

Resposta Hipertrofica da Associação de Hormônio Tireoidiano e de Exercício Físico no Coração de Ratos

Hypertrophic response of the Association of Thyroid Hormone and Exercise in the Heart of Rats

Fernanda Rodrigues de Souza, Elmiro Santos Resende, Leandro Lopes, Alexandre Gonçalves, Rafaella Chagas, Thiago Fidale, Poliana Rodrigues

UFU - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG - Brasil

Resumo

Fundamento: A hipertrofia cardíaca constitui um dos componentes do remodelamento cardíaco e ocorre em resposta a aumento da atividade ou da sobrecarga funcional do coração.

Objetivo: Avaliar a resposta hipertrofica da associação do hormônio tireoidiano e do exercício físico no coração de ratos.

Método: Foram utilizados 37 ratos da linhagem Wistar, machos, adultos, distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: controle, hormônio (HT), exercício (E), hormônio tireoidiano e exercício (H + E). O grupo hormônio recebeu diariamente levotiroxina sódica por gavagem, na dose de 20 µg de hormônio tireoidiano/100 g de peso corporal; o grupo exercício realizou natação cinco vezes por semana, com peso adicional correspondente a 20% do peso corporal, durante seis semanas; no grupo H + E foram aplicados simultaneamente os tratamentos dos grupos HT e E. A estatística utilizada foi a análise de variância complementada, quando necessário, pelo teste de Tukey e o teste de correlação de Pearson.

Resultados: O T4 foi mais elevado nos grupos HT e H + E. O peso total do coração foi maior nos grupos que receberam hormônio tireoidiano, e o peso ventricular esquerdo foi maior no grupo HT. O diâmetro transversal dos cardiomiócitos aumentou nos grupos HT, E e H + E. A porcentagem de colágeno foi maior nos grupos E e H + E. A análise da correlação entre as variáveis apresentou distintas respostas.

Conclusão: A associação do hormônio tireoidiano com exercício físico de elevada intensidade produziu hipertrofia cardíaca e gerou um padrão hipertrofico não correlacionado diretamente ao grau de fibrose. (Arq Bras Cardiol. 2014; 102(2):187-191)

Palavras-chave: Hormônios Tireóideos; Exercício; Ratos; Coração; Hipertireoidismo.

Abstract

Background: Cardiac hypertrophy is a component of cardiac remodeling occurring in response to an increase of the activity or functional overload of the heart.

Objective: Assess hypertrophic response of the association of thyroid hormone and exercise in the rat heart.

Methods: We used 37 Wistar rats, male, adults were randomly divided into four groups: control, hormone (TH), exercise (E), thyroid hormone and exercise (H + E); the group received daily hormone levothyroxine sodium by gavage at a dose of 20 µg thyroid hormone/100g body weight, the exercise group took swimming five times a week, with additional weight corresponding to 20% of body weight for six weeks; in group H + E were applied simultaneously TH treatment groups and E. The statistics used was analysis of variance, where appropriate, by Tukey test and Pearson correlation test.

Results: The T4 was greater in groups TH and H + E. The total weight of the heart was greater in patients who received thyroid hormone and left ventricular weight was greater in the TH group. The transverse diameter of cardiomyocytes increased in groups TH, E and H + E. The percentage of collagen was greater in groups E and H + E Correlation analysis between variables showed distinct responses.

Conclusion: The association of thyroid hormone with high-intensity exercise produced cardiac hypertrophy, and generated a standard hypertrophy not directly correlated to the degree of fibrosis. (Arq Bras Cardiol. 2014; 102(2):187-191)

Keywords: Thyroid Hormones; Exercise; Rats; Heart; Hyperthyroidism.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Fernanda Rodrigues de Souza •
Rua Cachoeira Dourada, 115, Granada. CEP 38540-410, Uberlândia, MG - Brasil
E-mail: nandaeduca@yahoo.com.br
Artigo recebido em 06/06/13; revisado em 20/09/13; aceito em 26/09/13.

DOI: 10.5935/abc.20130243

Introdução

O hormônio tireoideano e o exercício físico produzem elevação geral do metabolismo basal e, como consequência, ocorre maior consumo de oxigênio pelos tecidos. Essa demanda aumentada é suprida, em parte, pela elevação da frequência cardíaca, da pressão arterial, tanto sistólica quanto diastólica, e do débito cardíaco¹.

Testes clínicos e experimentais sugerem que as adaptações cardíacas são resultados de efeitos diretos do hormônio sobre o coração e os vasos, e indiretamente decorrem da elevação sérica de catecolaminas².

A hipertrofia cardíaca é um dos componentes do remodelamento cardíaco que implica modificações da estrutura geométrica, da composição bioquímica, da geração e condução elétrica, do volume das células musculares, da organização da matriz de colágeno e dos vasos sanguíneos. Ela decorre de alterações de ordem genética, humoral e molecular que podem surgir espontaneamente ou ser induzidas por mecanismos estressores de diferentes tipos e com formas variadas de ação³.

O treinamento físico, dentro de limites razoáveis, induz hipertrofia cardíaca do tipo fisiológico, produzindo adaptações que melhoram o desempenho do sistema cardiovascular, permitindo ao coração suportar aumentos da demanda durante o exercício. A hipertrofia cardíaca é acompanhada por incremento do tempo de enchimento ventricular e da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, com consequente diminuição da frequência cardíaca de repouso^{4,5}.

As principais diferenças que determinam o padrão de hipertrofia cardíaca são o tipo e a duração do estímulo que o coração recebe. Em situações nas quais os atletas recebem sobrecargas de pressão apenas durante a atividade física, a hipertrofia cardíaca é, em geral, fisiológica. Diferentemente, em situações patológicas o coração está exposto continuamente à sobrecarga funcional que ocorre por um longo tempo, determinando hipertrofia patológica⁶.

O hormônio tireoideano em excesso pode promover esses dois padrões de hipertrofia descritos (hipertrofia cardíaca mista). Essa resposta parece decorrer, em parte, da sobrecarga de volume em função do aumento do retorno venoso produzido pelo HT e também dos efeitos diretos do hormônio^{7,8}.

Objetivo

Avaliar a resposta hipertrófica da associação do hormônio tireoideano e do exercício físico no coração de ratos.

Método

Os procedimentos foram realizados após aprovação do protocolo de pesquisa pelo comitê de ética na utilização de animais da instituição, sob os números 077/10. O estudo conduzido foi do tipo experimental.

Foram utilizados 37 ratos da linhagem Wistar, machos, adultos, com peso de aproximadamente 250 g, provenientes do laboratório de experimentação animal (Cebea-UFU). As condições ambientais para todos os grupos foram

semelhantes, no que se refere à temperatura, umidade relativa do ar, nível de ruído e luminosidade, de conformidade com o ritmo circadiano. Os ratos foram alimentados com ração e água *ad libitum*.

Os ratos foram pesados e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos identificados assim: controle (C), oito animais; hormônio (HT), 10 animais; exercício (E), nove animais; hormônio e exercício (H + E), 10 animais. Depois de distribuídos, os animais passaram por um período de adaptação de 15 dias no laboratório antes do início do experimento.

O tipo de exercício utilizado foi de caráter anaeróbio. Para o treinamento, foi utilizado um vidro com 250 mm de diâmetro⁹. A altura da coluna de água no vidro correspondeu a 150% do comprimento corporal do rato. A temperatura da água foi mantida entre 30-32°C por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura corporal do animal¹⁰. A carga utilizada no treinamento foi correspondente a 20% do peso corporal do rato, por ser considerada uma sobrecarga que aumenta a concentração de lactato¹¹. A referida carga de trabalho consistiu em blocos de chumbo fixados em um colete na região anterior do tronco dos ratos. A carga foi reajustada semanalmente, conforme a variação do peso dos animais.

O período de treinamento foi iniciado após sete dias de adaptação ao meio líquido. O treinamento foi realizado em seis semanas e consistiu em cinco sessões semanais de natação limitadas pela exaustão.

O hormônio foi administrado por meio de sondagem orogástrica realizada uma vez ao dia, durante seis semanas. A dose de hormônio tireoideano foi de 20 µg/100 g de peso corporal de uma suspensão de T4 a 0,1% que foi obtida a partir de 10 comprimidos de 100 µg de T4 diluídos em 10 ml de água destilada¹².

Após as seis semanas de experimento, os ratos foram sacrificados sob anestesia, procedendo-se à abertura do tórax para a coleta do sangue por punção direta cardíaca e retirada do coração. A confirmação da exposição a níveis elevados do hormônio tireoideano foi realizada pela dosagem sérica de T3 e T4 pelo método ELISA.

O coração foi pesado e formolizado, processo que teve a duração de 24 horas. Após a formolização, foram retirados os átrios e separados os ventrículos para pesagem; a seguir, o material foi encaminhado para processamento histológico.

Para analisar os diâmetros transversais dos cardiomiócitos, as lâminas foram coradas com eosina/hematoxilina, e, para quantificar o colágeno, as lâminas foram coradas com picrossírius. Foram obtidos cinco cortes de cada ventrículo e medidos os menores diâmetros de cinco células (com núcleo visível) em cinco campos diferentes. Para as medidas foram realizadas análises em imagens digitais capturadas aleatoriamente em microscópio binocular Olympus BX40 com objetiva de 40×. Para a mensuração dos valores dos diâmetros dos cardiomiócitos foi utilizado o *software* HL Image (Western Vision).

A quantificação de colágeno foi feita por técnica de supressão de *pixels*, sendo obtidos três cortes de cada ventrículo e selecionados cinco campos diferentes de cada corte histológico. Foi sugerida a área situada na

porção média entre o endocárdio e o epicárdio visceral. A medida foi realizada pelo mesmo observador, que não teve conhecimento do grupo a que pertencia a lâmina examinada.

Para comparar o nível hormonal, o peso total do coração, o peso ventricular esquerdo, o diâmetro transversal dos cardiomiócitos e a porcentagem de colágeno entre os grupos após o tratamento, utilizou-se a análise de variância (Anova) complementada, quando necessário, pelo teste de Tukey. Para analisar a existência ou não de correlação entre peso total do coração, peso ventricular esquerdo, diâmetro transversal dos cardiomiócitos e porcentagem de colágeno utilizou-se o teste de correlação de Pearson.

Resultados

O T4 sérico foi mais elevado nos grupos HT e H + E, em comparação aos grupos C e E. Os valores de T3 não diferiram entre os grupos. Os resultados encontrados são demonstrados na Tabela 1.

Os resultados referentes ao peso total do coração (Pcor), peso ventricular esquerdo (PVE), diâmetro transversal dos cardiomiócitos (DTC) e porcentagem de colágeno são demonstrados na Tabela 2.

O Pcor foi maior nos grupos HT e H + E, em comparação aos grupos C e E. O PVE foi maior no grupo HT em comparação ao E. O DTC do ventrículo esquerdo foi maior nos grupos HT, E e H + E em comparação a C, sendo observados os maiores valores no grupo HT.

A análise da correlação entre as variáveis Pcor, PVE, DTC e porcentagem de colágeno dos grupos mostrou respostas distintas. As variáveis no grupo C mostraram correlação positiva entre o PVE e o Pcor ($r = 0,74$;

$p < 0,05$). As demais comparações não mostraram significância.

Aplicadas as mesmas análises ao grupo HT, encontrou-se correlação positiva apenas entre o DTC e o Pcor ($r = 0,70$; $p < 0,05$).

Já no grupo E houve correlação positiva entre o PVE e o Pcor ($r = 0,67$; $p < 0,05$) e entre a porcentagem de colágeno e PVE ($r = 0,79$; $p < 0,05$). Houve ainda correlação negativa entre DTC e PVE ($r = 0,62$; $p < 0,05$) e entre a porcentagem de colágeno e DTC ($r = 0,67$; $p < 0,05$).

No grupo H + E foi encontrada correlação positiva entre PVE e Pcor ($r = 0,80$; $p < 0,05$) e entre DTC e PVE ($r = 0,71$; $p < 0,05$).

Discussão

Vários modelos experimentais têm sido utilizados no estudo que envolve a remodelação cardíaca. O presente experimento foi conduzido com a finalidade de verificar os aspectos obtidos na interação entre a estimulação produzida pelo hormônio tireoidiano e pelo exercício anaeróbio na remodelação cardíaca.

A exposição dos animais a concentrações aumentadas de hormônio tireoidiano foi obtida pela detecção de níveis de T4 significativamente mais elevados no final do período experimental nos grupos que receberam levotiroxina sódica (51% grupo HT e 37% grupo H + E), em comparação ao grupo C. Os valores de T3 não diferiram entre os grupos após o tratamento.

O comportamento do peso total do coração, peso ventricular esquerdo, diâmetro transversal e porcentagem de colágeno dos grupos C, HT e E corrobora os resultados encontrados na literatura¹³⁻¹⁵.

Tabela 1 - Média e desvio-padrão da concentração sérica de T3 e T4 após seis semanas de intervenção

Nível hormonal	Grupos			
	Controle	Hormônio	Exercício	H + E
T3 (ng/ml)	2,67 ± 1,31	2,91 ± 0,99	2,45 ± 0,9	2,89 ± 1,89
T4 (µg/dl)	9,08 ± 0,58	13,76 ± 0,56*	9,81 ± 0,36	12,47 ± 0,29*

* $p < 0,05$ (ANOVA-Tukey).

Tabela 2 - Média e desvio-padrão do peso do coração, peso ventricular esquerdo e diâmetro transversal dos cardiomiócitos após seis semanas de intervenção

Variável analisada	Grupos			
	Controle	Hormônio	Exercício	H + E
Peso do coração (g)	1,64 ± 0,18	1,80 ± 0,1*	1,56 ± 0,11	1,88 ± 0,17*
Peso do VE (g)	0,71 ± 0,07	0,79 ± 0,06*	0,70 ± 0,06	0,77 ± 0,07
DTC (µm)	11,6 ± 0,63	13,5 ± 0,77*	12,7 ± 0,54*	12,2 ± 0,63*
Colágeno (%)	1,38 ± 0,28	1,16 ± 0,24	1,51 ± 0,33*	2,12 ± 0,43*

* $p < 0,05$ (ANOVA-Tukey). DTC: Diâmetro transversal dos cardiomiócitos; VE: Ventrículo esquerdo.

A análise detalhada dos resultados da hipertrofia obtida no grupo que associou o exercício físico e o hormônio tireoidiano desperta a atenção sobre duas questões. A primeira diz respeito ao modelo de hipertrofia, e a segunda se refere à ausência de efeito hipertrófico somatório. Como já comentado, as hipertrofias fisiológicas mantêm equilibradas as relações existentes entre as fibras musculares, a estrutura de colágeno e a vascularização miocárdica. Esse parece ser o padrão mais encontrado nas hipertrofias cardíacas derivadas do exercício físico e do excesso de hormônio tireoidiano¹⁶.

Algumas vias que, ativadas, produzem hipertrofia cardíaca fisiológica estão envolvidas nas ações cardiovasculares do exercício físico e do hormônio tireoidiano. Uma delas é a que envolve o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), que se liga ao seu receptor de tirosinaquinase (IGF-1R) ativando e autofosforilando resíduos de tirosina que promovem o recrutamento e a ativação de uma lipideoquinase, PI3K (fosfatidilinositol-3 quinase). Esses processos iniciam a ativação de vias intracelulares que produzem o aumento da síntese proteica e a conseqüente hipertrofia cardíaca^{17,18}.

Para explicar a ausência do efeito hipertrófico somatório no grupo H + E, pode-se sugerir que tanto o exercício físico quanto o hormônio tireoidiano tenham induzido hipertrofia utilizando a mesma via indutora, ou seja, a da PI3K-AKT-mTOR, via estreitamente relacionada à hipertrofia cardíaca fisiológica¹⁹. O modelo experimental utilizado no presente estudo induziu hipertireoidismo pelo período aproximado de 4,4% da vida esperada do animal (34 meses) e, como a ativação da via da PI3K-AKT-mTOR se dá em curto prazo de tempo, essa hipótese se torna bastante plausível. Uma alternativa a essa explicação poderia ser a de que o somatório dos estímulos para a hipertrofia cardíaca tenha produzido um esgotamento dos mecanismos hipertróficos e, assim, mesmo eventualmente atuando por vias diferentes, tivessem atingido um platô de resposta impedindo maior crescimento muscular cardíaco no grupo H + E.

Analisando as correlações entre as variáveis estudadas, verificou-se que a exposição ao hormônio tireoidiano produziu aumento do peso do coração de forma diretamente proporcional ao aumento do diâmetro transversal dos cardiomiócitos. Essa correlação encontrada é positiva e forte. Tal fato parece estar diretamente vinculado à não detecção de acúmulo de colágeno nos corações do grupo HT, indicando que o aumento do peso do coração é dependente do aumento do diâmetro transversal dos cardiomiócitos. Na literatura consultada, não foi encontrada qualquer referência a esse padrão de hipertrofia.

A mesma análise aplicada ao grupo E identificou que houve correlação forte e positiva entre peso do coração e peso ventricular esquerdo e entre colágeno e peso ventricular esquerdo. Houve ainda correlação negativa entre diâmetro transversal dos cardiomiócitos e peso ventricular esquerdo e entre colágeno e diâmetro transversal dos cardiomiócitos.

A correlação detectada entre o peso do coração e o peso ventricular esquerdo restabelece o padrão obtido no grupo C e indica que o aumento do colágeno pode estar diretamente implicado no aumento do peso ventricular esquerdo. Ao mesmo tempo, a correlação negativa entre diâmetro transversal dos cardiomiócitos e peso ventricular esquerdo e entre porcentagem de colágeno e diâmetro transversal dos cardiomiócitos reforça essa hipótese e parece indicar que a participação dos cardiomiócitos tenha um papel menos importante na hipertrofia cardíaca, embora eles apresentem diâmetro transversal dos cardiomiócitos maior do que o grupo C.

A associação do exercício ao hormônio manteve a correlação positiva entre o peso ventricular esquerdo e o peso do coração e entre o diâmetro transversal dos cardiomiócitos e o peso ventricular esquerdo, embora nenhuma correlação tenha sido encontrada envolvendo o colágeno. Esse resultado é interessante, pois o somatório dos efeitos parece reduzir o acúmulo de colágeno, fato que pode ter relevância clínica e precisa ser mais bem estudado em futuros modelos experimentais.

Conclusão

A associação do hormônio tireoidiano com exercício físico de elevada intensidade produziu hipertrofia cardíaca caracterizada pelo aumento do peso do coração e diâmetro transversal dos cardiomiócitos, sem aumento concomitante do ventrículo esquerdo. Essa associação gerou um padrão hipertrófico não correlacionado diretamente ao grau de fibrose.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual: Souza FR, Resende ES; Obtenção de dados, Análise estatística e Obtenção de financiamento: Souza FR; Análise e interpretação dos dados: Souza FR, Lopes L, Gonçalves A; Redação do manuscrito: Souza FR, Chagas R, Fidale T, Rodrigues P.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela CAPES.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Fernanda Rodrigues de Souza pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Referências

1. Artur C, Guyton MD. Tratado de fisiologia médica. 9ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.
2. Roffi M, Cattaneo F, Topol EJ. Thyrotoxicosis and the cardiovascular system: subtle but serious effects. *Cleve Clin J Med*. 2003;70(1):57-63.
3. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling – concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. J Am Coll Cardiol*. 2000;35(3):569-82.
4. Vassalo DV, Lima EG. Contratilidade miocárdica: aspectos básicos e clínicos. São Paulo: BYK; 1993.
5. Evangelista FS, Brum PC, Krieger JE. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36(12):1751-9.
6. Faggard RH. Impact of different sports and training on cardiac structure and function. *Cardiol Clin*. 1997; 15(3):397-412.
7. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med*. 2001;344(7):501-9.
8. Dilmann W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. *Heart Fail Rev*. 2010;15(2):125-32.
9. Rogatto GP, Luciano E. Efeitos do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de carboidratos. *Rev bras ativ fis saúde*. 2001;6(2):39-46.
10. Harri M, Kuusela P. Is swimming exercise or cold exposure for rats? *Acta Physiol Scand*. 1986;126(2):189-97.
11. Manchado FB, Gobatto CA, Contarteze RV, Papoti M, Mello MA. Máxima fase estável de lactato é ergometrodependente em modelo experimental utilizando ratos. *Rev Bras Med Esporte*. 2006;12(5):259-62.
12. Engelman MF, Guidugli Neto J, Andrade CH, Hernandez R, Goulart LB. Estudo morfométrico do fígado de ratos submetidos a doses supra-fisiológicas de tiroxina. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2001;45(2):173-9.
13. Olivetti G, Cigola E, Maestri R, Lagrasta C, Corradi D, Quaini F. Recent advances in cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res*. 2000;45(1):68-75.
14. Colan SD. Mechanics of left ventricular systolic and diastolic function in physiologic hypertrophy of the athlete's heart. *Cardiol Clin*. 1997;15(3):355-72.
15. Shapiro LM. The morphologic consequences of systemic training. *Cardiol Clin*. 1997;15(3):373-9.
16. Ojamaa K. Signaling mechanisms in thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy. *Vasc Pharm*. 2010;52(3-4):113-9.
17. Kim J, Wende AR, Sena S, Theobald HA, Soto J, Sloan C, et al. Insulin-like growth factor I receptor signaling is required for exercise-induced cardiac hypertrophy. *Mol Endocrinol*. 2008;22(11):2531-43.
18. Ikeda H, Shiojima I, Ozasa Y, Toshida M, Holzenberger M, Kahn CR, et al. Interaction of myocardial insulin receptor and IGF receptor signaling in exercise-induced cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*. 2009;47(5):664-75.
19. Dorn II GW. The fuzzy logic of physiological cardiac hypertrophy. *Hypertension*. 2007;49(5):962-970.