (fio mononylon 5.0) e o pneumotórax reduzido mediante aspiração do ar com agulha e seringa, e a pele suturada. Ratos dos grupos Sham também passaram por todos os passos do procedimento cirúrgico, sendo a linha apenas transpassada ao redor da artéria, mas não ocluída. Após a cirurgia, com os ratos retornando do plano anestésico, a intubação foi removida no momento em que os animais começaram a ventilar espontaneamente. Uma vez extubados, eles foram colocados em local aquecido e monitorados diariamente. Foi utilizada analgesia opioide com tramadol (5mg/Kg, 8-8horas, via oral.), durante os primeiros 2 dias pós-cirúrgico (Santos, et al. 2012).

4.1.4 Tratamento com acetato de metilprednisolona

Os animais dos grupos tratados receberam dose única acetato de metilprednisolona (Depo- medrol- 40 mg/ml; Upjohn Canada. Don Mills. Ontario. Canada), administrado intramuscular na pata traseira (isquiotibiais) direita. Os grupos 0 (zero) dias foram tratados imediatamente após o ato cirúrgico para indução do IAM e os grupos 7 dias foram tratados no 7º dia após a indução do IAM. Já nos animais dos grupos Sham foi administrada solução salina pela mesma via de administração e volume injetado. Todos os animais foram eutanasiados 56 dias após a cirurgia de IAM.

4.1.5 Avaliação Funcional do Ventrículo Esquerdo

4.1.6 Análise ecocardiográfica

Análises ecocardiográficas foram realizadas no 2º dia após para comprovar os efeitos do procedimento cirúrgico de oclusão da artéria coronária descendente anterior ou simulação desse e aos 56º pós-IAM para análise da função cardíaca. Para isso, os animais foram anestesiados com quetamina (90 mg/kg, i.p.) e xilazina (10 mg/kg, i.p.) e posicionados em decúbito lateral esquerdo (45º) para obtenção das imagens cardíacas. Foi utilizado o sistema EnVisor Philips (Andover, MA, USA), com um transdutor de alta frequência e alta resolução (12-13 MHz). As medidas foram efetuadas sempre pelo mesmo operador treinado e experiente para análises ecocardiográficas em ratos, assim como, o operador não tinha compreensão da alocação dos animais nos grupos experimentais (Sham, IAM ou IAM+M).

O tamanho da área infartada foi mensurado no final da diástole num plano transversal basal (nos folhetos da valva mitral), médio (nos músculos papilares) e apical (distal aos músculos papilares, mas antes da curva da cavidade ventricular). Este foi estimado como uma porcentagem do perímetro endocárdico que apresentou acinesia e/ou hipocinesia (Peron, et al. 2006).

Os diâmetros ventriculares, sistólico e diastólico, foram mensurados nos planos basal, medial e apical utilizando o módulo M. Uma média dos 3 planos foi calculada e expressa em centímetros (cm). Já as áreas ventriculares foram obtidas pelo traçado da borda endocárdica nos 3 planos citados anteriormente. Uma média destes planos foi calculada e expressa em cm² (Nozawa, et al. 2006).

A função sistólica do ventrículo esquerdo foi analisada por 3 parâmetros:

1) Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FE) calculada pela fórmula de Simpson (Mercier, et al. 1982) (volume diastólico final – volume sistólico final / volume diastólico final) e expressa em porcentagem (%);

2) Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (FEnc) calculada pela fórmula (diâmetro diastólico – diâmetro sistólico / diâmetro sistólico) e expressa em porcentagem (%);

3) Mudança de área fracional (MAF) calculada pela fórmula (área diastólica – área sistólica / área diastólica) e expressa em porcentagem (%).

4.1.7 Análise das pressões intraventriculares

No 56º dia, em seguida a análise ecocardiográfica, ainda sob plano anestésico profundo, os animais tiveram a artéria carótida direita canulada com um cateter PE50 ligado a um transdutor medidor de pressão (Narco Biosystem transdutor de pulsoRP-155, Houston, Texas, EUA), conectado a um amplificador de pressão (HP 8805C, Hewlett Packard, EUA). Leituras das pressões foram feitas em um microcomputador equipado com uma placa de conversão analógico-digital (taxa de amostragem de 2 kHz, Biopac Systems, Inc., Goleta, California, EUA). O cateter foi posicionado no ventrículo esquerdo (VE) para registrar a frequência cardíaca (FC, bpm), a pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE, mmHg), a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE, mmHg), e as derivadas de contratilidade e relaxamento do ventrículo esquerdo (dP/dt max/min, mmHg/s). Os sinais analógicos de pressão foram digitalizados (Windaq-Data) (Schenkel, et al. 2010).

4.1.8 Eutanásia e Análises Morfométrica

Imediatamente após o registro das pressões intraventriculares, ainda sob efeito anestésico, os animais foram eutanasiados por sobrecarga anestésica (Tiopental 140mg/kg e lidocaína 10mg/kg i.p.), confirmada pela decapitação. O coração, pulmão e fígado foram rapidamente retirados e pesados para o cálculo do índice de hipertrofia cardíaco, congestão pulmonar e hepática, respectivamente. O índice de hipertrofia cardíaca foi calculado pela razão do peso em grama de tecido cardíaco pelo comprimento da tíbia. O nível de congestão pulmonar e hepática foi mensurado pela razão peso úmido/seco destes órgãos (Schenkel, et al. 2010). Também foram coletadas as gorduras retroperitoneal e perigonadal. Para o cálculo do índice de massa das gorduras e do índice de massa corporal, foi mensurado o comprimento naso-anal.

4.1.9 Descarte de animais e resíduos químicos

Todos os procedimentos foram realizados respeitando os devidos cuidados para proteção tanto dos animais como do pesquisador. As carcaças dos animais mortos e os demais resíduos biológicos foram acondicionadas em sacos brancos, identificados e levados ao biotério setorial do ICBS – UFRGS. Materiais tóxicos foram

usados na capela e encaminhados para o Centro de Gestão e Tratamento de Resíduos Químicos da UFRGS para sua correta eliminação.

4.2 Experimento 1

Estudo sobre a função do ventrículo esquerdo de ratos no 2º e no 56º dia após a indução do infarto agudo do miocárdio.

4.2.1 Objetivos Específicos do Experimento 1

- 1º. Induzir o infarto agudo do miocárdio;
- 2º. Determinar a eficácia e a reprodutibilidade do modelo experimental em induzir o IAM;
- 3º. Avaliar os parâmetros preditores de insuficiência cardíaca em ratos;
- 4º. Determinar se a administração de solução salina, em diferentes tempos pós-IAM, exerce influência sobre a função do ventrículo esquerdo.

4.2.2 Materiais e Métodos Específicos do Experimento 1

4.2.3 Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais (n=7/grupo), sendo eles:

1) Grupo Sham (Sham): animais submetidos ao procedimento cirúrgico, mas sem oclusão da artéria coronária descendente anterior;

2) Grupo IAM 0 dias (IAM0): animais infartados e tratados com solução salina logo após o procedimento cirúrgico;

4) Grupo IAM 7 dias (IAM7): animais infartados e tratados com solução salina no 7º dia após o procedimento cirúrgico.

4.2.4 Protocolo Experimental

Logo após o procedimento cirúrgico para indução do infarto agudo do miocárdio, dia zero do protocolo experimental, o grupo IAM0 recebeu dose única de solução salina (NaCl 0,9%) intramuscular. No segundo dia de pós-operatório, todos os animais foram submetidos à primeira análise ecocardiográfica para determinação da efetividade do procedimento e verificação da sua reprodutibilidade. No sétimo dia de pós-operatório, o grupo IAM7 recebeu dose única de solução salina i.m.. Uma nova avaliação ecocardiográfica com fins comparativos foi realizada em todos os animais no 56º dia de pós-operatório. Feito isso, eles foram eutanasiados (Fig. 6).

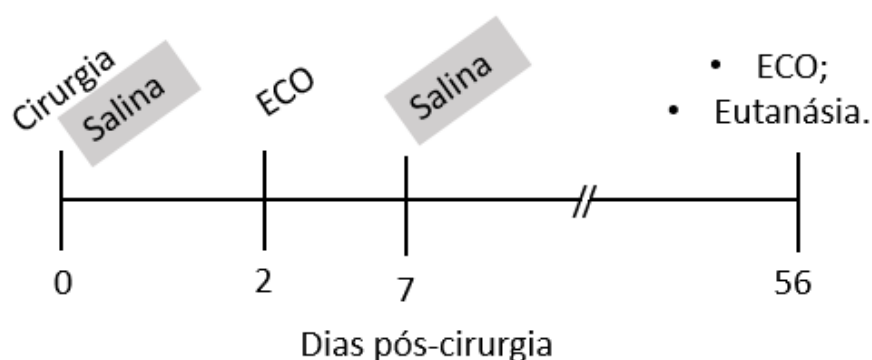


Figura 6: Desenho experimental realizado no experimento 1.

4.2.5 Análise estatística

Foram calculados as médias e os desvios padrões da média para cada uma das medidas realizadas e para cada um dos grupos estudados. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade da amostra (Shapiro-Wilk). Uma vez constatado que os dados são paramétricos, a comparação foi feita através de uma ANOVA de uma via, seguida pelo teste complementar de Student-Newmann-Keuls (SNK). As análises que apresentaram $p < 0,05$ foram aceitas como estatisticamente significativas. O software GraphPad Prisma 6.0 foi utilizado como ferramenta para análise dos dados.

4.3 Experimento 2

Estudo para determinar se os efeitos da metilprednisolona sobre o coração pós-IAM é influenciado pelo momento da sua administração.

4.3.1 Objetivos Específicos do Experimento 2

- 1º. Induzir o infarto agudo do miocárdio;
- 2º. Determinar o efeito do acetato de metilprednisolona em diferentes tempos experimentais;
- 3º. Avaliar os parâmetros preditores de insuficiência cardíaca em ratos;
- 4º. Investigar se há associação do estado redox com a progressão para a insuficiência cardíaca neste modelo experimental;
- 5º. Avaliar a influência do tratamento com acetato de metilprednisolona sobre os parâmetros morfométricos de ratos Wistar infartados.
- 6º. Avaliar a influência do tratamento com acetato de metilprednisolona no remodelamento estrutural do coração após o infarto agudo do miocárdio.
- 7º. Analisar a influência do tratamento com acetato de metilprednisolona no estado redox de amostras de ventrículo esquerdo de ratos Wistar;

4.3.2 Materiais e Métodos Específicos do Experimento 2

4.3.3 Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais (n=7/grupo), sendo eles:

1) Grupo Sham (Sham): animais que receberam dose única de solução salina (NaCl 0,9%, intramuscular) logo após ao procedimento cirúrgico de simulação do infarto agudo do miocárdio;

2) Grupo IAM (IAM): animais que receberam dose única de solução salina (NaCl 0,9%, i.m) logo após a indução do infarto agudo do miocárdio;

3) Grupo IAM-metilprednisolona 0 dias (IAM+M0): animais que receberam dose única de acetato de metilprednisolona (40 mg/kg, intramuscular) logo após a indução do infarto agudo do miocárdio;

4) Grupo IAM-metilprednisolona 7 dias (IAM+M7): animais que receberam dose única de acetato de metilprednisolona (40 mg/kg, intramuscular) no 7º dia após a indução do infarto agudo do miocárdio

4.3.4 Protocolo Experimental

Logo após o procedimento cirúrgico para indução do infarto agudo do miocárdio, dia zero do protocolo experimental, os animais do grupo SHAM e IAM receberam dose única de solução salina (NaCl 0,9%) e o grupo IAM+M0 recebeu acetato de metilprednisolona (Depo-medrol 40 mg/ml). No segundo dia de pós-operatório, todos os animais foram submetidos à primeira análise ecocardiográfica para análise da função ventricular esquerda. No sétimo dia, o grupo IAM+M7 recebeu dose única de acetato de metilprednisolona. Todos os animais foram submetidos a avaliação funcional do ventrículo esquerdo 56 dias após o procedimento cirúrgico. Feito isso, foram eutanasiados e tiveram os tecidos coletados para as análises estruturais e bioquímicas (Fig. 7).



Figura 7: Desenho experimental realizado no experimento 2.

4.3.5 Preparação dos Homogeneizados e Análises do Estado Redox do VE

O tecido remanescente do ventrículo esquerdo foi separado da cicatriz do infarto e subdividido em 2 partes (apical e basal) para o imediato congelamento em nitrogênio líquido e armazenamento em freezer -80°C. A porção basal desse tecido foi utilizada para as análises de estresse oxidativo. A homogeneização do tecido foi realizada por 40 segundos com Ultra-Turrax, na presença de KCl 1,15% (5 ml/g de tecido) e fluoreto de fenil metil sulfonil (PMSF) na concentração de 100 mmol/L. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados por 20 minutos a 10000 g a 4°C e o sobrenadante foi utilizado para as análises do estado redox.

4.3.6 Quantificação de Proteínas

A concentração de proteínas nos homogeneizados de VE foi estimada pelo método de Lowry, usando solução de albumina bovina como padrão (Lowry, et al. 1951).

4.3.7 Determinação da Peroxidação de Lipídios

A lipoperoxidação foi avaliada pelo método da produção de quimioluminescência (QL) iniciada por adição de hidróxido de tert-butil (TBOOH). A QL é em grande parte produzida pelas carbonilas excitadas e pelo oxigênio singlet da amostra, que foram formados na reação radicalar. A QL foi medida em contador de cintilação (LKB *rack beta liquid scintillation spectrometer* 1215) operando como luminômetro e com fototubos sensíveis a emissões na faixa 380-620 nm (Llesuy et al, 1990). Inicialmente, foi medida a QL de um vial contendo 50 uL de homogeneizado de VE na presença de 2 mL de tampão fosfato 20 mM/ KCl 140 mM (QL basal). Em seguida, adicionou-se 15 uL de TBOOH 400 mM ao vial e anotou-se o máximo valor de QL. O valor final foi expresso como a diferença entre a QL máxima da QL basal, corrigindo-se pela proteína de cada amostra e expresso em contagens por segundo por miligrama de proteína (cps/mg proteína).

4.3.8 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A técnica utilizada para determinação da SOD baseia-se na inibição da reação do radical superóxido com o pirogalol. O radical superóxido é gerado pela auto-

oxidação do pirogalol quando em meio básico. A SOD presente na amostra compete pelo radical superóxido com o sistema de detecção. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 420 nm. A atividade da SOD é determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado (Marklund, 1985). Para esse ensaio, se utilizou 10 µl de homogeneizado de VE na presença de tampão Tris Base 50 mM e EDTA 1mM, adicionando-se 4 µl de Catalase 30 µM (Sigma Aldrich, *Catalase from bovine liver - aqueous suspension, 10,000-40,000 units*) e 8 µl de pirogalol 24 mM (Sigma Aldrich, *Pyrogallol, ≥98% (HPLC), P.M 126,11*). Os resultados obtidos foram expressos em U SOD/mg proteína comparando-se com uma curva padrão de SOD (Sigma Aldrich, *Superoxide Dismutase from bovine, lyophilized powder, ≥1500 units/mg protein*).

4.3.9 Atividade da Catalase

A atividade da catalase é diretamente proporcional à taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Para a realização deste ensaio foram utilizados uma solução tampão fosfato a 50 mM (pH 7,4) e H₂O₂ 0,3 M. Em cubeta de quartzo, foram adicionados 955 µL do tampão fosfato e 10 µL de amostra. A cubeta foi colocada no espectrofotômetro e descontada contra um branco de tampão fosfato. Após, foram adicionados 35 µL do H₂O₂ 0,3 M e feito o monitoramento da diminuição da absorbância a 240 nm. Os resultados foram expressos em nanomoles de H₂O₂ por minuto por miligramas de proteína (nmol/min/mg proteína) (Boveris e Chance, 1973).

4.3.10 Atividade da Glutathione Peroxidase (GPx)

A enzima GPx catalisa a reação do H₂O₂ ou peróxidos orgânicos com glutathione reduzida (GSH), formando glutathione oxidada (GSSG). Ela atua em conjunto com a enzima glutathione reductase (GR), a qual catalisa a redução da glutathione oxidada, usando NADPH como cofator. A atividade da GPx pode ser mensurada pela taxa de oxidação do NADPH a 340 nm na presença de GSH e GR, utilizando-se hidróperóxido de tert-butil como iniciador e azida sódica (N₃Na) para inibição da enzima catalase. Para o ensaio, foram utilizados 25 µl de homogeneizado de VE na presença de 165 µl de tampão fosfato (143 mM e EDTA 4 mM),

adicionando-se 250 µl NADPH 0,24 mM (Sigma Aldrich, N1630 SIGMA), 5 µl de azida sódica 25 mM (Sigma Aldrich, S8032 SIGMA), 25 µl de GSH 20 mM (Sigma Aldrich, G4251 SIGMA) e 5 µl de GR (Sigma Aldrich, 10 U/ml – G3664 SIGMA). A atividade da GPx foi expressa como nanomoles de NADPH por minuto por miligrama de proteína (nmol/min/mg proteína).

4.3.11 Análise estatística

Foram calculados as médias e os desvios padrões da média para cada uma das medidas realizadas e para cada um dos grupos estudados. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade da amostra (Shapiro-Wilk). Uma vez constatado que os dados são paramétricos, a comparação foi feita através de uma ANOVA de uma via, seguida pelo teste complementar de Student-Newmann-Keuls (SNK). As análises que apresentaram $p < 0,05$ foram aceitas como estatisticamente significativas. O software GraphPad Prisma 6.0 foi utilizado como ferramenta para análise dos dados.

4.4 Experimento 3

Estudo para determinar se o tratamento proposto com acetato de metilprednisolona influencia no metabolismo de ratos Wistar saudáveis.

4.4.1 Objetivos Específicos do Experimento 3

- 1º. Avaliar a função cardíaca de ratos Wistar saudáveis controle e tratados com acetato de metilprednisolona;
- 2º. Analisar os efeitos de uma dose única de acetato de metilprednisolona sobre o peso corporal e o índice de massa corporal ao longo de 56 dias;
- 3º. Verificar os efeitos de uma dose única de acetato de metilprednisolona sobre os níveis de glicose, uréia, triglicérides e colesterol no sangue de ratos Wistar ao longo de 56 dias;
- 4º. Analisar a influência do tratamento com metilprednisolona no estado redox de amostras de ventrículo esquerdo de ratos Wistar;

4.4.2 Materiais e Métodos Específicos do Experimento 3

4.4.3 Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em 2 grupos experimentais, sendo eles:

1) Grupo Controle (C): animais que receberam solução salina (NaCl 0,9%, i.m.);

2) Grupo Tratado (T): animais que receberam dose única de acetato de metilprednisolona (40 mg/kg, i.m.);

4.4.4 Protocolo Experimental

No início do protocolo experimental, os animais foram pesados e separados em dois grupos: grupo controle (C), que recebeu dose única de solução salina (NaCl 0,9%) intramuscular, e o grupo tratado (T) que recebeu dose única de acetato de metilprednisolona (40mg/kg) pela mesma via de administração. Todos os animais foram pesados e tiveram uma amostra de sangue coletada semanalmente. No 56º dia os animais foram submetidos a avaliação funcional do ventrículo esquerdo pelo cateterismo ventricular. Feito isso, foram eutanasiados e tiveram os tecidos coletados para as análises estruturais e bioquímicas (Fig. 9).

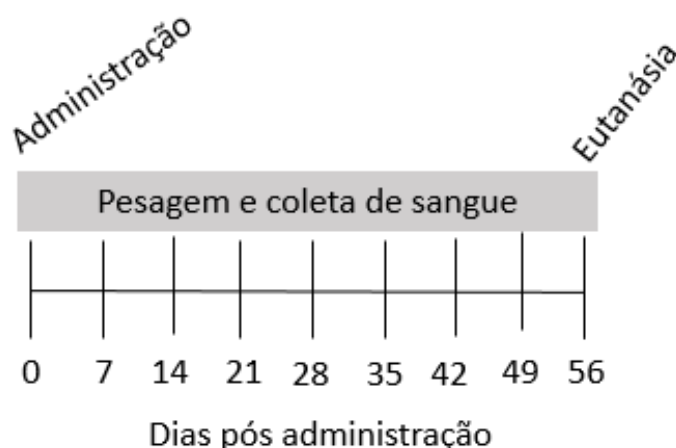


Figura 8: Desenho experimental realizado no experimento 3.

4.4.5 Avaliação de parâmetros no soro e peso corporal

Os animais foram submetidos a análise de peso corporal semanalmente, e posteriormente, o sangue foi coletado em tubo de coleta uma vez por semana durante oito semanas. Os animais foram colocados em jejum durante 4-6 horas, logo depois foram anestesiados com ketamina (90mg/kg/i.p.) e xilazina (10mg/kg/i.p.), e o sangue foi retirado por venopunção caudal. O sangue foi armazenado em tubo de coleta contendo gel separador e ativador de coágulo (Vacutube). O soro foi utilizado para determinação de glicose, uréia, triglicerídeos e colesterol por kits comerciais (LabTest).

4.4.6 Análise do Estado Redox

A preparação dos homogeneizados e a análise do estado redox do VE, foi realizado conforme descrito no experimento 2

4.4.7 Análise estatística

Foram calculados as médias e os desvios padrões da média para cada uma das medidas realizadas e para cada um dos grupos estudados. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade da amostra (Shapiro-Wilk). Posteriormente os grupos foram comparados pela análise de test t student. As análises que apresentarem $p < 0,05$ foram aceitas como estatisticamente significativas. O software GraphPad Prism 6.0 foi utilizado como ferramenta para análise dos dados.

5 RESULTADOS

5.1 Experimento 1

5.1.1 Dados Ecocardiográficos

Uma análise ecocardiográfica foi realizada 2 dias após o procedimento cirúrgico para confirmação da técnica cirúrgica em induzir o IAM. Essa mostrou que tivemos sucesso na indução do IAM em 80% dos animais operados, com uma área de infarto homogênea de $50,88 \pm 4,76$. 12% dos animais operados morreram nas primeiras 24h pós-cirúrgica e 8% foram excluídos por não apresentarem sinais de IAM.

Na tabela 3, observamos as alterações funcionais causadas pelo IAM nos dois tempos experimentais (2 e 56 dias pós-IAM). Na ecocardiografia inicial (2 dias), os grupos IAM0 e IAM7 apresentaram um aumento do Diâmetro Sistólico (DS) (103% - 93%), da Área Transversal na Sístole (ATS) (115% - 115%) e do Volume Sistólico Final (VSF) (100% - 116%), respectivamente, em relação ao grupo Sham. Os mesmos grupos infartados apresentaram uma diminuição da Fração de Encurtamento (FEnc) (64% - 65%), da Mudança da Área Fracional (MAF) (39% - 40%) e da fração de ejeção (FE) (24% - 25%), respectivamente, em relação ao grupo Sham. Os demais parâmetros ecocardiográficos (Área Transversal na Diástole (ATD), Diâmetro Diastólico (DD), Volume Diastólico Final (VDF) e Frequência Cardíaca (FC) não foram significativamente diferentes entre os grupos experimentais.

Na ecocardiografia final (56 dias pós-IAM), os grupos IAM0 e IAM7 mostraram, respectivamente, um aumento do DS (97% - 104%), DD (28% - 29%), ATS (231% - 289%), ATD (59% - 81%), VSF (416% - 550%), VDF (82% - 117%), assim como uma redução na FEnc (63% - 61%), MAF (54% - 65%) e FE (44% - 51%) em relação ao grupo Sham.

Ao compararmos os parâmetros ecocardiográficos ao longo do tempo pós-IAM (do 2º dia para o 56º dia) pudemos observar uma piora funcional nos grupos IAM0 e IAM7 pelo aumento do DD (47% - 57%), DS (42% - 55%), ATD (84% - 108%), ATS (125% - 164%) (Fig. 10), VDF (96% - 125%), VSF (158% - 200%) (Fig. 11), bem como diminuição da FE (20% - 27%) (Fig. 12) e MAF (25% - 31%), respectivamente.

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos IAM0 e IAM7.

Tabela 3: Parâmetros obtidos durante a ecocardiografia para os diferentes grupos e tempos experimentais.

| Parâmetros | Sham | IAM0 | IAM7 |
|-----------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|
| AI (%) | | | |
| Inicial | 0,00 ± 0,00 | 46,35 ± 6,77 ^a | 46,48 ± 6,30 ^a |
| Final | 0,00 ± 0,00 | 49,40 ± 3,90 ^a | 54,70 ± 7,14 ^a |
| Diferença | 0,00 ± 0,00 | 3,05 ± 3,80 | 8,22 ± 5,85 |
| FC (bpm) | | | |
| Inicial | 275,60 ± 23,37 | 275,40 ± 27,80 | 283,90 ± 37,37 |
| Final | 253,70 ± 23,61 | 264,00 ± 16,60 | 256,70 ± 26,88 |
| Diferença | -21,10 ± 13,22 | -11,40 ± 15,24 | 27,20 ± 12,05 |
| DD (mm) | | | |
| Inicial | 0,66 ± 0,02 | 0,68 ± 0,06 | 0,65 ± 0,10 |
| Final | 0,78 ± 0,07 | 1,00 ± 0,09 ^a | 1,02 ± 0,12 ^a |
| Diferença | 0,12 ± 0,05 | 0,32 ± 0,04 | 0,37 ± 0,05 |
| DS (mm) | | | |
| Inicial | 0,28 ± 0,06 | 0,57 ± 0,10 ^a | 0,54 ± 0,06 ^a |
| Final | 0,41 ± 0,10 | 0,81 ± 0,11 ^a | 0,84 ± 0,13 ^a |
| Diferença | 0,13 ± 0,08 | 0,24 ± 0,15 | 0,30 ± 0,04 |
| FEnc (%) | | | |
| Inicial | 57,10 ± 10,02 | 20,30 ± 5,24 ^a | 20,01 ± 5,11 ^a |
| Final | 49,72 ± 4,93 | 18,24 ± 3,96 ^a | 19,26 ± 3,83 ^a |
| Diferença | -7,38 ± 7,54 | -2,06 ± 4,45 | -0,75 ± 4,54 |
| ATD (cm²) | | | |
| Inicial | 0,34 ± 0,03 | 0,45 ± 0,06 | 0,45 ± 0,07 |

| | | | |
|-----------------------------|---------------|---------------------------|---------------------------|
| Final | 0,52 ± 0,11 | 0,83 ± 0,12 ^a | 0,94 ± 0,18 ^a |
| Diferença | 0,18 ± 0,07 | 0,38 ± 0,12 | 0,49 ± 0,15 |
| ATS (cm²) | | | |
| Inicial | 0,13 ± 0,03 | 0,28 ± 0,05 ^a | 0,28 ± 0,07 ^a |
| Final | 0,19 ± 0,11 | 0,63 ± 0,04 ^a | 0,74 ± 0,15 ^a |
| Diferença | 0,06 ± 0,01 | 0,35 ± 0,08 | 0,46 ± 0,05 |
| MAF (%) | | | |
| Inicial | 61,44 ± 5,53 | 37,50 ± 3,70 ^a | 37,35 ± 3,60 ^a |
| Final | 65,82 ± 10,05 | 29,93 ± 1,95 ^a | 23,21 ± 5,13 ^a |
| Diferença | 4,38 ± 8,25 | -7,57 ± 5,02 | -14,14 ± 7,08 |
| VDF (ml) | | | |
| Inicial | 0,23 ± 0,04 | 0,27 ± 0,04 | 0,28 ± 0,03 |
| Final | 0,29 ± 0,09 | 0,53 ± 0,09 ^a | 0,63 ± 0,14 ^a |
| Diferença | 0,06 ± 0,02 | 0,26 ± 0,09 | 0,35 ± 0,11 |
| VSF (ml) | | | |
| Inicial | 0,06 ± 0,02 | 0,12 ± 0,03 ^a | 0,13 ± 0,03 ^a |
| Final | 0,06 ± 0,06 | 0,31 ± 0,03 ^a | 0,39 ± 0,10 ^a |
| Diferença | 0,00 ± 0,01 | 0,19 ± 0,05 | 0,26 ± 0,10 |
| FE (%) | | | |
| Inicial | 70,84 ± 5,76 | 53,94 ± 3,60 ^a | 52,75 ± 4,76 ^a |
| Final | 78,91 ± 9,13 | 43,74 ± 7,56 ^a | 38,43 ± 7,84 ^a |
| Diferença | 8,07 ± 11,25 | -10,20 ± 6,55 | -14,32 ± 10,21 |

Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ em relação ao grupo Sham. Valores expressos como média ± desvio padrão. Sham (n= 14); IAM0 (n= 7); IAM7 (n= 8); AI= Área de infarto; FC= Frequência cardíaca; DD= Diâmetro diastólico; DS= Diâmetro sistólico; FEC= Fração de encurtamento; ATD= Área transversal na diástole; ATS= Área transversal na sístole; MAF=

Mudança da área fracional; VDF= Volume diastólico final; VSF= Volume sistólico final; FE= Fração de ejeção.

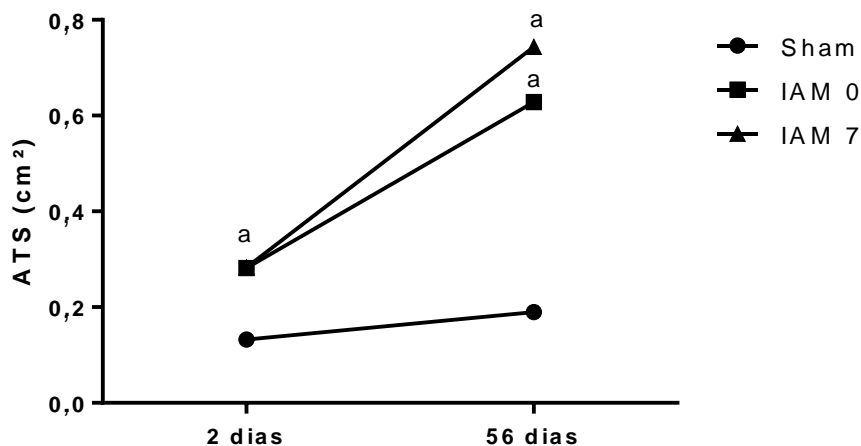


Figura 9: Área transversal na sístole obtidos na ecocardiografia 2 e 56 dias pós-IAM. Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ em relação ao grupo Sham. Valores expressos como média \pm desvio padrão. Sham (n= 14); IAM0 (n= 7); IAM7 (n= 8); ATS= Área transversal na sístole.

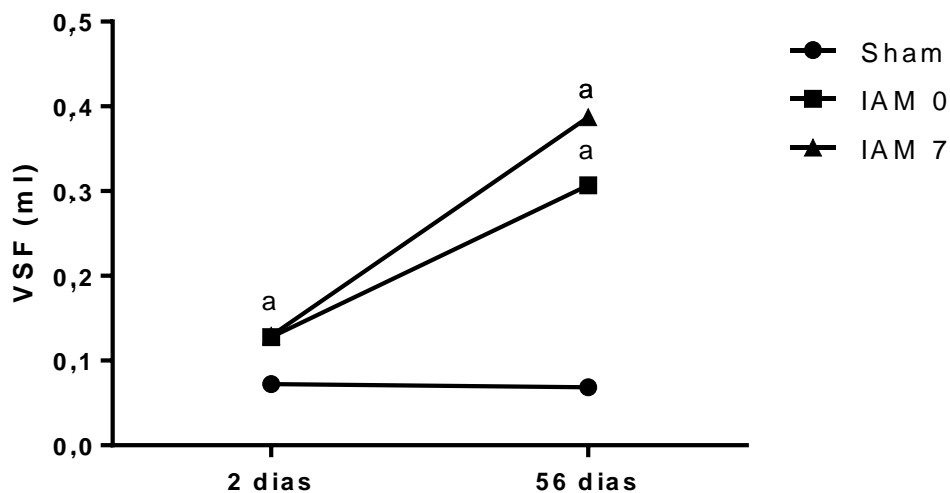


Figura 10: Volume sistólico final obtidos na ecocardiografia 2 e 56 dias pós-IAM. Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ em relação ao grupo Sham. Valores expressos como média \pm desvio padrão. Sham (n= 14); IAM0 (n= 7); IAM7 (n= 8); VSF= Volume diastólico final.

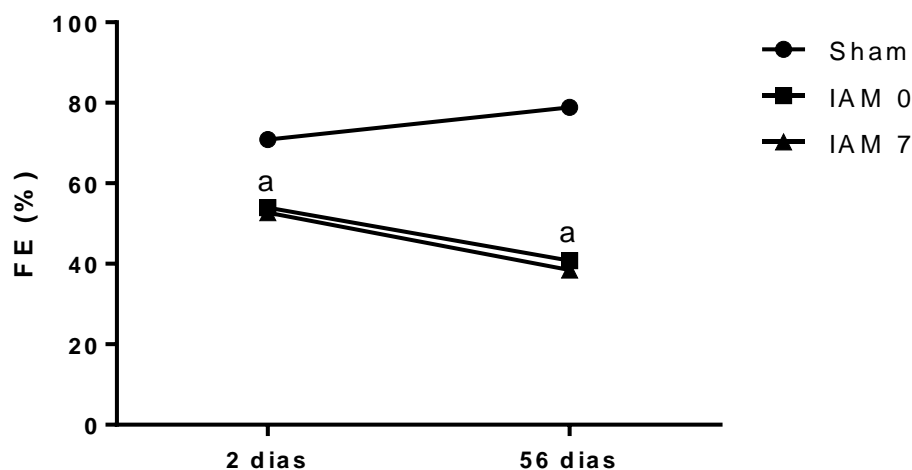


Figura 11: Fração de ejeção obtido na ecocardiografia de 2 e 56 dias pós-IAM. Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ em relação ao grupo Sham. Valores expressos como média \pm desvio padrão. Sham (n= 14); IAM0 (n= 7); IAM7 (n= 8); FE = Fração de ejeção.

5.2 Experimento 2

5.2.1 Dados da função cardíaca obtidos pela ecocardiografia 56 dias após o infarto agudo do miocárdio

Na ecocardiografia realizada 56 dias pós-IAM foi possível observar um aumento da ATS (306%) e da ATD (69%) do ventrículo esquerdo no grupo IAM em relação ao grupo Sham (Tabela 4). Esses aumentos nas áreas do ventrículo esquerdo foram significativamente atenuados com a administração de acetato de metilprednisolona logo após a cirurgia (grupo IAM+M0). Atenuação essa que não foi observada no grupo IAM+M7 que apresentou piora funcional semelhante ao IAM (Tabela 4).

A fração de encurtamento, a mudança de área fracional e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo diminuíram significativamente (37%, 39% e 55%, respectivamente) no grupo IAM e IAM+M0 em relação ao Sham (Fig. 13, 14 e 15). A administração de acetato de metilprednisolona no 7º dia pós-IAM promoveu um declínio adicional na mudança da área fracional (66%) e na fração de ejeção (23%) quando comparado ao IAM+M0, respectivamente.

Já o DS, DD, VDF e VSF foram semelhantes entre os grupos infartados (grupo IAM, IAM+M0 e IAM+M7), porém mostraram-se reduzidas nesses em relação ao

grupo Sham. Não foram evidenciadas diferenças significativas nos demais parâmetros ecocardiográficos avaliados.

Tabela 4: Parâmetros ecocardiográficos obtidos 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

| Parâmetros | Sham | IAM | IAM+M0 | IAM+M7 |
|------------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| AI (%) | 0,00±0,00 | 50,40 ± 1,37 ^a | 54,88 ± 2,56 ^a | 55,1 ± 2,56 ^a |
| FC (bpm) | 270,90±18,77 | 264,00±16,60 | 278,70±21,30 | 288,24±16,32 |
| DD (mm) | 0,78±0,07 | 1,00±0,08 ^a | 1,05±0,11 ^a | 0,91±0,06 ^{a,c} |
| DS (mm) | 0,42±0,10 | 0,82±0,11 ^a | 0,87±0,13 ^a | 0,74±0,07 ^a |
| ATD (cm ²) | 0,52±0,11 | 0,88±0,16 ^a | 0,70±0,09 ^{a,b} | 0,91±0,06 ^{a,c} |
| ATS (cm ²) | 0,16 ±0,04 | 0,65±0,15 ^a | 0,45±0,14 ^{a,b} | 0,74±0,07 ^{a,c} |
| VDF (ml) | 0,27±0,05 | 0,57±0,12 ^a | 0,50±0,19 ^a | 0,52±0,17 ^a |
| VSF (ml) | 0,06±0,06 | 0,33±0,09 ^a | 0,30±0,14 ^a | 0,32±0,07 ^a |
| DC (ml/min) | 57,54±11,68 | 65,06±11,75 | 63,80±15,36 | 50,53±15,84 |
| EPPS (cm) | 0,26±0,02 | 0,23±0,02 | 0,24±0,01 | 0,22±0,03 |
| EPPD (cm) | 0,14±0,01 | 0,13±0,01 | 0,14±0,01 | 0,13±0,01 |

Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0.05$ grupos IAM e IAM+M em relação ao grupo Sham. Diferença estatística no tratamento: ^b $P < 0.05$ grupos IAM+M0 em relação ao grupo IAM. Diferença estatística entre os grupos tratados: ^c $P < 0.05$ grupos IAM+M7 em relação ao grupo IAM+M0. Valores expressos como média ± desvio padrão. Sham (n = 15); IAM (n = 16); IAM+M0 (n = 7); IAM+M7 (n = 7). PC= Peso corporal AI= Área de infarto; FC= Frequência cardíaca; DD= Diâmetro diastólico; DS= Diâmetro sistólico; FEC= Fração de encurtamento; ATD= Área transversal na diástole; ATS= Área transversal na sístole; MAF= Mudança da área fracional; VDF= Volume diastólico final; VSF= Volume sistólico final; FE= Fração de ejeção. DC= Débito cardíaco EPPS= Espessura da parede posterior na sístole; EEPD= Espessura da parede posterior na diástole.

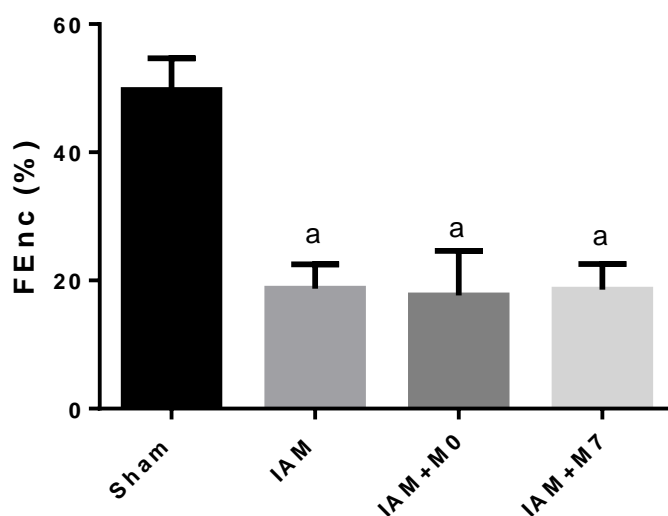


Figura 12: Medida da fração de encurtamento do ventrículo esquerdo obtido 56 dias após o infarto agudo do miocárdio. Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0.05$ grupos IAM e IAM+M em relação ao grupo Sham. Valores expressos como média \pm desvio padrão. Sham (n = 15); IAM (n = 16); IAM+M0 (n = 7); IAM+M7 (n = 7). FE= Fração de encurtamento.

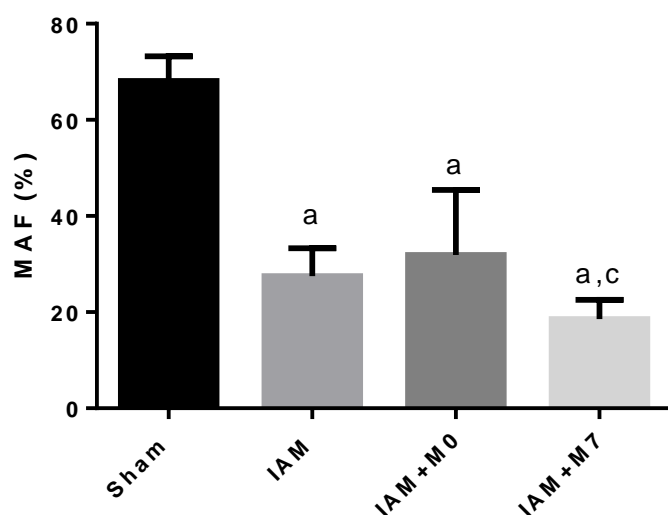


Figura 13: Medida da mudança da área fracional do ventrículo esquerdo obtido 56 dias após o infarto agudo do miocárdio. Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0.05$ grupos IAM e IAM+M em relação ao grupo Sham. Diferença estatística entre os grupos tratados: ^c $P < 0.05$ grupos IAM+M7 em relação ao grupo IAM+M0. Valores expressos como média \pm desvio padrão. Sham (n = 15); IAM (n = 16); IAM+M0 (n = 7); IAM+M7 (n = 7). MAF= Mudança da área fracional.

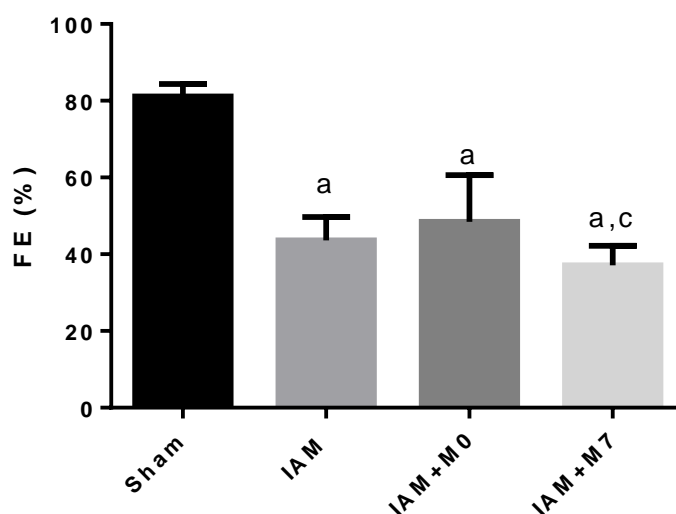


Figura 14: Fração de ejeção do ventrículo esquerdo obtido 56 dias após o infarto agudo do miocárdio. Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0.05$ grupos IAM e IAM+M em relação ao grupo Sham. Diferença estatística entre os grupos tratados: ^c $P < 0.05$ grupos IAM+M7 em relação ao grupo IAM+M0. Valores expressos como média \pm desvio padrão. Sham (n = 15); IAM (n = 16); IAM+M0 (n = 7); IAM+M7 (n = 7). FE= Fração de ejeção.

5.2.2 Dados da função cardíaca obtidos pelo cateterismo intraventricular 56 dias após o infarto agudo do miocárdio

A pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) foi significativamente maior no grupo IAM (116%) em relação ao Sham. Já os grupos tratados (IAM+M0 e IAM+M7) apresentaram uma redução da PDFVE (79% - 136%) em relação ao IAM, não apresentando diferença significativa em relação ao grupo Sham. A derivada de relaxamento (dP/dt min) foi significativamente menor nos infartados (grupos IAM, IAM+M0 e IAM+M7) em relação ao grupo Sham. Observamos uma diminuição significativa na derivada de contratilidade (dP/dt max) no grupo IAM+M7 em relação ao grupo Sham (68%), não sendo observado diferenças significativas nos demais grupos. Também não foram observadas diferenças significativas na pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE) e na frequência cardíaca entre os respectivos grupos experimentais (Tabela 5).

Tabela 5: Parâmetros hemodinâmicos obtidos pelo cateterismo do ventrículo esquerdo 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

| Parâmetros | Sham | IAM | IAM+M0 | IAM+M7 |
|-----------------------|------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| FC (bpm) | 275±20 | 268±14 | 273±20 | 271±75 |
| PSVE (mmHg) | 121±13 | 119±19 | 98±12 | 93±7 |
| PDFVE (mmHg) | 6,52±2,38 | 14,09±7,17 ^a | 7,88±1,51 | 5,96±4,03 |
| dP/dt mínima (mmHg/s) | -6054±1393 | -4249±1182 ^a | -4101±843 ^a | -3474±774 ^a |
| dP/dt máxima (mmHg/s) | 7432±1326 | 6322±873 | 5752±1047 | 5098±864 ^a |

Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ grupos IAM e IAM+M em relação ao grupo Sham. Valores expressos como média ± desvio padrão. Sham (n = 15); IAM (n = 16); IAM+M0 (n = 7); IAM+M7 (n = 7). PSVE= Pressão sistólica no ventrículo esquerdo; PDFVE= Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; dP/dt= Derivada pressão/tempo; FC= Frequência cardíaca.

5.2.3 Análises Morfométricas

Os resultados das análises morfométricas são mostrados na Tabela 6. É possível constatar que os grupos IAM+M0 e IAM+M7, apresentaram redução no peso corporal (42% - 64%), no IMC (27% - 44%) e no comprimento da tíbia (13% - 14%) em relação aos grupos Sham e IAM. O grupo IAM apresentou um aumento significativo no peso dos átrios corrigido pela tíbia (67%) quando comparado ao grupo Sham, não sendo diferente dos grupos tratados (IAM+M0 e IAM+M7). Em relação à hipertrofia cardíaca, foi constatado um aumento no grupo IAM de 13% em relação ao Sham. Os grupos tratados com acetato de metilprednisolona foram capazes de reverter a hipertrofia cardíaca, sendo iguais ao grupo Sham. O índice de congestão pulmonar foi maior 31% em ambos os grupos (Sham e IAM+M0). A administração de acetato de metilprednisolona logo pós-IAM (IAM+M0) foi capaz de evitar o surgimento da congestão, o que não ocorreu quando essa droga foi administrada aos 7 dias (IAM+M7) pós-IAM (Tabela 6). Não foram constatadas diferenças estatísticas no peso dos ventrículos, congestão hepática, índice de massa perigonadal e retroperitoneal nos grupos experimentais (Tabela 6).

Tabela 6: Análises morfométricas.

| Parâmetros | Sham | IAM | IAM+M0 | IAM+M7 |
|--------------------------|--------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| PC (g) | 451,13±25,54 | 468,75±42,85 | 317,83±25,17 ^{a,b} | 275±45 ^{a,b} |
| Tíbia (mm) | 38,87±0,77 | 38,91±0,92 | 34,86±1,34 ^{a,b} | 34,71±0,70 ^{a,b} |
| IMC (g/cm ²) | 19,40±1,18 | 19,25±1,70 | 15,29±1,80 ^{a,b} | 13,43±1,51 ^{a,b} |
| Átrios (g) | 0,003±0,001 | 0,005±0,002 ^a | 0,004±0,001 | 0,005±0,000 |
| Ventrículos (g) | 0,03±0,002 | 0,03±0,003 | 0,04±0,004 | 0,03±0,004 |
| Coração (g) | 1,23±0,09 | 1,46±0,20 ^a | 1,34±0,19 | 1,11±0,08 ^{b,c} |
| HC (mg/mm) | 0,03±0,002 | 0,04±0,006 ^a | 0,03±0,005 | 0,03±0,000 |
| Congestão Pulmonar (g/g) | 2,76±0,29 | 4,00±1,04 ^a | 2,78±0,27 ^b | 4,05±0,20 ^{a,c} |
| Congestão hepática (g/g) | 3,47±0,17 | 3,42±0,25 | 3,44±0,15 | 3,43±0,24 |
| IM Perigonadal (g) | 1,55±0,26 | 1,70±0,50 | 1,65±0,43 | 1,85±0,36 |
| IM Retroperitoneal (g) | 1,53±0,25 | 1,67±0,31 | 1,24±0,34 | 1,35±0,31 |

Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ grupos IAM e IAM+M em relação ao grupo Sham. Diferença estatística no tratamento: ^b $P < 0,05$ grupos IAM+M0 em relação ao grupo IAM. Diferença estatística entre os grupos tratados: ^c $P < 0,05$ grupos IAM+M7 em relação ao grupo IAM+M0. Valores expressos como média ± desvio padrão. Sham (n = 15); IAM (n = 16); IAM+M0 (n = 7); IAM+M7 (n = 7). PC= Peso corporal; IMC= Índice de massa corporal; HC= Hipertrofia cardíaca; IM= Índice de massa.

5.2.4 Dados de Estresse Oxidativo no Ventrículo Esquerdo

Os resultados do estresse oxidativo são mostrados na Tabela 7. A atividade da enzima antioxidante SOD foi significativamente menor (18%) no grupo IAM+M0 em relação ao IAM. Não observamos diferenças significativas na lipoperoxidação e na atividade das enzimas antioxidantes CAT e GPx entre os grupos experimentais (Tabela 7).

Tabela 7: Dados de estresse oxidativo em amostras de ventrículo esquerdo dos respectivos grupos experimentais.

| Parâmetros | Sham | IAM | IAM+M0 | IAM+M7 |
|------------|------|-----|--------|--------|
|------------|------|-----|--------|--------|

| | | | | |
|---|-------------|-------------|------------------------|-------------|
| Lipoperoxidação (cps/mg de proteína) | 951±294 | 1001±280 | 908±216 | 1047±392 |
| SOD (u sod/mg proteína) | 5,07±0,63 | 5,48±0,50 | 4,52±1,05 ^b | 5,06±0,38 |
| Catalase (nmol/min/mg proteína) | 21,27±3,76 | 21,13±2,57 | 20,07±3,02 | 19,91±3,89 |
| GPX (nmol/min/mg proteína) | 73,60±20,45 | 85,57±20,10 | 85,52±15,40 | 91,28±15,73 |

Diferença estatística no tratamento: ^b $P < 0,05$ grupos IAM+M0 em relação ao grupo IAM. Valores expressos como média ± desvio padrão. Sham (n = 15); IAM (n = 16); IAM+M0 (n = 7); IAM+M7 (n = 7). SOD= Superóxido dismutase; GPX= Glutathione peroxidase.

5.3 Experimento 3

5.3.1 Dados da função cardíaca obtidos pelo cateterismo intraventricular 56 dias após o infarto agudo do miocárdio

Verificamos uma diminuição significativa de 61% na derivada de relaxamento (dP/dt mínima) no grupo tratado com acetato de metilprednisolona em comparação ao grupo controle. Não foram observadas diferenças significativas nos demais parâmetros da função cardíaca (Tabela 8).

Tabela 8: Dados da função cardíaca obtidos pelo cateterismo intraventricular 56 dias após o infarto agudo do miocárdio.

| Parâmetros | Controle | Tratado |
|------------------------------|-----------------|-------------------------|
| PSVE (mmHg) | 121,20±13,69 | 113,80±14,35 |
| PDFVE (mmHg) | 6,52±2,38 | 5,05±0,95 |
| dP/dt mínima (mmHg/s) | -6054±1393 | -3687±1384 ^a |
| dP/dt máxima (mmHg/s) | 7432±1326 | 6453±1056 |
| FC (bpm) | 275,95±20,11 | 280,35±17,24 |

Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ tratado em relação ao grupo controle. Valores expressos como média ± desvio padrão. Controle (n = 5); Tratado (n = 11). PSVE= Pressão

sistólica no ventrículo esquerdo; PDFVE= Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; dP/dt = Derivada pressão/tempo; FC= Frequência cardíaca.

5.3.2 Análises Morfométricas

O grupo tratado apresentou uma redução da ingestão alimentar de 62% em relação ao grupo controle apenas na 2^o semana experimental. Não foram observadas diferenças estatísticas nos demais tempos experimentais.

Os resultados mostram também que o grupo tratado apresenta valores de variação do peso corporal significativamente menores que do grupo C. Esses achados em valores percentuais mostram que o grupo T apresentou uma redução média na primeira semana de 200% em relação ao grupo C na semana respectiva. No decorrer das semanas, o grupo T continuou apresentando uma redução de peso acentuada, com diferença de até 344% na oitava semana em relação ao grupo C (Fig. 16).

Conforme esperado pelos resultados no experimento 2, os animais tratados com acetato de metilprednisolona apresentaram diminuição do IMC (37%), do comprimento da tíbia (9%) e do peso do coração (40%) em relação aos controles (Tabela 9).

Não foram observadas diferenças significativas nos demais parâmetros morfométricos.

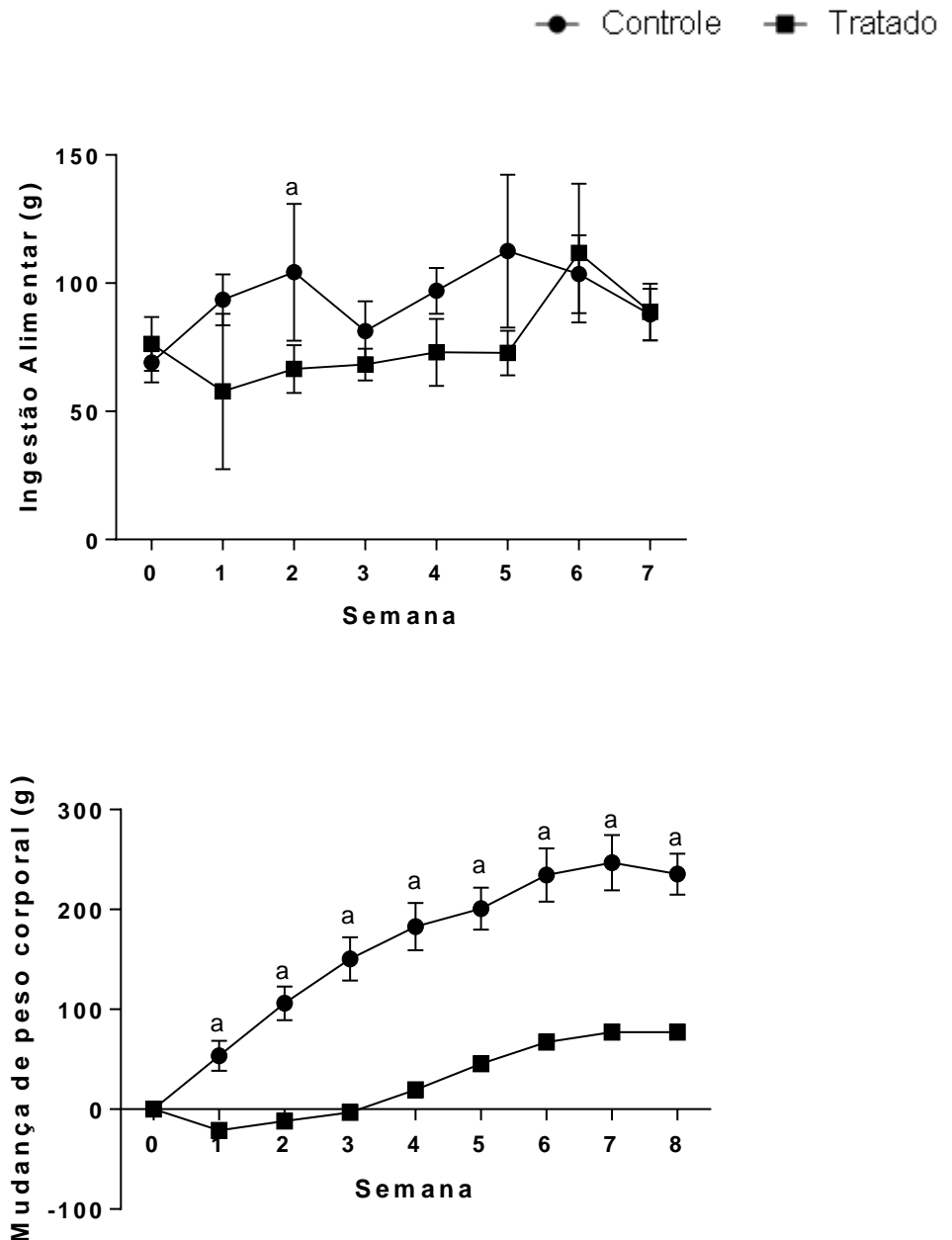


Figura 15: Avaliação do peso corporal e ingestão alimentar em ratos controle e tratados com acetato de metilprednisolona. Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ tratado em relação ao grupo controle. Controle (n = 5); Tratado (n = 11).

Tabela 9: Dados morfométricos de ratos Wistar saudáveis controle e tratados com acetato de metilprednisolona

| Parâmetros | Controle | Tratado |
|-----------------|-------------|------------------------|
| Átrios (g) | 0,004±0,001 | 0,003±0,000 |
| Ventrículos (g) | 0,02±0,00 | 0,02±0,00 |
| Coração (g) | 1,24±0,41 | 0,87±0,08 ^a |

| | | |
|-------------------------------------|------------|-------------------------|
| Hipertrofia Cardíaca (mg/mm) | 0,03±0,00 | 0,02±0,00 |
| Congestão Pulmonar (g/g) | 4,38±0,20 | 4,05±0,27 |
| Congestão hepática (g/g) | 3,41±0,19 | 3,50±0,17 |
| Tíbia (mm) | 37,17±0,75 | 34,09±1,73 ^a |
| IMC (g/cm²) | 18,37±1,47 | 13,36±1,20 ^a |
| IM Perigonadal (g) | 1,39±0,26 | 1,75±0,40 |
| IM Retroperitoneal (g) | 1,37±0,28 | 1,51±0,54 |

Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ tratado em relação ao grupo controle. Valores expressos como média \pm desvio padrão. Controle (n = 5); Tratado (n = 11). IMC= Índice de massa corporal; IM= Índice de massa.

5.3.3 Dados de Estresse Oxidativo no Ventrículo Esquerdo

Os resultados de estresse oxidativo são mostrados na tabela 10 Analisando os parâmetros de lipoperoxidação e das enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx) do ventrículo esquerdo, não foram observadas mudanças significativas entre os grupos experimentais.

Tabela 10: Dados de estresse oxidativo em amostras de ventrículo esquerdo dos respectivos grupos experimentais.

| Parâmetros | Controle | Tratado |
|---|-----------------|----------------|
| Lipoperoxidação (cps/mg de proteína) | 4141±898 | 3800±1262 |
| SOD (u sod/mg proteína) | 4,53±0,89 | 4,95±1,06 |
| Catalase (nmol/min/mg proteína) | 19,71±4,20 | 22,17±2,59 |
| GPX (nmol/min/mg proteína) | 118,4±13,76 | 115,3±20,00 |

Valores expressos como média \pm desvio padrão. Controle (n = 5); Tratado (n = 11). SOD= Superóxido dismutase; GPX= Glutathione peroxidase.

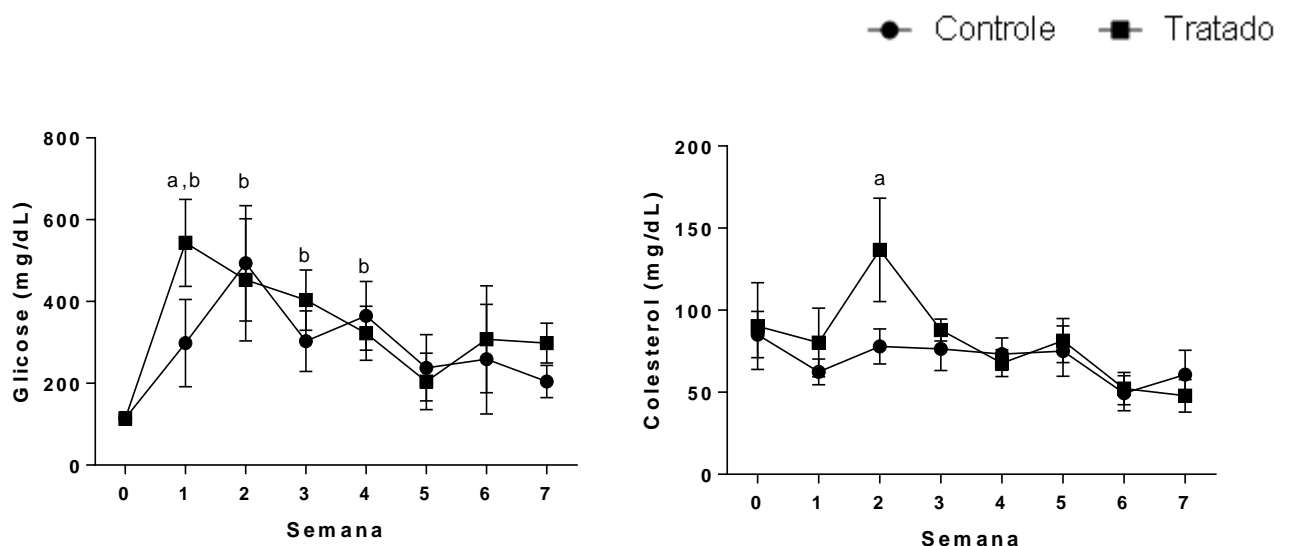
5.3.4 Alteração temporal da glicose, colesterol total, triglicerídeos, uréia e creatinina.

O nível glicêmico era semelhante entre os animais antes de iniciarmos o tratamento (glicemia basal). Ao final da 1ª semana, o grupo tratado com acetato de metilprednisolona apresentou glicemia significativamente elevada em relação ao grupo C. Não observamos diferenças na glicemia entre os grupos nas demais semanas do estudo. Entretanto, essa foi significativamente elevada em ambos os grupos na 1ª, 2ª, 3ª e 4ª semana em relação a glicemia basal.

O colesterol total não apresentou diferença significativa no início do experimento. Porém, o grupo T apresentou um aumento significativo (76%) em relação ao grupo C na 2ª semana experimental. Não foram observadas diferenças significativas nos demais tempos experimentais (Figura 17).

Os níveis de triglicerídeos, semelhantes antes do início do tratamento (basal), elevaram-se no grupo tratado tornando-se significativamente maiores em relação ao basal e ao grupo controle. Esses permaneceram significativamente elevados no grupo tratado até o final da 3ª semana experimental, não sendo observadas diferenças nos demais tempos experimentais (Figura 17).

Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de uréia e creatinina entre os respectivos grupos e tempos experimentais.



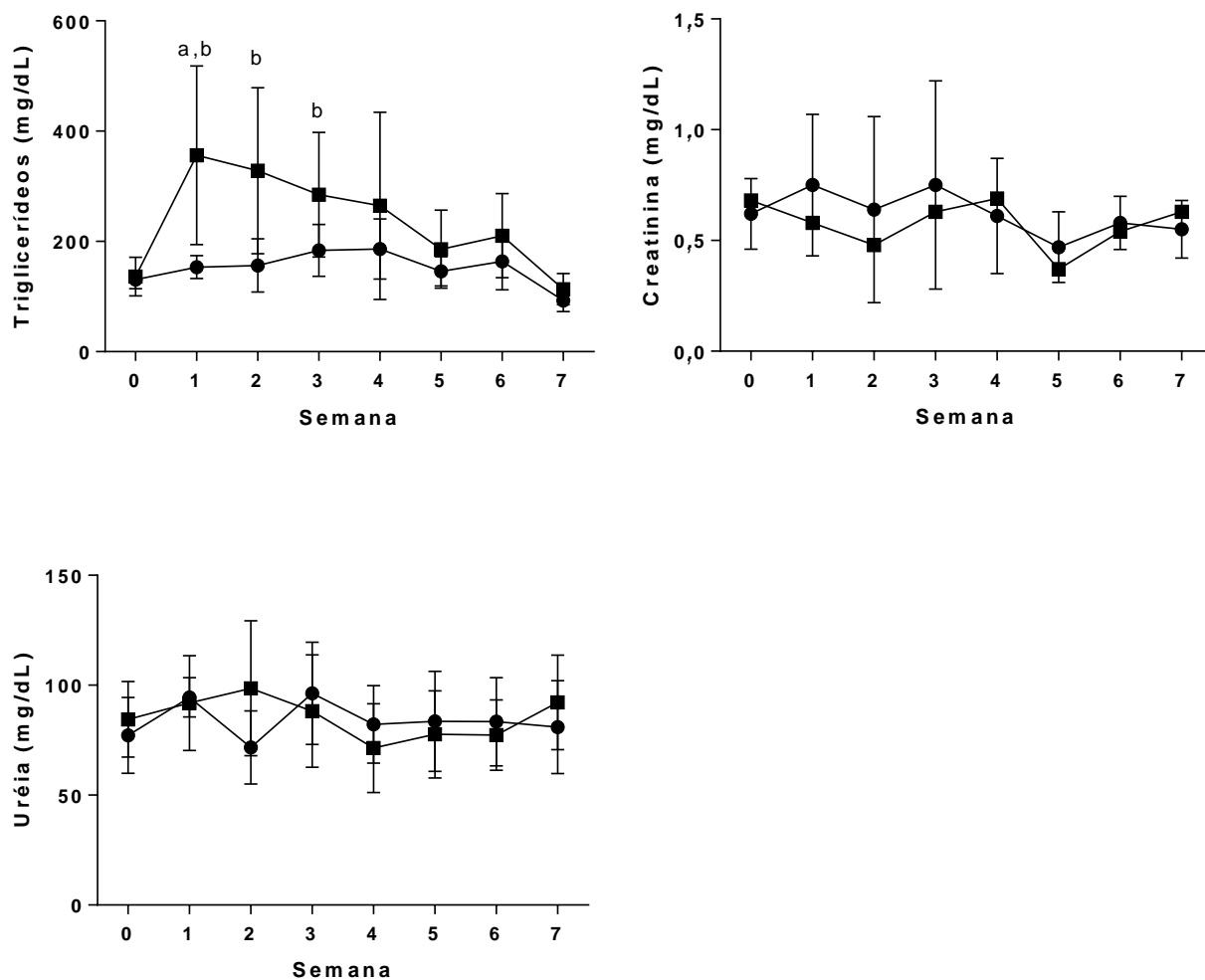


Figura 16: Perfil bioquímico do soro de ratos tratados com acetato de metilprednisolona. Diferença estatística no modelo: ^a $P < 0,05$ controle em relação ao grupo tratado. Diferença estatística no modelo: ^b $P < 0,05$ quando comparado ao início do experimento. Valores expressos como média \pm desvio padrão. Controle (n = 5); Tratado (n = 11).

6. DISCUSSÃO

O presente estudo analisou os efeitos da administração de acetato de metilprednisolona, em dois tempos experimentais, sobre parâmetros funcionais, morfométricos e de estresse oxidativo do ventrículo esquerdo de animais infartados. Além disso, este também avaliou as ações da metilprednisolona sobre alguns parâmetros metabólicos.

O modelo de indução do IAM utilizado por nosso grupo tem se mostrado muito eficaz e reprodutível. Além de conseguirmos induzir infartos de grandes proporções, a taxa de mortalidade é consideravelmente baixa quando comparada aos outros estudos (Optiz, et al. 1995; Zornoff, et al. 2009; Leenem & Yuan, 2001; Murase, et al. 2015). Zornoff, et al. 2009 afirmaram que a mortalidade encontrada em ratos nas primeiras 24 horas pós-IAM está relacionada com o pneumotórax, depressão respiratória, taquicardia e fibrilação ventricular. Empregamos no presente estudo algumas adaptações na técnica cirúrgica como, por exemplo, não expomos o coração para fora da caixa torácica, utilizamos ventilação mecânica e tomamos todos os cuidados pós-operatório. Isso nos permitiu maior controle sobre o procedimento cirúrgico e redução significativa da mortalidade.

Dentre outros parâmetros ecocardiográficos sugeridos pelos arquivos brasileiros de cardiologia (2009) para determinação da insuficiência cardíaca, a fração de ejeção do ventrículo esquerdo tem merecido destaque. A diminuição dessa evidencia uma menor quantidade de sangue ejetado do VE a cada sístole, podendo ser resultado da redução do relaxamento e/ou aumento da rigidez ventricular pós-IAM (Mesquita & Jorge, 2009). Como consequência disso, pode ocorrer um aumento do volume residual e, conseqüentemente, da PDFVE. A PDFVE elevada está associada a uma maior resistência de preenchimento durante a diástole (Vasan, 2003), esse aumento da pressão diastólica faz com que uma parcela de sangue proveniente da circulação sanguínea fique acumulado nos pulmões. Em consequência, a pressão venosa pulmonar aumenta de modo que a taxa de transudação de fluido para o interstício do pulmão exceda a capacidade do linfático pulmonar em drenar o fluido, o qual resultará na congestão pulmonar (Clark & Cleland, 2013). Esses resultados podem ser encontrados em ratos infartados de maneira precoce 21 dias pós-IAM (Kienzle, et al. 2002), assim como em tempos mais

tardios (Schenkel, et al. 2012; Teixeira, et al. 2017; Hill & Singal, 1996; Polegato, et al. 2016).

No experimento 1 pudemos verificar um prejuízo na função contrátil do ventrículo esquerdo pelo aumento no diâmetro sistólico, na área transversal durante a sístole e no volume sistólico final do VE 2 dias pós-IAM em ambos os grupos infartados (IAM0 e IAM7). Por outro lado, a função diastólica manteve-se preservada nesse tempo de estudo. Já na ecocardiografia final (56 dias pós-IAM) foram encontrados sinais de dilatação da câmara cardíaca nos animais infartados (IAM0 e IAM7), demonstrada pelo aumento dos diâmetros e das áreas do ventrículo esquerdo. Além disso, esses animais demonstraram diminuição significativa da fração de ejeção, da fração de encurtamento e da mudança da área fracional aos 56 dias pós-IAM. Conforme encontrado em estudo prévio de Teixeira, et al. 2017, a partir do exame de ecocardiografia encontrou a redução da fração de ejeção e aumento do volume sistólico final em ratos após 56 dias de IAM. Esses achados ecocardiográficos sugerem uma progressão na disfunção do ventrículo esquerdo, tanto sistólica quanto diastólica. A partir desses achados, buscamos nos certificar de que a administração da solução salina, em diferentes momentos pós-IAM, não exercer influência sobre a função do VE.

Para isso foi administrado solução salina logo após a indução de IAM ou sete dias após o IAM. Como esperado, foi possível observar que a solução salina, independente do momento de sua administração, não alterou a disfunção ventricular promovida pelo IAM ao longo dos 56 dias. Tal achado nos serviu de base para a realização do experimento 2.

É sabido que a redução do peso corporal de 5% em pacientes obesos com diagnóstico de IC está relacionado com alta taxa de mortalidade ao longo do tempo (Zamora, et al. 2016). Olivetti, et al. 1990, verificaram uma relação da perda de peso com o aumento da PDFVE, indicativo de insuficiência cardíaca após o IAM. Não obstante, o peso corporal dos animais infartados foi semelhante aos do grupo Sham no presente estudo, essa relação do peso corporal e a IC podem ser dependentes do tempo, já que animais com um tempo experimental prolongado após a indução do IAM apresentaram um grau de debilidade severo (Empinado, et al. 2016). Nossos resultados corroboram achados prévios da literatura em que o peso corporal não

apresentou uma relação direta com a função cardiovascular (Sjoblom, et al. 2014. Teixeira, et al. 2017).

Alguns fármacos são utilizados atualmente com a finalidade de retardar a piora funcional do sistema cardiovascular após o IAM. Podemos destacar o uso de Ácido Acetilsalicílico, esse é o único anti-inflamatório não esteroide indicado rotineiramente para todos os pacientes com suspeita de IAM, além de possuir ação antiplaquetária. Também se destacam anticoagulantes, betabloqueadores, antiarrítmicos e antitrombóticos, drogas associadas à redução da taxa de mortalidade (Batra, et al. 2017; Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2009).

Sabe-se que um dos agravantes pós-IAM é devido ao aumento da inflamação e do estresse oxidativo (Sia, et al. 2002; Chi, et al. 2017). Neste contexto, a utilização de GC sempre pareceu lógica e oportuna para mitigar a disfunção cardíaca provocado pelo IAM, uma vez que possui potencial anti-inflamatório e antioxidante (Hadoke, et al. 2009; Azevedo, et al. 2016). Entretanto, devido aos efeitos adversos ocasionados pelo uso de GC, este tratamento foi desencorajado (Garcia, et al. 2007). Tais efeitos adversos incluíam o aumento na área de infarto e apoptose celular, ocasionados pela dexametasona (Mihailidou, et al. 2009; Shokr, et al. 2016). O tratamento com prednisolona ocasionou atraso no desenvolvimento da cicatriz do infarto (Shizukuda, et al. 1991). Já a administração de succinato de metilprednisolona resultou no aumento na área de infarto, casos de arritmia ventricular e no aumento da atividade das MMPs (Hammerman, et al. 1983; Garcia, et al. 2007).

Por outro lado, outros estudos demonstraram benefícios promovidos pelo tratamento com succinato de metilprednisolona em humanos pós-IAM (Madias & Hood, 1982). Barzilai, et al. (1972), utilizando succinato de metilprednisolona logo pós-IAM constataram uma redução na taxa de mortalidade. Achado semelhante foi demonstrado por Roberts et al. (1976) e Morrison, et al. (1976) tratamento com succinato de metilprednisolona promoveu redução na taxa de mortalidade e diminuição da área de infarto.

Embora contraditórios, os achados prévios da literatura nos indicam que o tipo de GC e, principalmente, a escolha da janela temporal para a realização do tratamento, são determinantes no desfecho da função cardíaca pós-IAM. No mesmo sentido, trabalhos prévios do nosso grupo mostraram que os primeiros 7 dias pós-

IAM são determinantes para o desfecho funcional do coração (Schenkel, et al. 2010; Schenkel, et al. 2012).

Dessa maneira, a intervenção com o acetato de metilprednisolona parece promissor, pelo seu papel anti-inflamatório, imunossupressor e antioxidante, além disso é um fármaco de absorção lenta, possuindo em sua farmacocinética, distribuição imediata após sua administração, com pico de efeito aos 7 dias e eliminação total em 21 dias. Resolvemos realizar a intervenção farmacológica em dois tempos distintos, sendo o primeiro tempo de intervenção iniciado logo pós-IAM, para determinar os efeitos da administração do acetato de metilprednisolona durante as alterações no estado redox e nas vias de sinalização para sobrevivência ou apoptose celular. O segundo tempo foi aos 7 dias depois pós-IAM para verificar se a abordagem terapêutica realizada nessas alterações já estabelecidas, poderiam melhorar a função cardíaca de ratos infartados (Schenkel, et al. 2010; Schenkel, et al. 2012).

A escolha da dose do fármaco se baseou em artigos científicos prévios encontrados na literatura para estudo da droga *in vivo* (Torres et al. 2014). No estudo de Torres, et al. 2014, foi observado que o tratamento agudo com metilprednisolona (50 mg/kg/ i.p.), aumentou os níveis antioxidantes em amostras do tecido pulmonar de ratos saudáveis. Isso pode representar um mecanismo de proteção contra a geração de EROs após a exposição à metilprednisolona. Ko, et al. 2015, verificou que a administração de metilprednisolona (6 mg/kg/dia), tem a capacidade melhorar a inflamação e a função cardíaca de ratos induzidos por LPS. Para tanto, foi escolhido a dose de 40 mg/kg para o estudo desse trabalho. Não foram encontrados estudos utilizando o acetato de metilprednisolona no pós-IAM para título de comparação direta.

No experimento 2 encontramos sinais de dilatação do ventrículo esquerdo nos animais infartados (grupo IAM), demonstrada pelo aumento dos diâmetros e das áreas do ventrículo esquerdo. Também verificamos nesses animais uma diminuição significativa da fração de ejeção, da fração de encurtamento e da mudança da área fracional, indicando piora funcional sistólica e diastólica do VE. Podemos encontrar os mesmos resultados nos animais tratados com acetato de metilprednisolona (IAM+M0 e IAM+M7). Entretanto, a administração no tempo 0 (IAM+M0) foi capaz de atenuar a dilatação ocasionada pela doença com diminuição das áreas

transversais, mas não modificou as alterações ocasionadas no estado contrátil do VE. Já o grupo IAM+M7 apresentou aumento da dilatação do ventrículo esquerdo quando comparado aos grupos Sham e IAM+M0. Trindade, et al. 2006 realizaram o tratamento do captopril (2g/L via gavagem) por 21 dias pós-IAM e encontraram melhora na fração de ejeção quando comparada ao grupo IAM não tratado. Vasquez, et al. 2003, relataram diminuição dos diâmetros e aumento da fração de ejeção do VE pós-IAM em pacientes que realizam exercício físico no mínimo 3 vezes na semana. Mill, et al. 2005, realizaram a administração de hormônio do crescimento (GH) na dose de 0,4 UI/dias em ratos pós-IAM e verificaram indícios de IC pela queda da fração de encurtamento e de ejeção do VE, além do aumento dos diâmetros ventriculares.

A evolução para a IC é, de fato, um desfecho comum pós-IAM em ratos e se caracteriza classicamente pelo aumento da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, congestão pulmonar e hipertrofia do ventrículo direito (Hentschke, et al. 2017. Pacheco, et al. 2016. Singh. 1995; Polegato, et al. 2016). Com a perda de função sistólica após o IAM, há um aumento no volume sistólico final que contribui para a elevação da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo ou PD2. Com isso, o fluxo fica prejudicado e favorece a estase sanguínea e a consequente congestão pulmonar (Mesquita & Jorge, 2009). A estase sanguínea acaba gerando maior resistência na pequena circulação e, dessa forma, sobrecarrega o ventrículo direito. Para vencer a pós-carga elevada, esse acaba hipertrofiando (Clark & Cleland, 2013;)

No presente estudo, verificamos um aumento na PDFVE no grupo IAM que o tratamento com acetato de metilprednisolona foi capaz de atenuar (Tabela 8). É possível especular que essa redução seja proveniente da diminuição da hipertrofia cardíaca e da produção da MMP – 2. Cabe ressaltar que a área de infarto no presente estudo foi de aproximadamente de 50%. A longo prazo essa área de infarto passa por remodelamento que envolve um complexo mecanismo de alterações, tais como processo inflamatório, dilatação das câmaras ventriculares e acúmulo de colágeno, causando fibrose tecidual (Phatharajaree *et al.* 2007).

Somado a isso, também verificamos uma redução na dP/dt mínima em todos os animais infartados (IAM, IAM+M0 e IAM+M7), independentemente do tratamento. Isso, pode ter ocorrido devido a diminuição na elastância (Hunter et al. 1983; Shroff, Janicki & Weber, 1983). A metilprednisolona em doses baixas (6mg/kg) se mostrou

eficaz em aumentar a elastância no coração de ratos induzidos à inflamação cardíaca com LPS (Ko, et al. 2015). Talvez o tratamento com altas doses de acetato de metilprednisolona não possua a capacidade de aumentar o relaxamento prolongado ocasionado pelo IAM. No presente estudo, os animais do grupo IAM+M7 também apresentaram uma redução na dP/dt máxima. Podemos especular que essa alteração está associada ao tempo tardio da administração farmacológica.

Conforme demonstrado por nossos resultados de morfometria, o grupo IAM desenvolveu congestão pulmonar, um sinal clássico de IC pós-IAM. O tratamento com acetato de metilprednisolona realizado logo após ao infarto (grupo IAM+M0) foi capaz de prevenir o surgimento da congestão pulmonar, diferentemente do tratamento realizado 7 dias pós-IAM (tabela 9). Estudos mostram que o tratamento com altas doses de metilprednisolona (30 mg/kg) podem alterar o estado vascular por inibir a 6 ceto PGF alfa (substância vasodilatadora), assim ocasionando vasoconstrição da circulação pulmonar e diminuindo a permeabilidade alveolar e capilar. (Vaage, 1985. Brigham, 1985. Ogletree, et al. 1986). Zangh, et al (2010), induziram ratas a congestão pulmonar por inalação de dióxido de carbono e trataram elas com dexametasona em 3 doses distintas 1, 3 e 6 mg / kg. Em todas as doses o resultado foi a diminuição da permeabilidade da parede alveolar e capilar (Zangh, et al 2010). No mesmo sentido, Tu, et al. 2017, descobriram que o tratamento com 5 mg/kg de metilprednisolona em ratos com lesão pulmonar aguda e com síndrome da angustia respiratória se mostrou eficaz em reduzir os níveis de congestão pulmonar por diminuir os macrófagos pró inflamatórios e aumentar os macrófagos reparadores de tecidos. Portes & Tucci (2006) também verificaram congestão pulmonar em ratos infartados. Entretanto, os ratos que realizaram exercício físico apresentaram redução dessa congestão em relação ao grupo infartado sedentário. Diferentemente desses resultados, no presente estudo o tratamento com acetato de metilprednisolona realizado 7 dias pós-IAM (grupo IAM+M7) não atenuou a congestão pulmonar. Assim, podemos especular que a instalação da congestão pulmonar ocorra logo após o IAM e que a administração precoce de acetato de metilprednisolona é capaz de preveni-la.

Ao analisarmos o peso corporal, verificamos no presente estudo que os animais dos grupos tratados com acetato de metilprednisolona apresentaram uma diminuição (30%- 40%) em comparação ao grupo Sham. Nossos resultados

corroboram os achados de Santos et al. (2007) e Fang et al. (2011) que mostraram redução do peso induzida pelo tratamento com metilprednisolona. A redução no peso corporal ocorre em parte devido aos efeitos de lipólise e proteólise dos GCs, como também na inibição de síntese protéica (Fang, et al. 2011). Além disso, os glicocorticóides modulam a função das células α e β pancreáticas que regulam a secreção de glucagon e insulina, dois hormônios que desempenham um papel fundamental na regulação dos níveis de glicose no sangue (Kuo, et al. 2015). Portanto, o acetato de metilprednisolona pode induzir o catabolismo de proteínas e, assim, induzir resistência à insulina (Ayala & Coariti, 2017. Felício, et al. 2012; Kuo, et al. 2015). Essa resistência à insulina provoca um aumento na liberação de mais insulina. O acúmulo de insulina proveniente do tratamento com GC possui uma ação inibitória sobre os receptores do hipotálamo, estando essa área relacionada com o controle alimentar, podendo reduzir cerca de 50% a ingestão alimentar de ratos com hiperinsulinemia (Torsoni, et al. 2003).

Outra alteração morfométrica encontrada pós-IAM é a hipertrofia cardíaca que é uma resposta adaptativa a sobrecarga de volume e/ou de pressão (Iyer, et al. 2016). No presente estudo, verificamos uma diminuição da hipertrofia cardíaca nos ratos tratados com acetato de metilprednisolona. Sabe-se que a inflamação persistente no miocárdio encontrado pós-IAM tem sido importante fator para a progressão da hipertrofia cardíaca (Parmeshwar, et al. 2017). Nesse sentido, foi mostrado previamente os efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores da metilprednisolona (Ko, et al. 2015. Cheng S. Et al 2016). Santiago, et al. 2009, mostraram a diminuição da hipertrofia cardíaca em ratos infartados tratados com alho, substância com conhecida propriedade anti-inflamatória, durante 21 dias na dose de 125 mg/kg/dia. Da mesma forma, Teixeira, et al. 2017 relataram a diminuição da hipertrofia cardíaca em ratos 56 dias após o infarto do miocárdio que realizaram exercício físico 5 vezes por semana durante 8 semanas. A inflamação cardíaca também pode promover o aumento nos níveis de malondialdeído, uma substância tóxica gerada a partir da peroxidação lipídica, e pode ser um método indireto de verificar a atividade de EROs, devido à sua capacidade de aumentar significativamente o estresse oxidativo e a produção de superóxido (Ko, et al. 2015). No presente estudo, não encontramos alterações na atividade da enzima antioxidante catalase e GPx, assim como nos níveis de lipoperoxidação. Isso pode

ter ocorrido devido ao tempo do protocolo experimental utilizado em nosso estudo. A longo prazo pós-IAM, as adaptações do desbalanço redox que ocorrem precocemente podem ser mais facilmente estabilizadas, resultando num equilíbrio entre pró e antioxidantes. Nossos resultados corroboram os achados por Lustosa, et al. 2013, que verificaram um equilíbrio entre pró e antioxidantes em amostras de ventrículo esquerdo de ratos 3 meses pós-IAM.

Pelo pressuposto acima, podemos afirmar que o tratamento com acetato de metilprednisolona na dose de 40mg/kg administrado imediatamente após a indução do IAM sugeriu uma melhora eficiente nos parâmetros clássicos de IC, com possível diminuição da progressão do IAM para a IC, quando comparado aos animais tratados 7 dias após.

Outro questionamento desse trabalho era sobre a influência do tratamento proposto sobre o metabolismo corporal. Portanto, objetivou-se no experimento 3 avaliar a influência da administração de acetato de metilprednisolona em ratos saudáveis sobre os parâmetros morfométricos e metabólicos. Pudemos verificar uma redução no peso corporal e na ingestão alimentar nos animais tratados com acetato de metilprednisolona, conforme esperado a partir dos resultados do experimento 2. Os níveis de glicose foram maiores no grupo tratado em relação ao grupo controle na 1ª semana após a administração de acetato de metilprednisolona. Esse resultado pode ter ocorrido devido aos efeitos do GC sobre a produção de glicose hepática e indução a resistência à insulina nos tecidos periféricos. Foi visto também um aumento de triglicérides e colesterol na 2ª semana, esses resultados também foram encontrados por Fang e colaboradores (2001), em que por infusão trataram os animais com 0.4 mg/kg de metilprednisolona e 7 dias após, confirmaram a redução no peso corporal e na ingestão alimentar, assim como o aumento da glicose.

A glicose pós-prandial é armazenada predominantemente no músculo esquelético e representa a maior reserva de glicogênio no organismo (Tamez-Perez. 2015). O seu armazenamento é dependente da presença de insulina e da disponibilidade do transportador de glicose (GLUT4) na membrana celular (Campbell, Senior & Bell-Anderson. 2017). Os GCs podem induzir resistência à insulina e interferir nas cascatas de sinalização, principalmente a do transportador de GLUT4, que resultam numa redução de 30% a 50% na absorção de glicose e uma diminuição de 70% na síntese de glicogênio (Ruzzin, et al. 2011. Perez, et

al.2014). Os GCs também são responsáveis pelo catabolismo que também podem interferir na sinalização da insulina nos miócitos (Kuo, et al. 2015). Em resposta à diminuição da sensibilidade à insulina induzida pelos GCs, a célula beta pancreática normalmente aumenta a secreção de insulina para manter a homeostase da glicose. No entanto, esse aumento nem sempre é suficiente para compensar a resistência à insulina e resulta em hiperglicemia (Tamez-Perez. 2015. Martínez-Martínez, et al. 2012. Sui, et al. 2014). Finalmente, os GC aumentam a lipólise e promovem aumento nos ácidos graxos e triglicerídeos livres no sangue (Tamez-Perez. 2015).

No grupo controle do presente estudo podemos observar que também ocorreu um aumento da glicemia na primeira semana quando comparado ao nível basal. Esse aumento da glicose possivelmente seja devido a influência da anestesia com éter etílico realizada para coleta de sangue. É sabido que essa é capaz de alterar os parâmetros bioquímicos (colesterol, glicose, e ácidos graxos) (Melo, et al. (2012). Kitamura, et al. (2009), também verificaram um aumento da glicemia após a colostomia sigmoide com a aplicação de anestesia (sevoflurano e propofol). Segundo Meechan e Welbury (1992) a injeção de 4,4mL de solução anestésica de lidocaína foi suficiente para aumentar consideravelmente a glicemia em pacientes submetidos a cirurgia oral.

7. CONCLUSÃO

Podemos concluir com o experimento 1, que os animais 56 dias pós-IAM apresentam uma progressão na disfunção do ventrículo esquerdo, tanto sistólica quanto diastólica. Sendo que, a administração de solução salina logo após a indução do IAM (IAM0), ou 7 dias pós-IAM (IAM7), não possui a capacidade de alterar os parâmetros ecocardiográficos de função ventricular.

Pelos resultados expressos no experimento 2 podemos afirmar que o tratamento com acetato de metilprednisolona na dose de 40mg/kg administrado imediatamente após a indução do IAM se mostrou eficaz em mitigar a transição do IAM para a insuficiência cardíaca. Esse foi eficaz em atenuar o aumento da área transversal sistólica e diastólica do VE, bem como diminuir o aumento da pressão diastólica final do VE ocasionado pelo IAM. Somado a isso, atenuou a hipertrofia cardíaca (diminuição peso do coração/comprimento da tibia) e preveniu a instalação da congestão pulmonar.

No experimento 3, pudemos comprovar que a administração de acetato de metilprednisolona causa redução do peso corporal e da ingestão alimentar. Além disso, é possível observar a hiperglicemia induzida por GC na 1^o semana nos animais tratados, já na segunda semana observamos o aumento nos níveis de colesterol e triglicérides em animais tratados quando comparados ao controle.

8. PERSPECTIVA

- Analisar as vias de sinalização de sobrevivência e apoptose celular nas doses elevadas de acetato de metilprednisolona;

- Avaliar a influência do tratamento de altas doses do fármaco no metabolismo do cálcio e na produção de MMPs;

- Comprovar a eficácia do acetato de metilprednisolona sobre o remodelamento do VE pós-IAM em distintos tempos experimentais;

- Verificar os efeitos do tratamento de acetato de metilprednisolona em doses menores, que sejam semelhantes aos níveis fisiológicos de cortisol, para que não ocorra efeitos no metabolismo sistêmico;

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol** 1984;105:121-6

ALBUQUERQUE, D. et al. I Brazilian Registry of Heart Failure - Clinical Aspects, Care Quality and Hospitalization Outcomes. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2015.

ALIZADEHASL A, SADEGHPOUR AM. The role of echocardiography in acute myocardial infarction. **Indian Heart Journal**, v. 69, n. 4, p. 563, 2017.

ALVES A. M. et al. Avaliação Da Função Ventricular Esquerda Em Ratos Submetidos À Desnutrição Protéica. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. 2012.

AVEZUM, A.; GUIMARÃES, H. P.; BERWANGER, O.; PIEGAS, L. Aspectos epidemiológicos do infarto agudo do miocárdio no Brasil, Grupo Editorial Moreira Jr. – **Revista Brasileira de Medicina (RBM)**, São Paulo, 2005. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=2972> Acessado em: ago. 2016.

AVLAS O, FALLACH R, SHAINBERG A, et al. Toll-like receptor 4 stimulation initiates an inflammatory response that decreases cardiomyocyte contractility. **Antioxid Redox Signal** 2011;15:1895-909.

AYALA GU & COARITI RA. Diabetes and hyperglycemia induced by corticosteroids. **Rev Med La Paz**, 23(1); 2017.

AZEVEDO, R. As principais causas de mortes no Brasil (e como evitá-las), **Revista EXAME**, 17 de junho de 2015. Disponível em: <<http://exame.abril.com.br/brasil/as-principais-causas-de-mortes-no-brasil-e-como-evita-las/>> Acessado em: set. 2016.

AZEVEDO, PS. et al. Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2016.

BARACHO S. et al. A segmentation method for myocardial ischemia/infarction applicable in heart photos. **Computers in Biology and Medicine**. 2017;87:285-301.

BARZILAI D, et al. Use of hydrocortisone in the treatment of acute myocardial infarction. **Chest** 61: 488, 1972.

BATRA G. et al. Antithrombotic therapy after myocardial infarction in patients with atrial fibrillation undergoing percutaneous coronary intervention. *European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy*. 2017;4(1):36-45.

BELTRAME J. Coronary microvascular dysfunction in acute ST elevation myocardial infarction. *Coronary Artery Disease*. 2017;28(1):3-4.

BLAUDSZUN, G. et al. Preload-adjusted left ventricular dP/dtmax: a sensitive, continuous, load-independent contractility index. *Experimental Physiology*, v. 98, n. 10, p. 1446-1456, 2013.

BOCCHI, E. A. Heart failure in South America. *Current Cardiology Reviews*, v. 9, n. 2, p. 147-156, 2013. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/ben/ccr/2013/00000009/00000002/art00007>> Acessado em: ago. 2016.

BOVERIS A.; CHANCE B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*, v. 134, n. 3, p. 707-16, jul. 1973.

CAHILL, T.J. & KHARBANDA, R.K. Heart failure after myocardial infarction in the era of primary percutaneous coronary intervention: Mechanisms, incidence and identification of patients at risk. *World Journal of Cardiology*, v. 9, n. 5, p. 407, 2017.

CAMPBELL G, et al. Metabolic Effects of High Glycaemic Index Diets: A Systematic Review and Meta-Analysis of Feeding Studies in Mice and Rats. *Nutrients*. 2017;9(7):646.

CARMO FILHO, et al. Does Post-Infarction Unstable Angina Increase the Risk of Coronary Artery Bypass Graft Surgery? *Rev Bras Cardiol*. 2011;24(3):147-152.

CASTRO AL. Et al. Cardioprotective effects of thyroid hormones in a rat model of myocardial infarction are associated with oxidative stress reduction. *Mol Cell Endocrinol*. 2014 Jun 25; 391(1-2):22-9.

CHAN D, & NG L. Biomarkers in acute myocardial infarction. *BMC Medicine*. 2010;8(1).

CHENGODE, S. Left ventricular global systolic function assessment by echocardiography. *Annals of Cardiac Anaesthesia*, v. 19, n. 5, p. 26, 2016.

CHI R, et al. Progressive Reduction in Myocyte Autophagy After Myocardial Infarction in Rabbits: Association with Oxidative Stress and Left Ventricular Remodeling. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;44(6):2439-2454.

CHUNG HY. et al. The molecular inflammatory process in aging. **Antioxid Redox Signal** 2006;8:572–81.

CLARK A, & CLELAND J. Causes and treatment of oedema in patients with heart failure. **Nature Reviews Cardiology**. 2013;10(3):156-170.

CUTLER M, JEYARAJ & ROSENBAUM. Cardiac electrical remodeling in health and disease. **Trends in Pharmacological Sciences**. 2011;32(3):174-180.

DEEM T. Vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) activation of endothelial cell matrix metalloproteinases: role of reactive oxygen species. **Blood**. 2004;104(8):2385-2393.

DELCARLO M. et al. Endogenous production of reactive oxygen species is required for stimulation of human articular chondrocyte matrix metalloproteinase production by fibronectin fragments. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 42, n. 9, p. 1350-1358, 2007.

Diretrizes. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2009;93(6).

Diretrizes. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2000.

DOUS G, GRIGOS A, GRODMAN R. Elevated troponin in patients with acute stroke – Is it a true heart attack?. **The Egyptian Heart Journal**. 2017;69(3):165-170.

DRÖGE W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev** 2002;82:47-95.

EMPINADO H. et al. Diaphragm dysfunction in heart failure is accompanied by increases in neutral sphingomyelinase activity and ceramide content. **European Journal of Heart Failure**. 2014;16(5):519-525.

ESMAEILI, R. et al. Echocardiographic assessment of myocardial infarction: comparison of a rat model in two strains. **Iran J Vet Res**. 2017 Winter; 18(1): 30–35.

ESMAEILZADEH M, PARSAEE M, MALEKI M. The Role of Echocardiography in Coronary Artery Disease and Acute Myocardial Infarction. **J Teh Univ Heart Ctr** 8(1), 2013.

FANG, J. Et al. Dynamic modeling of methylprednisolone effects on body weight and glucose regulation in rats. **J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.** 38, 293–316. doi: 10.1007/s10928-011-9194-4. 2011.

FARIA T, et al. Body Weight Loss After Myocardial Infarction in Rats as a Marker of Early Heart Failure Development. **Archives of Medical Research.** 2011;42(4):274-280.

FELÍCIO JS. Et al. Endogenous hyperinsulinism: review and follow-up of 24 cases. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2012;56/2.

FLOHÉ L. GÜNZLER WA. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol** 1984;105:114-21.

FRANTZ, S. & BAUERSACHS, JG. Post-infarct remodelling: contribution of wound healing and inflammation. **Cardiovascular Research**, v. 81, n. 3, p. 474-481, 2008.

FREITAS, T.H.P. & SOUZA, D.F.P. Sytemic corticoesteroids in dermatological pratice. **Na Bras dermat.** 2007.

FUKUTA, H. et al. Effects of catheter-based renal denervation on heart failure with reduced ejection fraction: a systematic review and meta-analysis. **Heart Failure Reviews**, v. 22, n. 6, p. 657-664, 2017.

GARCIA RA, GO VK, VILLAREAL FJ. Effects of timed administration of doxycycline or methylprednisolone on post-myocardial infarction inflammation and left ventricular remodeling in the rat heart. **Mol Cell Biochem.** 2007.

GAUI EN, DE OLIVEIRA GMM, KLEIN CH. Mortalidade por Insuficiência Cardíaca e Doença Isquêmica do Coração no Brasil de 1996 a 2011. **Arq Bras Cardiol** 2014; 102:557-65.

GERDES AM, IERVASI G. Terapia de reposição da tireóide e insuficiência cardíaca. **Circulação.** 2010; 122 (4): 385-393.

GIFFONI, RT. & TORRES RM. Brief history of the electrocardiography. **Rev Med Minas Gerais** 2010; 20(2): 263-270.

GOLDRAICH L, et al. Preditores clínicos de fração de ejeção preservada em insuficiência cardíaca descompensada. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.** 2010;94(3):385-393.

GORSELEN E.O.F. et al. Posterior myocardial infarction: the dark side of the moon. **Neth Heart J**. 2007 Jan; 15(1): 16–21.

GRIEVE DJ, BYRNE JA, CAVE AC, et al. Role of oxidative stress in cardiac remodeling after myocardial infarction. **Heart Lung Cir** 2004;13:132-38.

GRZEGORZ S. "Intracellular Regulation of Matrix Metalloproteinase-2 Activity: New Strategies in Treatment and Protection of Heart Subjected to Oxidative Stress," **Scientifica**, vol. 2013, Article ID 130451, 12 pages, 2013.

GUIMARÃES, et al. Diretriz de interpretação de eletrocardiograma de repouso. **Arq. Bras. Cardiol**. vol.80 suppl.2 São Paulo 2003.

GUO Y, et al. Lower Serum Calcium Level Is Associated With Hemorrhagic Transformation After Thrombolysis. **Stroke**. 2015;46(5):1359-1361.

HA T. Et al. Toll-like receptors: new players in myocardial ischemia/reperfusion injury. **Antioxid Redox Signal** 2011;15:1875-93.

HA T. et al. Lipopolysaccharide-induced myocardial protection against ischaemia/reperfusion injury is mediated through a PI3K/Akt-dependent mechanism. **Cardiovasc Res** 2008;78:546-53.

HADOKE PW, IQBAL J, WALKER BR. Therapeutic manipulation of glucocorticoid metabolism in cardiovascular disease. **Br J Pharmacol** 2009;156:689-712.

HAMMERMAN H, Et al. Dose-dependent effects of short-term methylprednisolone on myocardial infarct extent, scar formation, and ventricular function. **Circulation**. 1983 Aug;68(2):446-52.

HEIMBURGER, RF. Injection Into Pericardial Sac And Ligation Of Coronary Artery Of The Rat. **Archives of Surgery**, v. 52, n. 6, p. 677, 1946.

HEINEKE J & MOLKENTIN JD. Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signaling pathways. **Nat Rev Mol Cell Biol** 2006;7:589-600.

HENTSCHKE V, et al. Functional capacity in a rat model of heart failure: impact of myocardial infarct size. **Experimental Physiology**. 2017;102(11):1448-1458.

HILL MF & SINGAL PK. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. **Am J Pathol** 1996;148:291-300.

HOLMES JW, BORG TK, COWEL JW. Structure and mechanics of healing myocardial infarction. *Ann Rev Biomed Eng* 2005;7:223-53.

HORI, M. & NISHIDA, K. Oxidative stress and left ventricular remodelling after myocardial infarction. **Cardiovascular Research**, v. 81, n. 3, p. 457-464, 2008.

HOZUMI T, et al. Noninvasive assessment of hemodynamic subsets in patients with acute myocardial infarction using digital color Doppler velocity profile integration and pulmonary venous flow analysis. **The American Journal of Cardiology**, v. 83, n. 7, p. 1027-1032, 1999.

HUNTER WC, et al. Propriedades mecânicas sistólicas do ventrículo esquerdo. Efeitos do volume e do estado contrátil. **Circ. Res.** 52 , 319-327. 1983.

INAMDAR, A. & INAMDAR, AJ. Heart Failure: Diagnosis, Management and Utilization. **Journal of Clinical Medicine**, v. 5, n. 7, p. 62, 2016.

IYER, RP, JUNG M, AND LINDSEY ML. MMP-9 signaling in the left ventricle following myocardial infarction. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. 2016.

JEDDI, S. et al. The Effect of Sleep Deprivation on Cardiac Function and Tolerance to Ischemia-Reperfusion Injury in Male Rats. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2015.

JOHNS T & OLSON B. Experimental myocardial infarction. A method of coronary occlusion in small animals. **Ann Surg** 1954;140:675–82.

JONES DP. Redefining oxidative stress. **Antiox Redox Signal** 2006;8:1865-79.

KARBASI-AFSHAR, R. et al. Effects of negative T wave in electrocardiography on prognosis of post-myocardial infarction patients. **ARYA Atheroscler** 2013; Volume 9.

KAUFMAN, R. et al Insuficiência Cardíaca: Análise de 12 Anos da Evolução em Internações Hospitalares e Mortalidade, *International Journal of Cardiovascular Sciences*, 2015. Disponível em: <<http://www.onlineijcs.org/sumario/54>> Acessado em: set. 2016.

KHAN H. Potential of lipoproteins as biomarkers in acute myocardial infarction. **The Anatolian Journal of Cardiology**. 2017;.

KIENZLE HM, et al. Experimental hyperphenylalaninemia provokes oxidative stress in rat brain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2002;1586(3):344-352.

KIM G. et al. Role of apoptosis-inducing factor in myocardial cell death by ischemia-reperfusion. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;309:619-24.

KISER T, et al. A Survey of Corticosteroid Dosing for Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Requiring Assisted Ventilation. *Chronic Obstructive Pulmonary Diseases: Journal of the COPD Foundation*. 2016;4(3):186-193.

KO Y. et al. Methylprednisolone protects cardiac pumping mechanics from deteriorating in lipopolysaccharide-treated rats. *Front Physiol* 2015;6:348.

KUO T, et al. Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2015;:99-126.

LAVINE, SJ. & LAVINE, JA. The Effect of Acute Hypertension on Left Ventricular Diastolic Pressures in a Canine Model of Left Ventricular Dysfunction with a Preserved Ejection Fraction and Elevated Left Ventricular Filling Pressures. *Journal of the American Society of Echocardiography*, v. 19, n. 11, p. 1350-1358, 2006.

LEENEN FH & YUAN B. Mortalidade após oclusão da artéria coronária em diferentes modelos de hipertrofia cardíaca em ratos. *Hipertensão*. 2001 Feb; 37 (2): 209-15.

LINDSEY M. et al. Matrix-dependent mechanism of neutrophil-mediated release and activation of matrix metalloproteinase 9 in myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation* 103: 2181-2187, 2001.

LLESUY SF. Introdução y especies activas de oxígeno. In: Marroni, N.P. **Estresse oxidativo e antioxidantes**, Porto Alegre, Ulbra, 2002. p. 21-32.

LOWRY OH. Rosebrough AL. Farr AL. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.

LUCAS K & MAES M. Role of the Toll Like Receptor (TLR) Radical Cycle in Chronic Inflammation: Possible Treatments Targeting the TLR4 Pathway. *Mol Neurobiol* 2013;48:190-204.

LUSTOSA, BHB, et al. Influência Do Extrato De Chá Verde Na Remodelação Cardíaca Após O Infarto Agudo Do Miocárdio. Dissertação de mestrado: Faculdade de Medicina de Botucatu. 2003.

- IYER, R P, JUNG M, and Lindsey M L. MMP-9 signaling in the left ventricle following myocardial infarction. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. 2016.
- MADIAS J & HOOD W. Effects of methylprednisolone on the ischemic damage in patients with acute myocardial infarction. **Circulation**. 1982;65(6):1106-1113.
- MANNISI JA. et al. Steroid administration after myocardial infarction promotes early infarct expansion. A study in the rat. **J Clin Invest** 1987;79:1431-39.
- MASCHERBAUER J, et al. Wedge Pressure Rather Than Left Ventricular End-Diastolic Pressure Predicts Outcome in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. **JACC: Heart Failure**. 2017;5(11):795-801.
- MARKLUND S. Handbook of methods for oxygen radical research. **Boca Rat CRC Press** 1985:243-247.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ M, MARTÍNEZ-LOZANO J, ABUD-MENDOZA C. Hyperglycemia and methylprednisolone: **Arthritis & Rheumatism**. 2012;64(11):3822-3823.
- MCCUBREY JA et al. Reactive oxygen species-induced activation of the MAP kinase signaling pathways. **Antioxid Redox Signal**. 2006 Sep-Oct; 8(9-10):1775-89.
- MEECHAN JG, WELBURY RR. Metabolic responses to oral surgery under local anesthesia and sedation with intravenous midazolam: the effects of two different local anesthetics. **Anesth Prog**. 1992;39(1-2):9-12.
- MEDZHITOV R & JANEWAY C Jr. Innate immunity. **N Engl J Med**2000;343:338-44.
- MELO MGD. Et al. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena** Vol. 8, Num. 4 2012.
- MERCIER JC. et al. Two-dimensional echocardiographic assessment of left ventricular volumes and ejection fraction in children. **Circulation** 1982;65:962-9.
- MESQUITA E, JORGE A. Insuficiência cardíaca com fração de ejeção normal: novos critérios diagnósticos e avanços fisiopatológicos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 2009;93(2):180-187.

MILL, JG. et al. The early administration of growth hormone results in deleterious effects on ventricular remodeling after acute myocardial infarction. **Arq. Bras. Cardiol.** . 2005, vol.84, n.2,

MINICUCCI M, et al. Periostin as a modulator of chronic cardiac remodeling after myocardial infarction. **Clinics**. 2013;68(10):1344-1349.

MIRANDA, A. et al. Time course of echocardiographic and electrocardiographic parameters in myocardial infarct in rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, n. 4, p. 639-648, 2007.

MISRA MK. et al. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. **Med Sci Monit** 2009;15:209-19.

MITREGA, KA. et al. Cardiomyopathy development protection after myocardial infarction in rats: Successful competition for major dihydropyridines' common metabolite against captopril. **PLOS ONE**, v. 12, n. 6, p. e0179633, 2017.

MORRISON J. et al. Modification of myocardial injury in man by corticosteroid administration. **Circulation** 53 (suppl): 1-200, 1976.

MOVAHED, M. et al. Poor correlation between estimated ejection fraction measured by echocardiography with ejection fraction estimated by cardiac catheterization in patients awaiting cardiac transplantation. **Cardiovascular Revascularization Medicine**, v. 12, n. 3, p. e45-e46, 2011.

MUNSHI A, RR. Mitogen-Activated Protein Kinases and Their Role in Radiation Response. **Genes & Cancer**. 2013;4(9-10):401-408.

MURASE H, et al. Inhibition of DPP-4 reduces acute mortality after myocardial infarction with restoration of autophagic response in type 2 diabetic rats. **Cardiovascular Diabetology**. 2015;14(1).

MUSLIN AJ. MAPK signalling in cardiovascular health and disease: molecular mechanisms and therapeutic targets. **Clin Sci (Lond)**. 115(7):203-18. 2008.

NG, MKC. & CELERMAJER DS. "Glucocorticoid Treatment and Cardiovascular Disease." **Heart** 90.8 (2004): 829–830.

NOZAWA E. et al. Performance of twodimensional Doppler echocardiography for the assessment of infarct size and left ventricular function in rats. **Braz J Med Biol Res** 2006;39:687-95.

OAKLEY RH, et al. Glucocorticoid signaling in the heart: A cardiomyocyte perspective. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 153, p. 27-34, 2015.

OAKLEY, R. & CIDLOWSKI, J. The biology of the glucocorticoid receptor: New signaling mechanisms in health and disease. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 132, n. 5, p. 1033-1044, 2013.

OKOSHI K. & TUCCI PJ F. Mecanismo de Frank-Starling e a Primeira Derivada Temporal de Pressão Ventricular (DP/DT). **Arq Bras Cardiol** volume 66, (nº 4), 1996.

OLIVETTI G, et al. Cellular Basis of Chronic Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction in Rats. **Circulation Research** Vol 68, No. 1991.

OPITZ CF, et al. Arritmias e morte após oclusão da artéria coronária no rato: monitorização contínua de ECG telemétrico em ratos conscientes e não isolados. **Circulação**. 1995.

PACHECO D. et al. Chronic heart failure modifies respiratory mechanics in rats: a randomized controlled trial. **Brazilian Journal of Physical Therapy**. 2016;20(4):320-327.

PACHER, P. et al. Measurement of cardiac function using pressure–volume conductance catheter technique in mice and rats. **Nature Protocols**, v. 3, n. 9, p. 1422-1434, 2008.

PARMESHWAR BK. Et al. Toll-Like Receptor 4 Inhibition Improves Oxidative Stress and Mitochondrial Health in Isoproterenol-Induced Cardiac Hypertrophy in Rats. **Front. Immunol.**, 22 June 2017.

PEREZ A et al. Glucocorticoid-induced hyperglycemia. **J Diabetes**. 2014;6:9–20.

PERON AP. et al. Mechanical function is normal in remanent myocardium during the healing period of myocardial infarction despite congestive heart failure. **Arq Bras Cardiol** 2006;86:105-12.

PFEFFER MA & BRAUNWALD E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. **Circulation** 1990;81:1161-72.

PFEFFER MA. Et al. P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. **Circulation**. 1985 Aug;72(2):406-12.

PHATHARAJAREE, W. ARINTAYA, P. AND NIPON, C. "Matrix Metalloproteinases and Myocardial Infarction ". **A Canadian Journal of Cardiology** 23.9 (2007): 727-733.

PINGITORE A, et al. Efeitos agudos da terapia de reposição de triiodotironina (T3) em pacientes com insuficiência cardíaca crônica e síndrome de baixa T3: estudo randomizado e controlado por placebo. **J Clin Endocrinol Metab**. 2008; 93 (4): 1351-1358.

PINTO J. Electrical remodeling in ischemia and infarction. **Cardiovascular Research**. 1999;42(2):284-297.

POLEGATO B, et al. Association between Functional Variables and Heart Failure after Myocardial Infarction in Rats. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 2016.

POLJSAK, B. Strategies for Reducing or Preventing the Generation of Oxidative Stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2011, 194586, 2011.

PRASTARO M. et al. Expert Review on the Prognostic Role of Echocardiography after Acute Myocardial Infarction. **Journal of the American Society of Echocardiography**. 2017;30(5):431-443.e2.

PREVIDELLI, A. Os estados brasileiros onde mais se morre por infarto, **Revista EXAME**, 29 de maio de 2013. Disponível em: <<http://exame.abril.com.br/brasil/os-estados-onde-mais-se-morre-por-infarto/>> Acessado em: set. 2016.

RAMANI, GV. Et al. Chronic Heart Failure: Contemporary Diagnosis and Management. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 85, n. 2, p. 180-195, 2010.

REIBIS, R. et al. Improvement of left ventricular ejection fraction in revascularized postmyocardial patients: indication for statistical fallacy. **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, 2017.

REISS, K. et al. ANG II receptors, c-myc, and c-jun in myocytes after myocardial infarction and ventricular failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 264, n. 3, p. H760-H769, 1993.

REN R. et al. Dual role for glucocorticoids in cardiomyocyte hypertrophy and apoptosis. **Endocrinol** 2012;153:5346-60.

ROBERTS R, DEMELLO V, SOBEL BE. Deleterious effects of methylprednisolone in patients with myocardial infarction. **Circulation** 53 (suppl): 1-204, 1976.

RUZZIN J, WAGMAN AS, JENSEN J. Glucocorticoid-induced insulin resistance in skeletal muscles: defects in insulin signalling and the effects of a selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor. **Diabetologia**. 2005;48:2119–2130.

SALO, L. et al. Control of cardiac rate, contractility, and atrioventricular conduction by medullary raphé neurons in anesthetized rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 296, n. 2, p. H318-H324, 2009.

SALVADOR, M. & HENRIQUES, JAP. Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. Canoas. Ed Ulbra. 2004.

SANTIAGO, M.B. et al. Efeito da administração do Allium sativum sobre as alterações cardiovasculares de ratos Wistar com infarto do miocárdio. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**,2009;30(1):75-82.

SANTOS CL, RAFAHO A, BOSQUEIRO JB. Efeitos da administração de dexametasona in vivo sobre glicemia, insulinemia e substratos circulantes são dependentes do tempo de tratamento. **Biosci. J.** 2007.

SANTOS RP. Et al. Temperatura de polimerização da resina acrílica odontológica na medula espinhal de ratos Wistar. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 2012. v.64, n.4, p.865-872.

SCHENKEL PC. Et al. Redox-sensitive prosurvival and proapoptotic protein expression in the myocardial remodeling post-infarction in rats. **Mol Cell Biochem.** 2010 Aug; 341(1-2):1-8.

SCHENKEL PC. et al. Time course of hydrogen peroxide-thioredoxin balance and its influence on the intracellular signalling in myocardial infarction. **Exp Physiol** 2012;97:741-9.

SEROPIAN I, et al. Anti-Inflammatory Strategies for Ventricular Remodeling Following ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction. **Journal of the American College of Cardiology.** 2014;63(16):1593-1603.

SHROFF SG, JANICKI JS, WEBER KT. Dinâmica sistólica do ventrículo esquerdo em termos de propriedades mecânicas da câmara. **Sou. J. Physiol.** 245. 1983.

SIA Y, et al. Improved post-myocardial infarction survival with probucol in rats: Effects on left ventricular function, morphology, cardiac oxidative stress and cytokine expression. **Journal of the American College of Cardiology**. 2002;39(1):148-156.

SILVERTHORN, DU. Fisiologia humana: uma abordagem integrada. 7. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2017.

SINGAL, PK. & KHAPER, NF et al. Oxidative stress in congestive heart failure. **Current Cardiology Reports**, v. 2, n. 3, p. 206-211, 2000.

SINGER M. The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. **Virulence**. 2013;5(1):66-72.

SINGH N. et al. Oxidative stress and heart failure. **Mol Cell Biochem** 1995;147:77-81.

SJOBLOM J. et al. Evolution of Left Ventricular Ejection Fraction After Acute Myocardial Infarction: Implications for Implantable Cardioverter-Defibrillator Eligibility. **Circulation**. 2014;130(9):743-748.

SMITH, JN. et al. Diagnosis and Management of Acute Coronary Syndrome: An Evidence-Based Update. **The Journal of the American Board of Family Medicine**, v. 28, n. 2, p. 283-293, 2015.

SUI J. et al. Circadian Impact of High-Dose Methylprednisolone Pulse Therapy on the Acute Phase of Glucose. **Diabetes: Clinical Physiology and Treatment**. 2014.

TAMEZ-PÉREZ H. Steroid hyperglycemia: Prevalence, early detection and therapeutic recommendations: A narrative review. **World Journal of Diabetes**. 2015;6(8):1073.

TAVARES AM. Et al. Early loss of cardiac function in acute myocardial infarction is associated with redox imbalance. **Exp Clin Cardiol**. 2012 Winter;17(4):263-7.

TEIXEIRA RB, et al. Long-term T3 and T4 treatment as an alternative to aerobic exercise training in improving cardiac function post-myocardial infarction. **Biomed Pharmacother**. 2017 Nov;95:965-973.

TORSONI. Et al. Molecular and functional resistance to insulin in hypothalamus of rats exposed to cold. **Am. J. Physiol., Baltimore**, v. 285, n. 1 48-1, p. E216–223, 2003.

TRINDADE D, et al. Role of renin-angiotensin system in development of heart failure induced by myocardial infarction in rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. 2007;79(2):250-259.

TRIVIERI MG, et al. As elevações específicas do cardíaco no hormônio da tireóide aumentam a contratilidade e previnem a disfunção cardíaca induzida por sobrecarga de pressão. **Proc Natl Acad Sci USA**. 2006; 103 (15): 6043-6048.

TU G, et al. Glucocorticoid attenuates acute lung injury through induction of type 2 macrophage. **Journal of Translational Medicine**. 2017;15(1).

VARVAROUSI, G. et al. Glucocorticoids as an Emerging Pharmacologic Agent for Cardiopulmonary Resuscitation. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 28, n. 5, p. 477-488, 2014.

VASAN R. Diastolic heart failure. **BMJ**. 2003;327(7425):1181-1182.

VÁZQUEZ JP, et al. Exercise Echocardiography to Differentiate Dilated Cardiomyopathy from Ischemic Left Ventricular Dysfunction. **Rev Esp Cardiol**. 2003;56:57-64 - Vol. 56 Num.01.

VEIGA E, et al. Repercussões cardíacas após infarto do miocárdio em ratas submetidas previamente a exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 2013;100(1):37-43.

VYDEN JK. et al. Effects of methylprednisolone administration in acute myocardial infarction. **Journal of Cardiol** 1974;34:677-86.

XIE, M. BURCHFIELD, JS. HILL, JA. Pathological Ventricular Remodeling: Therapies: Part 2 of 2. **Circulation**, v. 128, n. 9, p. 1021-1030, 2013

WALKER, BR. Glucocorticoids and Cardiovascular Disease. **European Journal of Endocrinology**, v. 157, n. 5, p. 545-559, 2007.

WANG D. et al. Kaempferide Protects against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury through Activation of the PI3K/Akt/GSK-3 β Pathway. **Mediators of Inflammation**. 2017;2017:1-11.

WANG, Y. et al. Effects of propofol on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats with type-2 diabetes mellitus. **Biomedical Reports**, v. 6, n. 1, p. 69-74, 2016.

WESTMAN P, et al. Inflammation as a Driver of Adverse Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction. **Journal of the American College of Cardiology**. 2016;67(17):2050-2060.

WHO – World Health Organization. **Cardiovascular diseases (CVDs)**, 2016. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>> Acessado em: set. 2016.

YANG R, et al. O hormônio do crescimento melhora o desempenho cardíaco na insuficiência cardíaca experimental. **Circulação** 1995; 92: 262-7.

ZAMAN, S. & KOVOOR, P. Sudden Cardiac Death Early After Myocardial Infarction: Pathogenesis, Risk Stratification, and Primary Prevention. **Circulation**, v. 129, n. 23, p. 2426-2435, 2014.

ZAMORA E, et al. Weight Loss in Obese Patients With Heart Failure. **Journal of the American Heart Association**. 2016;5(3):e002468.

ZHANG, HJ. et al. Activation of Matrix Metalloproteinase-2 by Overexpression of Manganese Superoxide Dismutase in Human Breast Cancer MCF-7 Cells Involves Reactive Oxygen Species. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 23, p. 20919-20926, 2002.

ZHANG XM, et al. Preliminary experimental research on glucocorticoid for treatment of nitrogen dioxide induced acute pulmonary edema in rats. **Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi**. 2010 Nov;28(11):822-6.

ZORNOFF, L. et al. Remodelação ventricular pós-infarto do miocárdio: conceitos e implicações clínicas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, n. 2, 2009.