

Amanda de Almeida Silva

**Repercussões Cardíacas em Camundongos Submetidos à
Estenose Aórtica e Tratados com Oxalato de Sódio**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Fisiopatologia Experimental
Orientadora: Profa. Dra. Maria Claudia
Costa Irigoyen

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018, de 03 de outubro de 2011.

A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2023

Amanda de Almeida Silva

**Repercussões Cardíacas em Camundongos Submetidos à
Estenose Aórtica e Tratados com Oxalato de Sódio**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Fisiopatologia Experimental
Orientadora: Profa. Dra. Maria Claudia
Costa Irigoyen

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018, de 03 de outubro de 2011.

A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Amanda de Almeida
Repercussões Cardíacas em Camundongos Submetidos à
Estenose Aórtica e Tratados com Oxalato de Sódio /
Amanda de Almeida Silva. -- São Paulo, 2023.
Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Fisiopatologia Experimental.
Orientadora: Maria Claudia Costa Irigoyen.

Descritores: 1.Estenose da valva aórtica
2.Hipertensão 3.Hipertrofia ventricular esquerda
4.Insuficiência cardíaca 5.Doença renal crônica
6.Síndrome cardiorenal

USP/FM/DBD-405/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

*Aos meus pais Neusa Francisca e Paulo Henrique pelo amor incondicional
Meu irmão Vitor pelo apoio
e por sempre acreditarem no meu potencial.*

Agradecimentos

Agradeço a Profa. Dra. Maria Cláudia Irigoyen pela orientação, conselhos, oportunidades dentro do laboratório, pelas reuniões científicas, auxílio nos congressos e eventos científicos e por todo carinho e suporte ao longo do mestrado.

Ao Dr. Leonardo Jensen por ter me ensinado a fazer a aquisição e análise de imagens ecocardiográficas, pelos conselhos e pelas reuniões científicas desde a minha iniciação científica, por toda expertise e parceria que me proporcionou.

A Dra. Juliana Marques pela ajuda na realização dos experimentos e processamento dos dados, até mesmo nos finais de semana e feriados, ensinamentos e discussões sobre estatística, discussões sobre os dados de nossas pesquisas e por todo carinho e parceria.

Ao Dr. Bruno Nascimento pelo processamento dos dados do sistema nervoso autônomo e sensibilidade barorreflexa, pela parceria e pelas discussões científicas.

Ao Leandro Ezequiel por ter realizado as cirurgias TAC, pelos conselhos, pelo apoio e parceria, pelo auxílio nos experimentos e por todo o trabalho na histologia.

Ao Maikon Barbosa por ter feito as canulações e me auxiliado no registro dos animais e em outros experimentos e pelo apoio e parceria.

Ao Dr. Bruno Durante por todo auxílio e ensinamentos sobre a aquisição e análise das imagens ecocardiográficas, e reuniões a respeito dos dados também.

A Profa. Dra. Mariana Veras, a Dunia Waked e ao Dr. Acaris Benetti pela contribuição com a avaliação e análise dos dados renais e pelo apoio e parceria.

Ao Dr. Acaris Benetti pelo auxílio no planejamento da gaiola metabólica, por me ensinar a processar e analisar as amostras de urina dos animais e pelas reuniões para discussão dos dados renais também.

A Dra. Nathalia Juocys por ter me auxiliado na elaboração do manuscrito do artigo científico.

A todos os meus colegas do laboratório de hipertensão experimental pelas colaborações, reuniões científicas, comemorações, união e carinho.

A equipe da Fisiopatologia Experimental pelos serviços, auxílios e paciência.

*“A especulação criativa parece ser a força que impulsiona a ciência, e não as convenções limitantes da verdade aceita.”
(Chris Carter, março de 1999).*

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Doenças Cardiovasculares	1
1.2 Hipertensão arterial sistêmica e lesão de órgãos-alvo	2
1.3 Hipertrofia e remodelamento cardíaco	4
1.4 Modelos experimentais	6
2. OBJETIVO	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1. Grupos experimentais	8
3.2. Gavagem de Oxalato de sódio solúvel	10
3.3. Avaliação da função cardíaca	11
3.4. Avaliação da função renal	12
3.5. Canulação	13
3.5.1 Registro de pressão arterial	13
3.5.2. Avaliação da modulação autonômica	14
3.5.3. Avaliação da sensibilidade barorreflexa	15
3.6. Avaliação biométrica e histológica	15
3.7. Avaliação de congestão pulmonar e de congestão hepática	16
3.8. Análise Estatística	16
4. RESULTADOS	16
4.1. Avaliação da Pressão Arterial	16
4.2. Ecocardiograma	18
4.3. Modulação Autonômica	25
4.4. Sensibilidade Barorreflexa	29
4.5. Avaliação da Função Renal	31
4.6. Análises Biométricas	32
4.7. Histopatologia Renal	35
5. DISCUSSÃO	37
5.1. Avaliação dos parâmetros hemodinâmicos	37
5.2. Avaliação da função cardíaca	38
5.3. Avaliação da modulação autonômica	42
5.4. Avaliação da sensibilidade Barorreflexa	43
5.5. Avaliação da função renal e Biometria	44
6. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	46

Lista de Figuras

Figura 1. Delineamento Experimental.	9
Figura 2. A. Pressão diastólica. B. Pressão sistólica. C. Pressão arterial média.	17
Figura 3. A. Frequência cardíaca. B. Dupla produto.	18
Figura 4. Parâmetros funcionais da quarta semana.....	21
Figura 5. Parâmetros morfométricos da quarta semana.....	21
Figura 6. Parâmetros morfofuncionais da quarta semana.....	22
Figura 7. Parâmetros morfofuncionais da quarta semana.....	22
Figura 8. Parâmetros morfométricos da oitava semana.	23
Figura 9. Parâmetros morfofuncionais da oitava semana.	24
Figura 10. Parâmetros morfométricos da quarta e da oitava Semana.	24
Figura 11. Parâmetros morfofuncionais da quarta e da oitava.....	25
Figura 12. Parâmetros do intervalo de pulso no domínio do tempo.	26
Figura 13. Análise do domínio da frequência.	27
Figura 14. Análise do domínio da frequência.	27
Figura 15. Análise do domínio da frequência.	28
Figura 16. Análise da modulação da pressão arterial sistólica.	29
Figura 17. Análise da sensibilidade barorreflexa..	30
Figura 18. Resposta bradicardica.....	30
Figura 19. Resposta taquicardica.	31
Figura 20. Concentração de ureia sérica.	31
Figura 21. A. Fluxo urinário; B. Consumo de água em 24 horas.....	32
Figura 22. Balanço hídrico em 24 horas.....	32
Figura 23. A. Peso dos ventrículos. B. Peso corporal.	33
Figura 24. A. Índice de congestão hepática. B. Índice de congestão pulmonar... ..	34
Figura 25. A. Peso do rim direito normalizado. B. peso do rim esquerdo normalizado. C. Massa renal total..	35
Figura 26. Rim de um camundongo que recebeu gavagem de 15 dias de oxalato de sódio solúvel ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$).....	35
Figura 27. Cortes sagitais do rim direito de camundongos BLC57, coloração de picrosireus..	36
Figura 28. Percentual de fibrose das camadas do rins.....	37

Lista de Tabelas

Tabela 1. Resultados hemodinâmicos.	17
Tabela 2. Dados morfométricos do ecocardiograma realizado na quarta semana	18
Tabela 3. Dados funcionais do ecocardiograma realizado na quarta semana.	19
Tabela 4. Dados morfométricos do ecocardiograma realizado na oitava semana	19
Tabela 5. Dados funcionais do ecocardiograma realizado na oitava semana.....	20
Tabela 6. Modulação do sistema nervoso autônomo.....	25
Tabela 7. Sensibilidade barorreflexa.	29
Tabela 8. Resultados biométricos.	33
Tabela 9. Percentual de deposição de colágeno no tecido renal.	36

RESUMO

Silva AA. Repercussões Cardíacas em Camundongos Submetidos à Estenose Aórtica e Tratados com Oxalato de Sódio [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Modelos experimentais são importantes para estudar os mecanismos das doenças cardiovasculares. O modelo de constrição do arco aórtico (TAC) está entre os mais utilizados na literatura para o estudo da hipertrofia cardíaca. O modelo de oxalato de sódio solúvel (OXA) gera lesão renal, mas também está associado à hipertrofia cardíaca por meio de lesões hipertensivas. Há poucas informações na literatura sobre registro hemodinâmico direto em ambos os modelos citados, bem como não há dados sobre as alterações causadas pela associação desses dois modelos. Portanto, nosso objetivo foi avaliar se a constrição do arco aórtico por ligadura associada à gavagem de oxalato de sódio solúvel pôde ser um novo modelo de hipertrofia cardíaca com disfunção cardíaca e renal. Camundongos machos C57BL foram randomizados da seguinte forma: animais SHAM que receberam gavagem com água de injeção ou solução OXA, e animais submetidos a TAC que receberam gavagem com água de injeção ou solução OXA. O ecocardiograma e gaiola metabólica foram utilizados para avaliar a função cardíaca e renal. O registro direto da pressão arterial foi realizado para avaliar a hemodinâmica e a modulação autonômica e sensibilidade barorreflexa. Análises histológicas foram utilizadas para avaliar o dano renal. O grupo TAC+OXA apresentou os maiores valores da PA (PA sistólica: SHAM:122±5,24 vs.TAC+OXA:160±5,24mmHg, $p<0,01$), aumento do duplo produto, importante redução na modulação autonômica e da variabilidade da frequência cardíaca (DP-IP: OXA:12,5±1,8 vs.TAC+OXA:2,8±0,2ms, $p<0,01$) e índice alfa (SHAM:3,6±1,0 vs. TAC+OXA: 0,6±0,1, $p=0,04$), disfunção diastólica e fibrose intersticial renal. O grupo TAC apresentou maior peso dos ventrículos, maior aumento da variabilidade da pressão arterial (DP-PAS), disfunção diastólica e ventrículo esquerdo dilatado na diástole. O grupo OXA apresentou aumento da modulação autonômica e variabilidade da frequência cardíaca, dano renal caracterizado por processo inflamatório, dano aos túbulos proximais e, quando associado TAC, fibrose intersticial. Os três grupos tratados apresentaram redução significativa da taquicardia reflexa. Conclusão: a constrição transversa da aorta associada à gavagem com oxalato de sódio é um modelo de hipertrofia cardíaca com disfunção renal, uma vez que a associação de ambas causou maior dano renal, hipertensão sistêmica, diminuição da modulação autonômica e da sensibilidade barorreflexa, e hipertrofia excêntrica com subsequente disfunção diastólica do VE.

Palavras-chave: Estenose da valva aórtica. Hipertensão. Hipertrofia ventricular esquerda. Insuficiência cardíaca. Doença renal crônica. Síndrome cardiorenal.

ABSTRACT

Silva AA. Cardiac Repercussions in Mice under Aortic Stenosis and Treated with Sodium Oxalate [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

Experimental models are important for studying the mechanisms of cardiovascular disease. The transverse aortic constriction model (TAC) is among the most used in the literature for the study of cardiac hypertrophy. The soluble sodium oxalate (OXA) model generates renal injury but is also associated with cardiac hypertrophy through hypertensive-like lesions. There is little information in the literature on direct hemodynamic recording in both models mentioned, as well as there is no data on the changes caused by the association of these two models. Therefore, our objective were to evaluate whether TAC associated with OXA gavage were a new model of cardiac hypertrophy with cardiac and renal dysfunction. Male C57BL mice were randomized as follows: SHAM animals that received gavage with injection water or OXA solution, and animals submitted to TAC and gavage with injection water or OXA solution. Echocardiography and metabolic cage assessment were used to quantify cardiac and renal function. Direct blood pressure (BP) recording was also performed to assess the autonomic modulation and baroreflex sensitivity. Histological analyses were used to evaluate the renal damage. The TAC+OXA group had the highest BP values (systolic BP: SHAM: 122 ± 5.24 vs. TAC+OXA: 160 ± 5.24 mmHg, $p < 0.01$), an increase in the double product, an important reduction in autonomic modulation, heart rate variability (SD-PI: OXA: 12.5 ± 1.8 vs. TAC+OXA: 2.8 ± 0.2 ms, $p < 0.01$) and alpha index (SHAM: 3.6 ± 1.0 vs. TAC+OXA: 0.6 ± 0.1 , $p = 0.04$), a diastolic dysfunction and renal interstitial fibrosis. The TAC group showed the greatest weight of the ventricles, the greatest increase in blood pressure variability (DP-SBP), diastolic dysfunction and dilated left ventricle in diastole. The OXA group showed an increase in autonomic modulation and heart rate variability, kidney damage characterized by inflammatory process, damage to the proximal tubules and, when TAC was associated, interstitial fibrosis. The three treated groups showed a significant reduction in reflex tachycardia. Conclusion: the transverse aortic constriction associated to sodium oxalate gavage is a model of cardiac hypertrophy with renal dysfunction, once the association of both caused greater renal damage, systemic hypertension, decreased autonomic modulation and baroreflex sensitivity, and eccentric hypertrophy with subsequent LV diastolic dysfunction.

Keywords: Aortic valva stenosis. Hypertension. Left ventricular hypertrophy. Heart failure. Renal insufficiency chronic. Cardio-renal syndrome.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doenças Cardiovasculares

As doenças cardiovasculares (DCVs) são doenças relacionadas a distúrbios do coração e aos vasos que compõem o sistema circulatório. São elas a hipertensão arterial, doença coronariana, doença cerebrovascular, doença cardíaca reumática, entre outras. Atualmente são classificadas como as principais causas de morte no mundo e em 2019 responderam por aproximadamente 17.9 milhões de mortes, o que representa 32% do total de mortes no mundo durante o período citado (WHO, 2021).

As DCVs estão incluídas no grupo de doenças não transmissíveis, categoria de doenças que representa um dos principais problemas de saúde pública global, visto que essas doenças resultam em problemas econômicos, aumento de mortalidade, perda de qualidade de vida e baixo desenvolvimento social tanto em países desenvolvidos quanto em países subdesenvolvidos (KASSA e GRACE, 2019).

Nos países de baixa e média renda, aproximadamente 70% das DCVs estão presentes (BENZIGER, et. al., 2016). Em 2019, as DCVs continuaram a ser a principal causa de morte nas Américas, causando em torno de 2 milhões de mortes nesta região (OPAS, 2021). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) acomete em torno de 18% da população adulta, representando cerca de 180 milhões de pessoas. Mais de um terço dos homens e um quarto das mulheres não foram diagnosticados com a HAS e, dos que foram diagnosticados e fazem o acompanhamento, apenas 36% têm a HAS sob controle (OPAS, 2023). No Brasil, a hipertensão arterial atinge 36 milhões de adultos e mais de 60% da população idosa, contribuindo com 50% das mortes por doenças cardiovasculares (MALACHIAS, 2016).

A HAS é diagnosticada quando a pressão arterial sistólica se mantém igual ou acima de 140 mmHg. A HAS por si própria aumenta o risco do desenvolvimento de outras doenças cardíacas, cerebrais e renais. Aproximadamente 1.28 bilhões de pessoas entre os 30 a 79 anos são

hipertensas e menos de 42% desta população é diagnosticada e tratada. Além disso, ela é uma das principais causas de morte prematura no mundo (WHO, 2023).

Os países subdesenvolvidos e emergentes possuem dois terços da população mundial de hipertensos, sendo que a média da pressão sistólica aumentou no leste e Sul da Ásia, Oceania e África. Ademais, cerca de 10% dos gastos globais com saúde estão relacionados à HAS e outras DCVs relacionadas à HAS, como por exemplo as doenças de valvas cardíacas (DVCs)(CAMPBELL et. al., 2021).

As DVCs acometem a população global de maneira heterogênea e são uma causa crescente de mortalidade, visto que esta é uma patologia atrelada ao envelhecimento da população e ao aumento da prevalência da HAS e de outras DCVs. As DVCs mais frequentes estão relacionadas à estenose aórtica e à regurgitação mitral (IUNG et. al., 2019; ALURU et. al., 2022).

1.2 Hipertensão arterial sistêmica e lesão de órgãos-alvo

A pressão arterial (PA) pode ser definida como o produto do débito cardíaco e da resistência vascular periférica (FOËX, SEAR, 2004). A HAS é uma doença multifatorial, sendo dependente de fatores genéticos, epigenéticos e sociais. O diagnóstico da HAS é determinado por elevação persistente da PA, sendo que a PA sistólica passa a ser maior ou igual a 140 mmHg e a pressão diastólica passa a ser maior ou igual a 90 mmHg (BARROSO et. al., 2021). Os pacientes hipertensos estão susceptíveis principalmente a lesões nas valvas cardíacas, na estrutura e desempenho cardíaco e no funcionamento dos rins.

Como mencionado anteriormente, a HAS é um preditor independente para as DVCs como um todo, dentre estas doenças, a EA está fortemente atrelada ao envelhecimento e à HAS. Já em 1997, Stewart e sua equipe observaram que o aumento da pressão arterial gerado pela HAS causa maior estresse de tração nos folhetos aórticos, contribuindo para a degeneração da válvula aórtica ao longo do tempo e surgimento da EA. Considerando que a EA diminui a via de passagem do fluxo sanguíneo por entre os folhetos da válvula aórtica,

aumentando a pressão de pós-carga do ventrículo esquerdo (VE), é comum a HAS e a EA coexistirem (STEWART et. al., 1997).

Outro órgão que também é acometido pela HAS é o rim. O dano renal induzido pela HAS varia de acordo com a “carga” sistêmica da PA, o grau com que essa carga é transmitida ao leito vascular renal e a suscetibilidade do tecido local ao grau de barotrauma. O acúmulo de alterações por determinado tempo pode induzir a nefrosclerose benigna e/ou maligna, que podem culminar em doença crônica renal (DRC) ou insuficiência renal (BIDANI, GRIFFIN, 2004).

A DRC, assim como a HAS, também está relacionada a EA. Em 1987, MAHER e colaboradores já relatavam que entre os pacientes de hemodiálise, 28% apresentavam calcificação da válvula aórtica e uma parte importante desses pacientes progrediam para EA (MAHER et. al., 1987). Em 2018, o estudo sobre as alterações cardíacas em pacientes com doença renal terminal e dependentes de hemodiálise mostrou que a prevalência de EA nestes pacientes foi de 50% e que o aumento da pós-carga do VE, em decorrência da EA, influenciou negativamente a função diastólica do VE (MATSUO et. al., 2018). No entanto, os mecanismos pelos quais se faz a correlação entre DRC e EA e as complicações decorrentes de ambas ainda não estão muito definidos.

Em relação as alterações decorrentes da exposição a HAS e/ou EA, se nota um aumento no débito cardíaco e/ou aumento na resistência vascular periférica, visto que o tônus vascular pode estar aumentado devido a um desequilíbrio na função vasomotora. A pós-carga do ventrículo esquerdo (VE) torna-se aumentada, e o VE passa a apresentar alterações estruturais e funcionais para compensar a sobrecarga de pressão (FOËX, SEAR, 2004).

Assim, estas patologias estimulam três importantes mecanismos no coração: hipertrofia ventricular esquerda, estimulação adrenérgica da frequência e contratilidade cardíacas, e maior volume cardíaco. Esses mecanismos podem estar presentes desde o estado compensado até o descompensado, sendo que neste último a função cardíaca passa a ser prejudicada devido ao longo período de exposição a estes estímulos. O estado descompensado resulta em insuficiência cardíaca (IC)(BRISTOW, 1999).

Portanto, a HAS é uma doença com alta prevalência e um fator de risco para o desenvolvimento de doenças valvares, cardíacas e renais, como descrito acima. Existe uma forte relação interdependente entre o coração e os rins, o remodelamento cardíaco oriundo das lesões causadas pela sobrecarga de pressão pode piorar a função renal e vice versa, visto que a função renal interfere na função cardíaca também. Ainda há escassez de dados sobre o eixo cardiorrenal, em especial em pacientes com disfunção cardíaca e hipertrofia do VE (UDUMAN, 2018; MATSUO et. al., 2018).

1.3 Hipertrofia e remodelamento cardíaco

O coração é um órgão constituído por tecido muscular estriado cardíaco e possui como célula principal o cardiomiócito. Nos mamíferos, a proliferação dos cardiomiócitos cessa após o nascimento e na fase adulta eles são terminalmente diferenciados, não sendo mais capazes de se proliferar. Desta forma, dependendo do estímulo ao qual estão submetidos, estas células podem hipertrofiar, atrofiar ou fenecer, de maneira que o crescimento fisiológico normal do coração após o nascimento aconteça por hipertrofia dos cardiomiócitos de acordo com a demanda cardíaca (SHIMIZU; MINAMINO, 2016).

Neste caso, juntamente com o processo de hipertrofia, ocorre aumento proporcional da rede capilar, a função contrátil e organização estrutural cardíaca permanecem normais, sem fibrose significativa e risco cardiovascular. Esse tipo de hipertrofia também pode ser observado em atletas que praticam esportes rigorosamente. A hipertrofia pode ser classificada, de maneira genérica, em dois tipos (SHIMIZU; MINAMINO, 2016):

Concêntrica: ocorre um aumento da massa ventricular causado pelo aumento da espessura da parede e redução dos diâmetros das cavidades. Essa redução nos diâmetros das cavidades viabiliza o desenvolvimento de maior pressão no VE (MILL; VASSALLO, 2001).

Excêntrica: ocorre um aumento dos diâmetros das cavidades, causado pela sobrecarga de volume. Tem-se um encurtamento da parede ventricular. O volume maior das cavidades permite uma fração de ejeção maior, porém o

aumento de raio das cavidades reduz a capacidade de desenvolvimento de pressão (MILL; VASSALLO, 2001).

A hipertrofia cardíaca também pode estar associada as DCVs, uma vez que ela também ocorre em pacientes com a HAS, devido ao tempo prolongado de exposição à sobrecarga de pressão, e em outras DCVs como nas doenças de valvas cardíacas, infarto do miocárdio associado a doença coronariana ou doenças hereditárias. Nestas situações, a hipertrofia está relacionada a vias patológicas, englobando a perda de cardiomiócitos (apoptose), fibrose, redução da densidade capilar, disfunção cardíaca, desequilíbrio autonômico e comprometimento metabólico (BERNARDO et al., 2010).

O acúmulo exacerbado de colágeno fibrilar no interstício celular, caracterizado como fibrose, do miocárdio é uma das principais características da hipertrofia cardíaca patológica. Esta fibrose está presente em diversas cardiomiopatias, recrutando células inflamatórias infiltrantes e causando morte celular. O fibroblasto é a célula responsável por produzir os componentes da matriz extracelular, principalmente colágeno tipo I e III. A matriz auxilia os cardiomiócitos na homeostase e no acoplamento elétrico (RAI et al., 2016; KONG; CHRISTIA; FRANGOIANNIS, 2013; THAM et al., 2015).

A exposição a um período prolongado de sobrecarga de pressão estimula vias fibróticas, pois os cardiomiócitos apresentam baixo poder proliferativo tornando o processo cicatricial das lesões mais intenso. Neste sentido, há aumento da proliferação de fibroblastos. O excesso de fibroblastos na região da lesão aumenta os níveis de TGF- β 1 (Transforming growth factor beta 1) e ED-A fibronectina (liga ED-A da fibronectina), que promovem a transdiferenciação de fibroblastos em miofibroblastos durante o remodelamento cardíaco. O acúmulo acentuado de miofibroblastos no coração causa rigidez mecânica, focos arritmogênicos, com prejuízo da condução elétrica e aparecimento de disfunção diastólica (RAI et al., 2016; KONG; CHRISTIA; FRANGOIANNIS, 2013; THAM et al., 2015).

Um último fator importante observado no remodelamento cardíaco é a densidade capilar miocárdica. A AKt1 é uma proteína quinase da serina-treonina,

presente no remodelamento cardíaco, que medeia o crescimento hipertrófico dos miócitos e regula positivamente a expressão de fatores de crescimento angiogênicos, como: fatores de crescimento endotelial vascular e angiopoetina-2, estes dois agem em associação. Em um curto período a AKt1 desempenha ação benéfica no miocárdio, pois propicia angiogênese conforme crescimento da massa cardíaca (SHIOJIMA et. al., 2005; OKA et.al., 2014).

Em longo prazo a AKt1 estimula a hipertrofia excessiva do coração e angiogênese desorganizada, causando uma diminuição na expressão dos fatores de crescimento endotelial vascular, o que gera um desequilíbrio entre quantidade de massa cardíaca e densidade de vasos, sendo que esta última não acompanha a hipertrofia. Este processo gera hipóxia e disfunção contrátil, o que compromete a eficiência do miocárdio no bombeamento de sangue, acelerando a progressão da hipertrofia cardíaca para o aparecimento de IC (SHIOJIMA et. al., 2005; OKA et.al., 2014).

A IC pode ser definida como uma síndrome clínica resultante de anormalidades estruturais e/ou funcionais cardíacas que alteram o débito cardíaco de maneira a reduzi-lo, sendo que o coração pode apresentar uma pressão intracardíaca elevada durante o repouso ou estresse. A IC pode ser descrita como o processo final de qualquer patologia cardíaca que proporcione alterações estruturais e/ ou funcionais no tecido cardíaco (PONIKOWSKI et. al., 2016).

1.4 Modelos experimentais

Os modelos de hipertrofia cardíaca presentes na literatura buscam mimetizar as características patológicas da hipertensão em animais de laboratório, assim representam uma importante fonte de informação para o estudo da hipertensão e suas consequências.

Um modelo experimental bastante utilizado para mimetizar a hipertrofia cardíaca secundária à sobrecarga hemodinâmica é o da estenose aórtica. A estenose é causada por meio da constrição da aorta. A constrição pode ser causada no arco aórtico, na aorta abdominal ou na aorta ascendente, sendo a

distância entre a constrição e o coração o principal determinante da intensidade do estímulo. A porcentagem de oclusão causada no vaso varia de acordo com o material utilizado, sendo mais utilizada a ligadura com fio e recentemente o clipe de titânio (LYGATE, 2006).

Segundo Lygate (2006), em ambos os tipos de material a hipertrofia se estabelece após 72 horas e a partir da segunda semana a hipertrofia progride com aumento da massa do VE. A principal diferença entre a utilização dos materiais consiste no tempo com que estes induzem mais rapidamente um estado descompensado no coração (LYGATE, 2006).

Um segundo modelo experimental interessante para o estudo da lesão de órgão alvo da HAS é o da dieta com oxalato de sódio solúvel. Este modelo foi recentemente padronizado com o intuito principal de investigar a progressão da doença renal crônica e da insuficiência renal, visto que, segundo Knauf e colaboradores (2013), o consumo da dieta rica em oxalato de sódio solúvel e livre de cálcio ingerida por camundongos wild-type por 14 dias foi capaz de proporcionar elevação severa do nitrogênio ureico sanguíneo (BUN) e creatinina, deposição de cristal nos rins, sem formação de cálculos renais, e inflamação túbulo-intersticiais, evoluindo para insuficiência renal (KNAUF et. al., 2013).

No entanto, Mulay e colaboradores (2016) observaram que os efeitos da dieta de oxalato de sódio solúvel por 21 dias em camundongos C57BL/6 não só prejudicaram os rins com um aumento do BUN e creatinina, declínio na taxa de filtração glomerular, atrofia tubular e presença de fibrose renal mas também causou hipertensão arterial sistêmica e fibrose cardíaca nos camundongos, sem deposição de cristais de oxalato nos tecidos. Este modelo experimental também induziu progressivamente um estado de doença renal crônica mesmo após a interrupção da dieta (MULAY et. al., 2016).

Assim, como mencionado anteriormente, a IC é uma doença fortemente correlacionada a HAS. A HAS é uma doença que ainda possui prevalência notável e é um fator de risco para outras doenças cardiovasculares, doenças da válvula cardíaca e para doenças renais também. A lesão de órgão alvo oriunda da HAS abrange o remodelamento cardíaco e alterações da função renal que

posteriormente podem agravar a HAS, causando mais dano cardíaco e renal, culminando em insuficiência cardíaca e doença renal. Nosso grupo de pesquisa possui estudos, ainda não publicados, sobre remodelação cardíaca com base no modelo de constrição do arco aórtico por clipe de titânio dos quais observamos que, mesmo após tempo prolongado com a TAC, os animais desenvolveram uma hipertrofia cardíaca modesta, sugerindo adaptação dos animais ao clipe.

Portanto, nosso intuito atual é analisar as repercussões causadas pelo modelo de constrição aórtica por ligadura conjuntamente com o modelo da dieta de oxalato de sódio para compreender melhor a lesão cardíaca provocada pela HAS.

2. OBJETIVO

Estabelecer um modelo de hipertrofia cardíaca com disfunção cardiorenal por constrição do arco aórtico (Transverse Aortic Constriction, TAC) e gavagem de oxalato de sódio solúvel (OXA).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Grupos experimentais

Todos os experimentos deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética para Uso Animal da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP, São Paulo, Brasil) sob o número de protocolo 1404/2019, e atendem às normas publicadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

O protocolo experimental teve duração de 8 semanas, a sequência dos experimentos aconteceu conforme apresentado na **figura 1**.

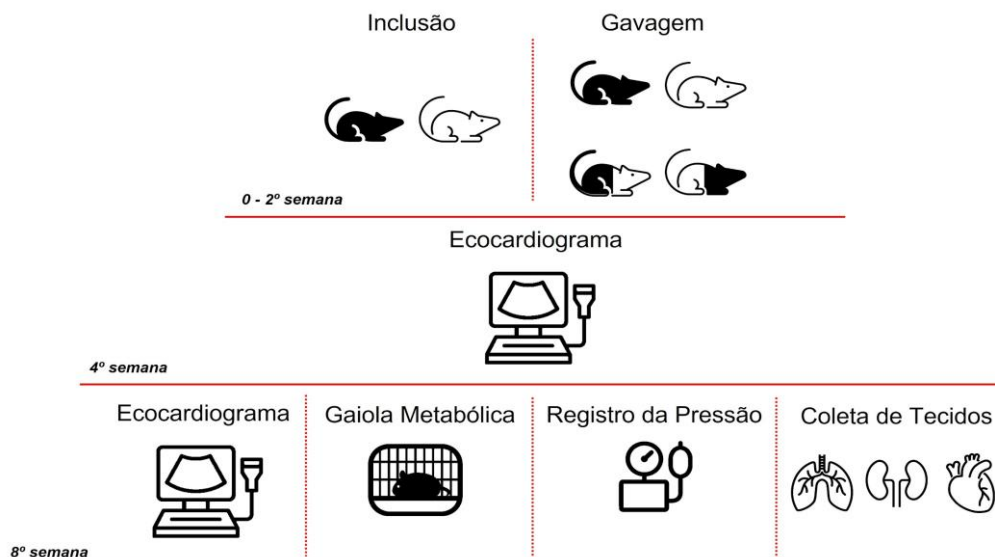


Figura 1. Delineamento Experimental. Inclusão: semana em que metade dos animais receberam a cirurgia SHAM (rato branco) e a outra metade a cirurgia de constrição do arco aórtico (TAC) (rato preto). A partir da segunda semana os animais receberam por 15 dias a gavagem de oxalato de sódio solúvel ou de água de injeção, formando os seguintes grupos: SHAM (rato branco); OXA (rato branco com a cabeça preta); TAC (rato preto); TAC+OXA (rato preto com a cabeça branca). Na quarta foi feito o ecocardiograma em todos os grupos para avaliação da função cardíaca. Na oitava semana foi feito o ecocardiograma, gaiola metabólica, registro direto da pressão e coleta de tecidos de todos os grupos.

Camundongos machos C57BL de 8-10 semanas de idade foram mantidos em estante isolada e ventilada com ração e água ad libitum. Os animais foram randomizados em 4 grupos experimentais:

- **Grupo SHAM:** são os animais que foram submetidos a cirurgia simulada, ou seja, foi feita uma pequena incisão no segundo espaço intercostal, mas não foi feita a ligadura no arco aórtico. Também receberam gavagem com água de injeção em ampola por 15 dias;
- **Grupo TAC:** animais que foram submetidos a cirurgia TAC e permaneceram com a cirurgia por 8 semanas. Eles também receberam gavagem com água de injeção em ampola por 15 dias;
- **Grupo OXA:** animais que foram submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem com oxalato de sódio solúvel por 15 dias;
- **Grupo TAC+OXA:** animais que permaneceram com a TAC por 8 semanas e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel por 15 dias;

Durante o procedimento cirúrgico da TAC, os animais foram anestesiados com Isoflurano 2% misturado com oxigênio (0,5-1,0 L/min) por via inalatória. Com

o auxílio de uma lupa, os camundongos foram colocados em posição supina e intubados. Uma pequena incisão foi feita no segundo espaço intercostal para realização da cirurgia de TAC. A TAC consiste na constrição do arco aórtico por meio de uma ligadura de polipropileno 7-0 posicionada no arco entre a artéria carótida comum esquerda e a subclávia esquerda.

A ligadura foi apertada ao redor do vaso juntamente com uma agulha de 26G, que foi rapidamente removida. A constrição com o auxílio da agulha de 25G proporciona um percentual de oclusão do vaso de aproximadamente 80%-90% (BJØRNSTAD et. al., 2012; LYGATE et. al., 2006). No pós-cirúrgico os animais permaneceram de 8 á 12 horas em uma unidade de tratamento animal (Premium Ecológica), com controle de temperatura, umidade e oxigênio.

Doze horas antes e após realização de todos os procedimentos cirúrgicos os animais receberam analgesia com Sulfato de morfina 10mg/mL por 3 dias a cada 12h. Ao término dos procedimentos experimentais os animais foram eutanasiados com overdose de Tiopental 30mg/kg para coleta de material biológico, as carcaças foram embaladas, identificadas e armazenadas em freezer -20°C para coleta por empresa especializada terceirizada (LOGA).

3.2. Gavagem de Oxalato de sódio solúvel

Todos os grupos começaram a receber a gavagem duas semanas após os procedimentos cirúrgicos. A gavagem ocorreu por um período de 15 dias e os animais do grupo SHAM e TAC receberam gavagem com água de injeção, enquanto os animais dos grupos OXA e TAC+OXA receberam uma solução com concentração de 0,0015g/ml de oxalato de sódio solúvel (adaptado de KNAUF et. al., 2013).

A solução de oxalato consiste na adição de oxalato da Sigma em solução de água destilada. Os animais ficaram 2 horas de jejum antes e após a gavagem, para melhor absorção do oxalato no trato gastrointestinal, e a administração das doses foi feita no período diurno (adaptado de KNAUF et. al., 2013).

3.3. Avaliação da função cardíaca

O exame ecocardiográfico foi realizado na quarta e oitava semana do protocolo e a aquisição das imagens foi feita por meio de um sistema de ultrassom comercialmente disponível (VEVO 2100–Visual Sonics - Canadá) com sonda de 35 MHz. As medidas ecocardiográficas foram realizadas conforme as recomendações do Comitê de Padronização da Sociedade Americana de Ecocardiografia. Os animais foram sedados com mistura de Isoflurano 2% por via inalatória. A partir de imagens bi-dimensionais obtidas na janela paraesternal, no plano de corte transversal, ao nível dos músculos papilares, no modo M, foram realizadas medidas lineares de espessura de parede posterior na diástole (PPD), septo interventricular na diástole (SIVD), diâmetro diastólico final (DDF) e diâmetro sistólico final (DSF). A fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (FEncVE) foi derivada das medidas de DDF e DSF aplicadas à fórmula (1):

$$\mathbf{FEncVE(\%)} = \left(\frac{DDF-DSF}{DDF} \right) \times 100 \quad (1)$$

A massa do ventrículo esquerdo foi estimada por meio de medidas lineares do ventrículo esquerdo (VE) e calculada pela equação de Penn. As medidas de área foram obtidas por Imagens ecocardiográficas da janela paraesternal, no plano de corte transversal, ao nível dos músculos papilares, a partir de medidas planimétricas das áreas diastólica final (ADF) e sistólica final (ASF) do VE. A fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) foi calculada pela fórmula (2):

$$\mathbf{FEVE(\%)} = \left(\frac{VDF-VSF}{VDF} \right) \times 100 \quad (2)$$

A velocidade de fluxo na válvula mitral foi obtida a partir de imagens bidimensionais adquiridas na janela paraesternal, no plano de corte apical. Foram realizadas imagens Doppler de fluxo sanguíneo logo acima da válvula mitral. A velocidade de fluxo mitral foi estimada por meio da medida das ondas E e A, tempo de desaceleração (TD) e o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV), além do tempo de ejeção e do tempo de contração isovolumétrico. Para as medidas de fluxo tecidual, a amostra foi posicionada sob o músculo papilar anterior e a partir das curvas obtidas foram realizadas medidas das ondas s', e'

e a'. Todas as medidas foram realizadas em três ciclos cardíacos representativos de cada animal. A medida final de cada parâmetro foi dada pela média dos resultados obtidos a cada ciclo. Todas as medidas foram realizadas de maneira cega para os grupos experimentais propostos.

3.4. Avaliação da função renal

Na sétima semana de protocolo os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais, alocadas em uma sala com ambiente controlado para temperaturas com intervalos entre 20 e 24 °C, umidade relativa do ar de 50% e fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro. Eles permaneceram na gaiola por 48h, sendo que as primeiras 24h representam o período de adaptação e as próximas 24h representam a urina que foi coletada.

O marcador mais utilizado para avaliação da função renal é a taxa de filtração glomerular (TFG), que representa o processo de filtração de pequenas moléculas e íons no capilar glomerular. Assim, para se avaliar a função renal se faz necessário a dosagem de biomarcadores capazes de indicar o estado da TFG. Os mais utilizados são a ureia, creatinina e proteínas totais, visto que a variação da concentração urinária e sérica destes analitos é um indicativo do estado da TFG e a coleta de amostra para a dosagem destes é de fácil aquisição (AIRES, 2008). Além desses, a análise do fluxo urinário, consumo de água e o balanço hídrico também podem ser indicadores da função renal, pois estes evidenciam um acúmulo ou perda de fluidos, apontando um desfecho da função renal.

Portanto, a análise da urina foi realizada pelo método colorimétrico com o Kit bioquímico (LABTEST, Brasil) para dosagem de uréia. A leitura da dosagem foi realizada por meio de um espectrofotômetro SpectraMax i3X, da empresa comercial Molecular Devices, disponível no laboratório de hipertensão experimental do Instituto do Coração (InCor).

A avaliação do fluxo urinário, consumo de água e o balanço hídrico foi feita após a realização do experimento da gaiola metabólica e por meio das respectivas fórmulas (3), (4) e (5):

$$\text{Fluxo Urinário} = \frac{\left(\frac{(\text{Urina Inicial}(\text{ul}) - \text{Urina Final}(\text{ul})) \times 100}{\text{Peso corporal do animal}(\text{g})}\right) \times 1440}{\text{Tempo total da duração do experimento (minutos)}} \quad (3)$$

$$\text{Consumo de Água} = \frac{\left(\frac{(\text{Água Inicial}(\text{ul}) - \text{Água Final}(\text{ul})) \times 100}{\text{Peso corporal do animal}(\text{g})}\right) \times 1440}{\text{Tempo total da duração do experimento (minutos)}} \quad (4)$$

$$\text{Balanço Hídrico} = \text{Consumo de água} - \text{Fluxo urinário} \quad (5)$$

3.5. Canulação

Na última semana do protocolo, os animais foram anestesiados com 2% de Isoflurano e 98% de O₂, e colocados em decúbito dorsal. Foi realizada uma pequena incisão no pescoço por onde foram implantados cateteres de polietileno (cânulas; tygon P50) preenchidos com soro fisiológico. Essas cânulas foram posicionadas no interior da artéria carótida e da veia jugular para registro de pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e administração de drogas, respectivamente. Após a implantação das cânulas na artéria carótida e veia jugular, estas foram exteriorizadas no dorso do animal na região cervical e fixadas com fio de algodão na pele. Cada animal recebeu 10mg/mL de Sulfato de morfina ao final da cirurgia de canulação e foram mantidos em uma caixa individual padrão durante a realização das avaliações hemodinâmicas sistêmicas que iniciaram 24h após a canulação (adaptado de SARTORI, 2016).

3.5.1 Registro de pressão arterial

Ao final do protocolo, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm com o animal consciente, permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético de pressão (Kent Instruments) conectado a um pré-amplificador (Stemtech). Sinais da PA foram gravados em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (WINDAQ, Instruments), permitindo análise dos pulsos de pressão, batimento-a-batimento, com uma frequência de amostragem de 4KHz por canal para estudo dos valores de PA e FC (adaptado de SARTORI, 2016).

O registro basal da pressão arterial de cada animal durou aproximadamente 30 minutos e sua análise forneceu os valores da pressão diastólica (PD), pressão sistólica (PS), pressão arterial média (PAM) e a FC. A análise destes dados aconteceu por meio da seleção de 2 a 3 trechos estacionários de 5 minutos do registro basal. Após a marcação dos valores pressóricos, os trechos foram salvos, processados e tabulados no software Microsoft Excel. Os valores gerados são a PS, PD e a PAM, a FC foi obtida por meio da fórmula: $60/\text{intervalo de pulso}$, e foi feita a média e desvio padrão de cada uma dessas colunas. Os trechos que apresentaram colunas com desvio padrão acima de 15% do valor da média foram excluídos (adaptado de SARTORI, 2016).

3.5.2. Avaliação da modulação autonômica

Utilizando o software Cardioseries (V2.7), a variabilidade da FC (VFC) e da pressão arterial sistólica (PAS) foram avaliadas por meio da análise do domínio do tempo e da análise espectral, respectivamente. Com base na análise do domínio do tempo, a variabilidade dos valores médios do intervalo de pulso foi calculada por meio da média dos desvios padrões (DP-IP) e a Raiz quadrada da média da diferença entre batimentos cardíacos consecutivos (RMSSD) foi calculada como um indicativo da modulação vagal (adaptado de MORAES-SILVA et. al., 2010).

A análise espectral consiste no uso da Transformada Rápida de Fourier para decomposição do sinal pulsátil da pressão arterial em um histograma, gerando os valores das potências absolutas das seguintes bandas do Intervalo de Pulso (IP): Banda de Muito Baixa Frequência Absoluta (MBFA), Banda de Baixa Frequência Absoluta (BFA) e Banda de Alta Frequência Absoluta (AFA). A soma dos valores destas bancas representa a Potência Total Absoluta, um indicador absoluto de modulação autonômica. Também foram gerados os valores em unidade normalizada (u.n) das bandas de baixa frequência do intervalo de pulso (BF) e de alta frequência do intervalor de pulso (AF), a divisão da BF pela AF resulta em um indicador de balanço simpatovagal (adaptado de MORAES-SILVA et. al., 2010; MOSTARDA et. al., 2010).

Em relação a análise da variabilidade da PAS, no domínio do tempo, foi calculado o desvio padrão da PAS (DP-PAS). Com o uso da Transformada Rápida de Fourier, a análise espectral da variabilidade da pressão arterial sistólica gerou a banda de baixa frequência absoluta da PAS (BFA-PAS). Estes parâmetros são os indicativos da modulação simpática vascular na análise da variabilidade da PAS (adaptado de MORAES-SILVA et. al., 2010; MOSTARDA et. al., 2010).

3.5.3. Avaliação da sensibilidade barorreflexa

Após o registro da PA, uma extensão de aproximadamente 20 cm (P10) foi conectada na cânula venosa para injeção de drogas vasoativas. Com os animais em repouso, a sensibilidade barorreflexa foi testada por meio da infusão de drogas vasoativas. Doses crescentes de fenilefrina (1ºdose=100ng/ml, 2ºdose=150ng/ml) foram utilizadas para verificar a resposta bradicárdica reflexa e doses crescentes de nitroprussiato de sódio (1ºdose=100ng/ml, 2ºdose=150ng/ml) foram utilizadas para verificar a resposta taquicárdica reflexa (adaptado de SARTORI, 2016).

A sensibilidade barorreflexa foi avaliada pelo cálculo do índice alfa, derivado dos dados da modulação autonômica cardiovascular no domínio da frequência. Também foi possível obter o Índice de eficiência barorreflexa, por meio da análise do método da sequência (adaptado de JARA et. al., 2019).

3.6. Avaliação biométrica e histológica

Os átrios foram removidos, o coração e os rins foram pesados em balança analítica. O peso úmido foi corrigido pelo peso corporal e pelo comprimento da tíbia para estimar a hipertrofia cardíaca. Os rins foram fixados em paraformolaldeído (4%) e embebidos em parafina. Em seguida, os rins foram seccionados em corte sagital com 5 micrômetros de espessura. As lâminas coradas com hematoxilina-eosina para o exame histopatológico e com picrossirius para avaliar a fibrose intersticial renal. As lâminas foram examinadas sob microscópio simples (adaptado de KNAUF et. al., 2013). As imagens foram adquiridas e avaliadas por meio de um sistema computadorizado de aquisição

de imagem (Leica Imaging Systems, Bannockburn, IL, EUA). O programa ImageJ (U. S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) foi utilizado para análise de todas as lâminas e quantificação de fibrose (adaptado de BJØRNSTAD et. al., 2012).

3.7. Avaliação de congestão pulmonar e de congestão hepática

Após a eutanásia dos animais, o pulmão e o fígado foram pesados em balança analítica para obtenção do peso úmido destes órgãos. Em seguida, estes órgãos foram colocados em estufa a 70°C por 48h. Posteriormente, foram novamente pesados para obtenção do peso seco. De posse destes valores pode-se calcular as relações peso úmido do pulmão/comprimento da tíbia e peso úmido/peso seco do pulmão e do fígado, as quais representam: índice de congestão pulmonar e hepática, respectivamente.

3.8. Análise Estatística

As análises dos dados foram feitas utilizando o software Prisma 8 (GraphPad Softwares Inc., San Diego, USA). Os valores foram expressos como média \pm erro padrão. Diferenças entre grupos com padrão de distribuição normal foram comparadas por teste ANOVA de 2 vias, seguido do teste post-hoc de Bonferroni. Os grupos fora da normalidade foram comparados por modelo de teste ANOVA de 2 vias de efeitos mistos. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

4. RESULTADOS

4.1. Avaliação da Pressão Arterial

A **tabela 1** indica a média dos resultados hemodinâmicos, da frequência cardíaca e do duplo produto. Os gráficos da **figura 2** mostram que a pressão diastólica, sistólica e média do grupo TAC+OXA estão aumentadas ao serem comparados aos valores do grupo SHAM. Além disso, o grupo TAC também apresentou aumento significativo dos valores sistólicos quando comparado ao grupo SHAM (**fig.2**).

Tabela 1. Resultados hemodinâmicos.

Variáveis hemodinâmicas	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
PA diastólica (mmHg)	78,90 ± 5,47	90,84 ± 5,03	92,81 ± 2,10	105,8 ± 5,03 ^{aa}
PA sistólica (mmHg)	122,4 ± 5,24	152,6 ± 4,87 ^{aa}	140,4 ± 3,72	160,2 ± 5,24 ^{aaaa}
PA média (mmHg)	100,6 ± 5,09	118,4 ± 5,33	114,8 ± 1,73	132,0 ± 4,84 ^{aaa}
Frequência Cardíaca (BPM)	528,6 ± 30,63	584 ± 23,72	450,5 ± 34,30	603,5 ± 27,42 ^c
Duplo Produto (mmHg/BPM)	64,65 ± 4,76	89,53 ± 5,85 ^a	62,78 ± 3,38 ^b	96,62 ± 5,26 ^{aaacc}

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel;
SHAM: animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção;
TAC: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção;
TAC+OXA: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** $p < 0,05$, **aa:** $p \leq 0,0031$, **aaa:** $p = 0,0004$, **aaaa:** $p < 0,0001$ vs. SHAM; **b:** $p = 0,03$ vs. TAC; **c:** $p = 0,0113$, **cc:** $p = 0,0013$ vs. OXA. Os valores são média ± erro padrão da média.

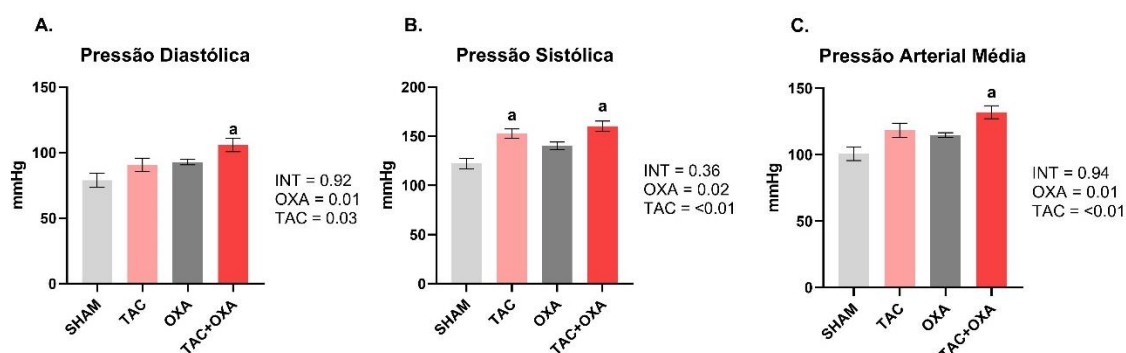


Figura 2. A. Pressão diastólica. B. Pressão sistólica. C. Pressão arterial média. OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM.

A **figura 3** mostra os gráficos da FC e do duplo produto. Apenas a FC do grupo TAC+OXA se mostrou aumentada quando comparada ao grupo OXA. Já a análise de duplo produto mostrou que os dois grupos com constrição do arco aórtico apresentaram um duplo produto maior quando comparados ao grupo SHAM e OXA (**fig. 3**).

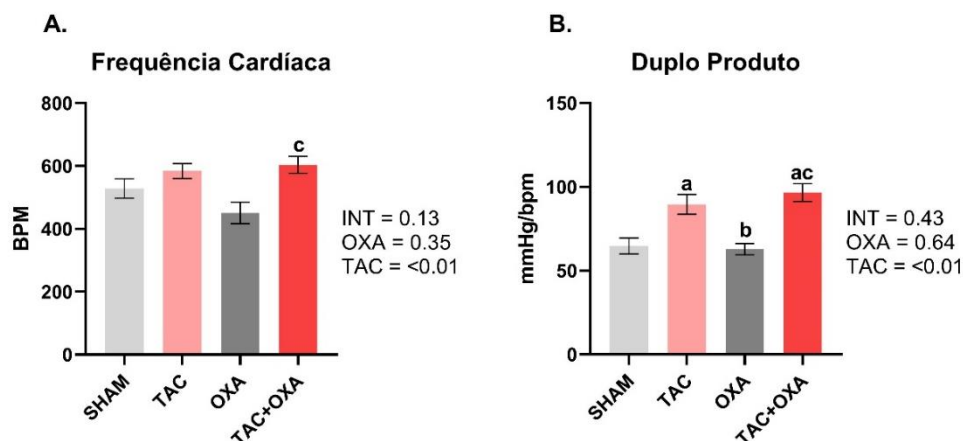


Figura 3. A. Frequência cardíaca. B. Dupla produto. OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

4.2. Ecocardiograma

Os dados obtidos pelo exame ecocardiográfico foram classificados em parâmetros morfométricos e morfofuncionais, sendo estes avaliados na quarta semana e na oitava semana. As **tabelas 2,3,4 e 5** mostram a média seguida do erro padrão da média de cada grupo, em todos os parâmetros citados.

Tabela 2. Dados morfométricos do ecocardiograma realizado na quarta semana.

Parâmetros morfométricos	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
Diâmetro interno diastólico do VE (mm)	4,65 ± 0,08	4,65 ± 0,07	4,48 ± 0,06	4,67 ± 0,05
Diâmetro interno sistólico do VE (mm)	3,47 ± 0,09	3,65 ± 0,04	3,24 ± 0,06 ^b	3,72 ± 0,06 ^c
Volume final diastólico do VE (ul)	100,5 ± 4,31	100,5 ± 3,79	92,06 ± 3,15	101,5 ± 2,58
Volume final sistólico do VE (ul)	50,22 ± 3,08	56,62 ± 1,59	42,60 ± 2,13 ^b	59,43 ± 2,53 ^c
Septo interventricular diastólico do VE (mm)	0,565 ± 0,03	0,600 ± 0,02	0,523 ± 0,02	0,576 ± 0,02
Septo interventricular sistólico do VE (mm)	0,856 ± 0,03	0,873 ± 0,05	0,796 ± 0,02	0,786 ± 0,03
Parede posterior diastólica do VE (mm)	0,577 ± 0,01	0,571 ± 0,01	0,580 ± 0,01	0,554 ± 0,01
Parede posterior sistólica do VE (mm)	0,896 ± 0,01	0,805 ± 0,02 ^a	0,890 ± 0,02 ^b	0,807 ± 0,01 ^{ac}
Espessura Relativa da Parede (mm)	0,246 ± 0,01	0,252 ± 0,0	0,247 ± 0,01	0,246 ± 0,01

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** p<0,02 vs. SHAM; **b:** p<0,04 vs. TAC; **c:** p<0,02 vs. OXA. Os valores são média ± erro padrão da média.

Tabela 3. Dados funcionais do ecocardiograma realizado na quarta semana.

Parâmetros funcionais	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
Fração de Ejeção (%)	50,31 ± 1,40	42,99 ± 2,94	53,75 ± 1,53 ^b	41,43 ± 2,06 ^{ac}
Fração de Encurtamento (%)	25,56 ± 0,85	21,31 ± 1,72	27,68 ± 0,98 ^b	20,37 ± 1,17 ^{ac}
Frequência Cardíaca (BPM)	363 ± 11,98	350 ± 11,46	377 ± 7,95	363 ± 14,51
Onda E (mm/s)	823,6 ± 45,63	807,4 ± 46,56	627,0 ± 24,49 ^{ab}	710,2 ± 32,77
Onda A (mm/s)	324,2 ± 31,16	309,4 ± 29,48	356,0 ± 28,21	247,2 ± 16,25 ^c
Desaceleração da onda E (ms)	21,21 ± 2,08	27,53 ± 1,96	28,75 ± 1,60	24,31 ± 1,71
Tempo de relaxamento isovolumétrico (ms)	19,16 ± 0,96	17,85 ± 0,74	18,81 ± 0,74	20,52 ± 1,20
Tempo de contração isovolumétrico (ms)	18,97 ± 1,36	16,71 ± 2,33	16,65 ± 1,22	22,88 ± 1,18 ^{bc}
Tempo de ejeção (ms)	55,86 ± 0,30	66,88 ± 1,27 ^a	53,26 ± 1,55 ^b	64,85 ± 1,13 ^{ac}
Índice de performance miocárdica	0,69 ± 0,03	0,51 ± 0,03 ^a	0,68 ± 0,04 ^b	0,70 ± 0,03 ^b
Doppler tecidual				
Onda A' (mm/s)	19,35 ± 0,25	24,52 ± 1,21	19,03 ± 0,40	22,47 ± 1,57
Onda E' (mm/s)	28,95 ± 1,40	24,76 ± 2,74	19,92 ± 1,24 ^a	23,02 ± 1,62
Índice E'/A'	1,24 ± 0,07	0,82 ± 0,07 ^a	0,97 ± 0,07	1,05 ± 0,08
Índice E/E'	28,84 ± 1,75	34,35 ± 2,94	31,19 ± 1,59	32,16 ± 1,92
Índice E/A	2,71 ± 0,26	2,80 ± 0,34	1,60 ± 0,08	3,01 ± 0,23 ^c

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** p<0,05 vs. SHAM; **b:** p<0,05 vs. TAC; **c:** p<0,05 vs. OXA. Os valores são média ± erro padrão da média.

Tabela 4. Dados morfométricos do ecocardiograma realizado na oitava semana.

Parâmetros morfométricos	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
Diâmetro interno diastólico do VE (mm)	4,63 ± 0,12	4,92 ± 0,08	4,50 ± 0,06 ^b	4,75 ± 0,08
Diâmetro interno sistólico do VE (mm)	3,44 ± 0,13	3,87 ± 0,10	3,43 ± 0,07	3,70 ± 0,08
Volume final diastólico do VE (ul)	99,62 ± 6,37	114,4 ± 4,50	92,73 ± 2,91 ^b	105,8 ± 4,19
Volume final sistólico do VE (ul)	49,70 ± 4,55	65,15 ± 4,06	48,91 ± 2,55	57,34 ± 3,18
Septo interventricular diastólico do VE (mm)	0,616 ± 0,01	0,605 ± 0,02	0,572 ± 0,01	0,617 ± 0,02
Septo interventricular sistólico do VE (mm)	0,890 ± 0,02	0,868 ± 0,02	0,910 ± 0,02	0,918 ± 0,04
Parede posterior diastólica do VE (mm)	0,517 ± 0,01	0,560 ± 0,02	0,611 ± 0,02 ^a	0,584 ± 0,02
Parede posterior sistólica do VE (mm)	0,826 ± 0,03	0,844 ± 0,03	0,867 ± 0,02	0,862 ± 0,02
Espessura Relativa da Parede (mm)	0,246 ± 0,0	0,237 ± 0,01	0,262 ± 0,0	0,253 ± 0,01

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** p<0,05 vs. SHAM; **b:** p<0,05 vs. TAC. Os valores são média ± erro padrão da média.

Tabela 5. Dados funcionais do ecocardiograma realizado na oitava semana.

Parâmetros funcionais	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
Fração de Ejeção (%)	46,13 ± 0,59	43,28 ± 1,79	47,42 ± 1,81	46,13 ± 1,75
Fração de Encurtamento (%)	23,00 ± 0,34	21,45 ± 1,03	23,75 ± 1,09	23,13 ± 1,02
Frequência Cardíaca (BPM)	443 ± 16,59	407 ± 12,72	399 ± 12,72	428 ± 12,30
Onda E (mm/s)	795,1 ± 28,12	876,1 ± 29,83	683,0 ± 20,95 ^b	844,4 ± 26,92 ^c
Onda A (mm/s)	337,6 ± 32,41	358,0 ± 49,96	471,3 ± 12,85	361,9 ± 36,66
Desaceleração da onda E (ms)	20,66 ± 1,89	19,55 ± 3,10	26,41 ± 1,96	16,92 ± 1,27 ^c
Tempo de relaxamento isovolumétrico (ms)	17,36 ± 0,47	16,71 ± 0,39	18,58 ± 0,82	17,87 ± 0,52
Tempo de contração isovolumétrico (ms)	21,91 ± 2,27	18,58 ± 2,32	18,61 ± 2,35	23,72 ± 2,19
Tempo de ejeção (ms)	53,33 ± 1,93	60,92 ± 0,91 ^a	52,14 ± 1,80 ^b	55,71 ± 1,56
Índice de performance miocárdica	0,72 ± 0,03	0,58 ± 0,03	0,66 ± 0,03	0,70 ± 0,04
Doppler tecidual				
Onda A' (mm/s)	24,96 ± 1,34	22,79 ± 0,87	27,59 ± 1,32	23,93 ± 1,63
Onda E' (mm/s)	28,18 ± 1,62	29,46 ± 1,35	23,79 ± 1,71	28,08 ± 1,72
Índice E'/A'	1,14 ± 0,06	1,29 ± 0,05	0,87 ± 0,06 ^b	1,23 ± 0,09 ^c
Índice E/E'	29,06 ± 2,16	30,31 ± 1,35	29,79 ± 2,05	31,60 ± 2,00
Índice E/A	2,53 ± 0,25	2,73 ± 0,33	1,39 ± 0,01 ^{ab}	2,27 ± 0,19

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** p<0,05 vs. SHAM; **b:** p<0,05 vs. TAC; **c:** p<0,05 vs. OXA. Os valores são média ± erro padrão da média.

Conforme apontado na **tabela 3**, na quarta semana a fração de ejeção (FE) e a fração de encurtamento (FS) dos animais TAC+OXA estava reduzida em comparação ao grupo SHAM e ao grupo OXA. O grupo TAC também apresentou uma FE e FS reduzidas quando comparadas ao grupo OXA (**fig. 4**). Além disto, o diâmetro interno e o volume final do VE durante a fase sistólica demonstraram estar aumentados no grupo TAC+OXA em comparação ao grupo OXA e a espessura da parede posterior do VE na sístole estava reduzida nos grupos com a TAC quando comparados aos outros grupos sem a TAC (**tabela 2**)(**fig.5**).

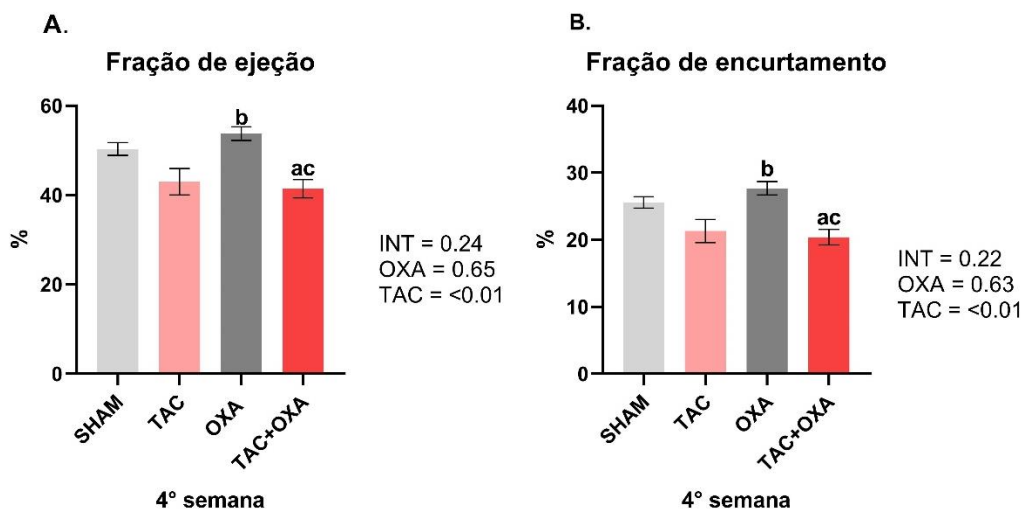


Figura 4. Parâmetros funcionais da quarta semana. A. Fração de Ejeção. **B.** Fração de Encurtamento. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

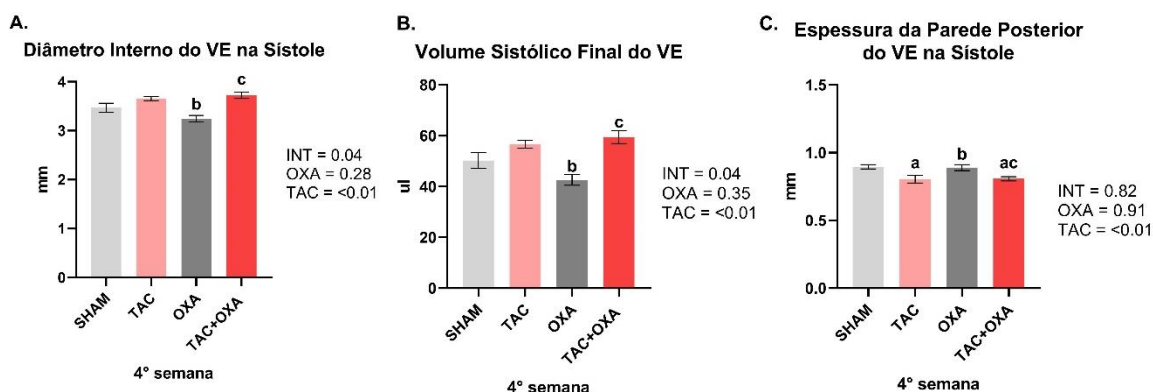


Figura 5. Parâmetros morfométricos da quarta semana. A. Diâmetro Interno do VE na Sístole. **B.** Volume Sistólico Final do VE. **C.** Espessura da Parede Posterior do VE na Sístole. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

Os parâmetros morfofuncionais apresentados na **tabela 3** indicam que na quarta semana os animais OXA estavam com a velocidade do tempo de enchimento (onda E) e a velocidade da movimentação tecidual (onda E'), durante a fase de enchimento rápido da diástole, reduzidas em comparação ao grupo SHAM. Além disso, o grupo OXA teve um aumento da onda A e uma diminuição do índice E/A em comparação ao grupo TAC+OXA. O Índice E'/A' dos animais TAC foi o menor de todos, principalmente em comparação aos SHAM (**fig.6**).

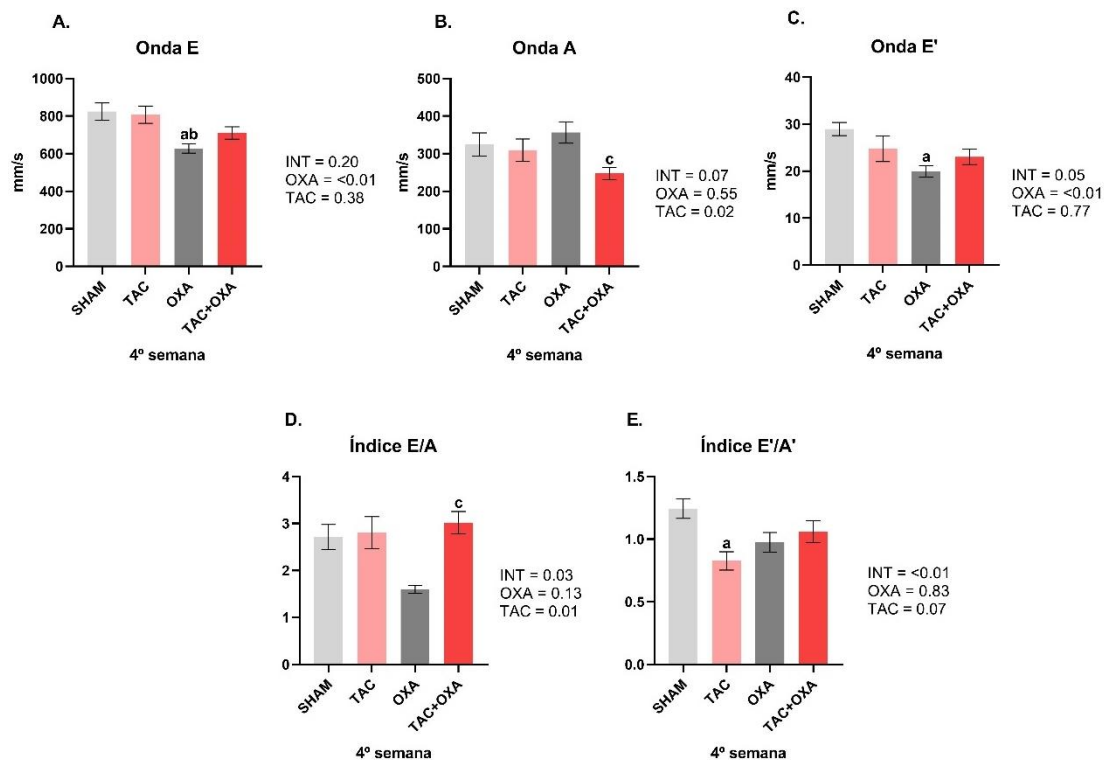


Figura 6. Parâmetros morfofuncionais da quarta semana. A. Onda E. **B.** Onda A. **C.** Onda E'. **D.** Índice E/A. **E.** Índice E'/A'. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

Na quarta semana também se verificou que os grupos com a TAC tiveram um aumento do tempo de ejeção quando comparados aos demais grupos, mas apenas o grupo TAC+OXA teve um aumento no tempo de contração isovolumétrico. O índice de performance miocárdica foi pior no grupo TAC do que nos demais grupos (fig.7).

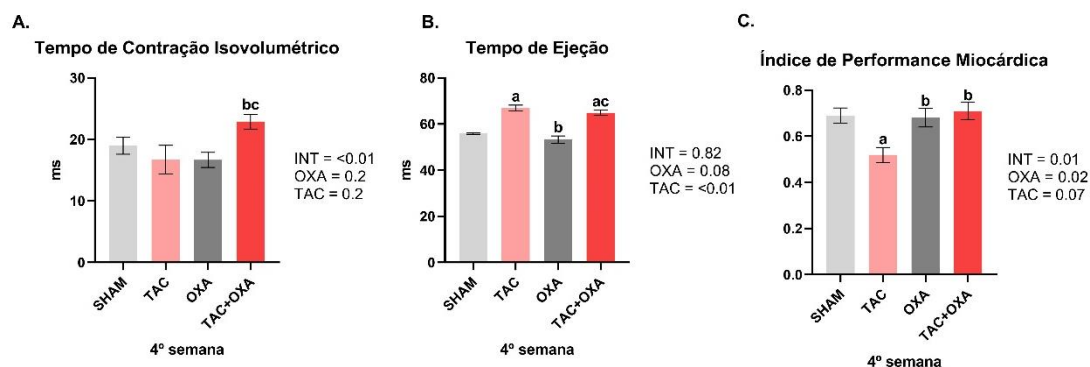


Figura 7. Parâmetros morfofuncionais da quarta semana. A. Tempo de Contração Isovolumétrico. **B.** Tempo de Ejeção. **C.** Índice de Performance Miocárdica. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:**

animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

Na oitava semana, conforme citado na **tabela 4**, o grupo OXA apresentou uma diminuição do diâmetro interno e do volume final do VE na diástole em comparação ao grupo TAC. O grupo OXA também teve a espessura da parede posterior do VE maior que a do grupo SHAM durante a fase diastólica (**fig.8**).

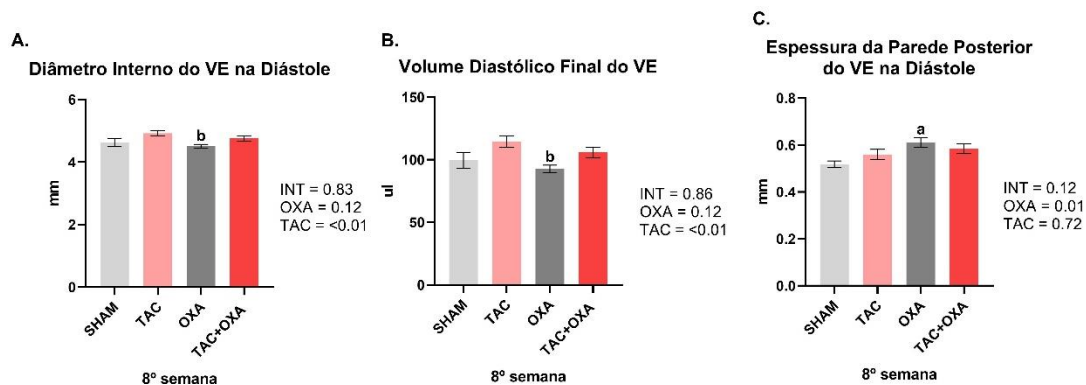


Figura 8. Parâmetros morfométricos da oitava semana. A. Diâmetro Interno do VE na Diástole. **B.** Volume Diastólico Final do VE. **C.** Espessura da Parede Posterior do VE na Diástole. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC.

A **tabela 5** mostra que na oitava semana os grupos com a TAC exibiram as maiores médias da onda E e do índice E'/A', sendo que estes aumentos se fazem evidentes em comparação ao grupo OXA. Os grupos com a TAC também tiveram os menores valores da desaceleração da onda E, principalmente o grupo TAC+OXA em comparação ao grupo OXA. O tempo de ejeção foi maior apenas no grupo TAC e o grupo OXA apresentou o menor valor do índice E/A (**fig.9**).

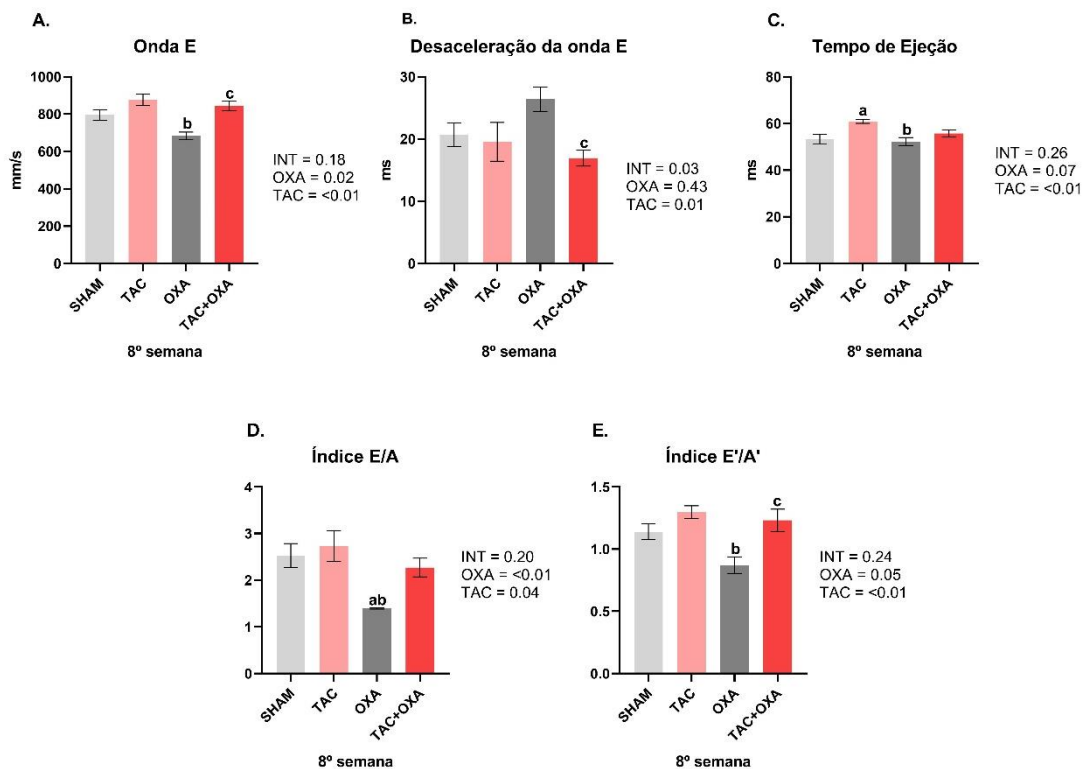


Figura 9. Parâmetros morfofuncionais da oitava semana. A. Onda E. **B.** Desaceleração da onda E. **C.** Tempo de Ejeção. **D.** Índice E/A. **E.** Índice E'/A'. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

Ao comparar o ecocardiograma da quarta semana com o da oitava semana, na **figura 10** é mostrado que o grupo TAC teve um aumento do volume final e diâmetro interno do VE na diástole. A onda E e a onda A dos TAC+OXA aumentou da quarta para a oitava semana e os dois grupos com a TAC tiveram uma diminuição da desaceleração da onda E e do tempo de ejeção. O grupo OXA teve um aumento da onda A' (**figura 11**).

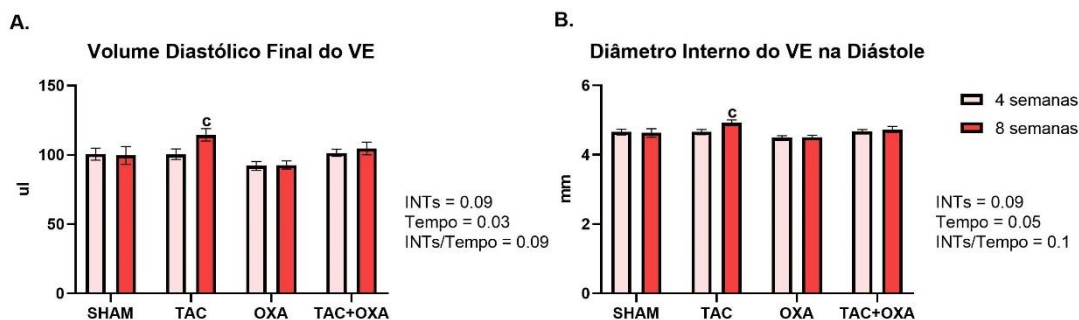


Figura 10. Parâmetros morfométricos da quarta e da oitava semana. A. Volume diastólico final do VE. **B.** Diâmetro interno do VE na diástole. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia

simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC**: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA**: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **c**: $p < 0,05$ vs. TAC da quarta semana. **e**: $p < 0,05$ vs. OXA da quarta semana; **g**: $p < 0,05$ vs. TAC+OXA da quarta semana.

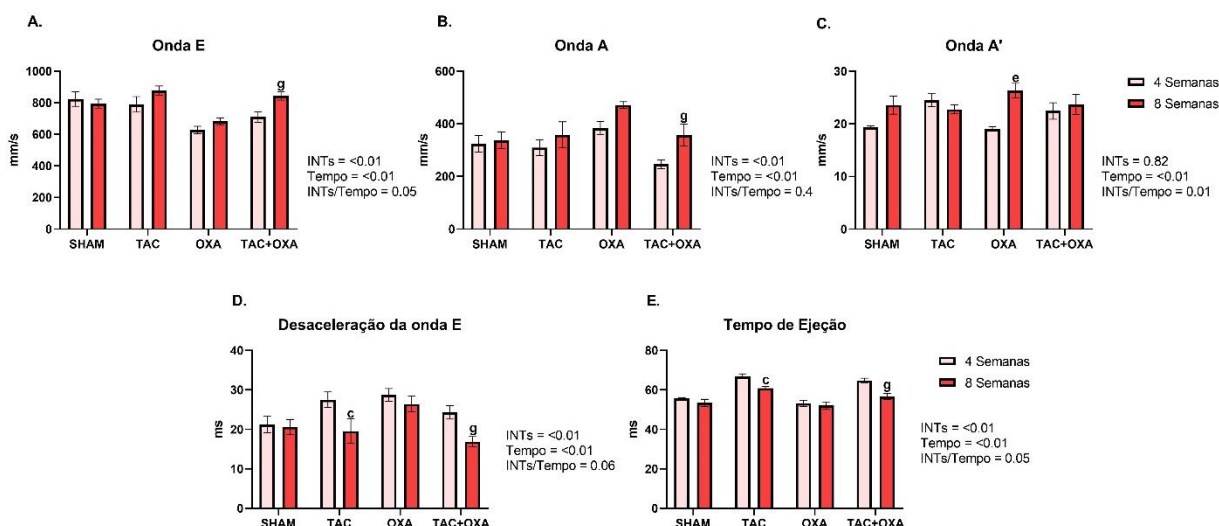


Figura 11. Parâmetros morfofuncionais da quarta e da oitava. A. Onda E. **B.** Onda A. **C.** Onda A'. **D.** Desaceleração da onda E. **E.** Tempo de ejeção. **OXA**: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM**: animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC**: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA**: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **c**: $p < 0,05$ vs. TAC da quarta semana; **e**: $p < 0,05$ vs. OXA da quarta semana; **g**: $p < 0,05$ vs. TAC+OXA da quarta semana.

4.3. Modulação Autonômica

A **tabela 6** destaca os valores da média seguida do erro padrão da média de todos os parâmetros avaliados da modulação do sistema nervoso autônomo.

Tabela 6. Modulação do sistema nervoso autônomo.

Intervalo de pulso no domínio do tempo	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
DP-IP (ms)	5,97 ± 1,31	4,56 ± 0,64	15,55 ± 4,03 ^{ab}	2,05 ± 0,19 ^c
RMSSD (ms)	6,31 ± 1,11	5,18 ± 0,89	12,55 ± 1,88 ^{ab}	2,81 ± 0,20 ^c
Domínio da frequência				
MBFA (abs)	15,36 ± 4,66	7,75 ± 2,19	39,04 ± 5,74 ^{ab}	2,54 ± 0,96 ^c
BFA (abs)	7,78 ± 2,71	3,66 ± 1,66	27,67 ± 7,47 ^{ab}	1,02 ± 0,37 ^c
AFA (abs)	13,10 ± 5,34	6,14 ± 1,48	57,60 ± 23,35 ^{ab}	2,09 ± 0,22 ^c
Potência Total Absoluta (abs)	36,19 ± 12,15	17,56 ± 4,77	124,3 ± 35,09 ^{ab}	5,67 ± 1,39 ^c
Modulação da pressão arterial sistólica				
DP-PAS (mmHg)	2,97 ± 0,07	5,63 ± 0,57 ^a	4,63 ± 0,32	4,17 ± 0,46
BFA-PAS (abs)	0,69 ± 0,07	2,55 ± 0,90	1,17 ± 0,25	1,50 ± 0,40

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM**: animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC**: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção;

TAC+OXA: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** $p \leq 0,01$ vs. SHAM; **b:** $p < 0,01$ vs. TAC; **c:** $p \leq 0,001$ vs. OXA. Os valores são média \pm erro padrão da média.

Os parâmetros utilizados para se avaliar o controle autonômico cardiovascular podem ser observados nas **figuras 12, 13, 14, 15 e 16.**

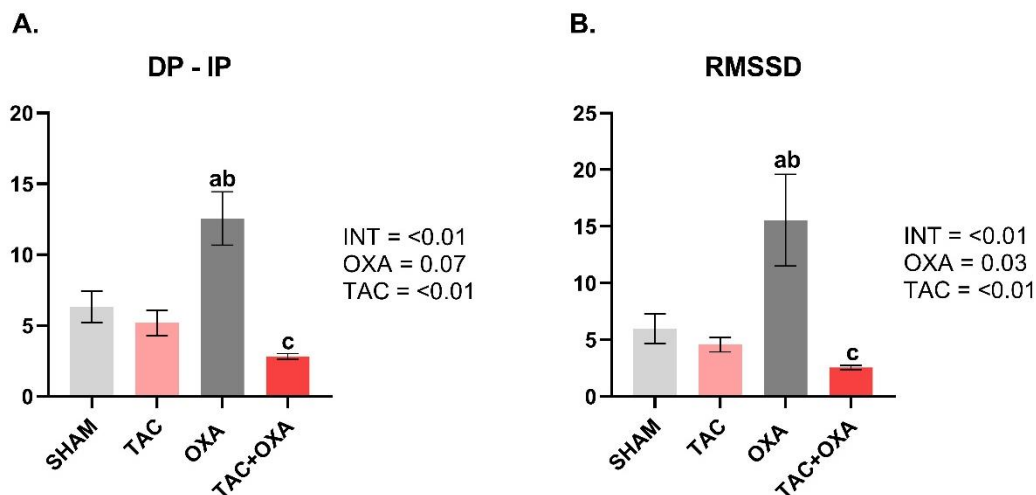


Figura 12. Parâmetros do intervalo de pulso no domínio do tempo. A. Desvio padrão do intervalo de pulso (DP-IP). **B.** Raiz quadrada da média da diferença entre batimentos cardíacos consecutivos (RMSSD). **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

Na **figura 12** pode-se observar que o grupo OXA obteve tanto o maior desvio padrão do intervalo de pulso (DP-IP) quanto a maior Raiz quadrada da média da diferença entre batimentos cardíacos consecutivos (RMSSD), o restante dos grupos não obteve diferenças entre si nos dois parâmetros apresentados. Em relação ao domínio da frequência, o grupo OXA teve o maior

valor de banda de muito baixa frequência absoluta (MBFA) e de banda de baixa frequência absoluta (BFA)(fig.13).

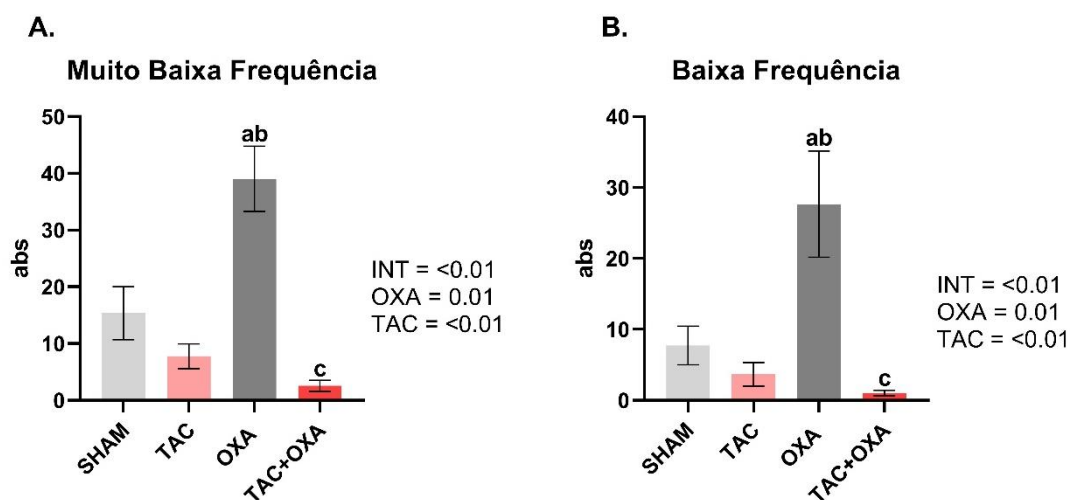


Figura 13. Análise do domínio da frequência. **A.** Banda de muito baixa frequência absoluta (MBFA). **B.** Banda de baixa frequência absoluta (BFA). **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

A banda de alta frequência absoluta (AFA) e a potência total absoluta, este último corresponde como um indicador absoluto da modulação autonômica cardíaca, apresentaram um aumento importante no grupo OXA (fig.14).

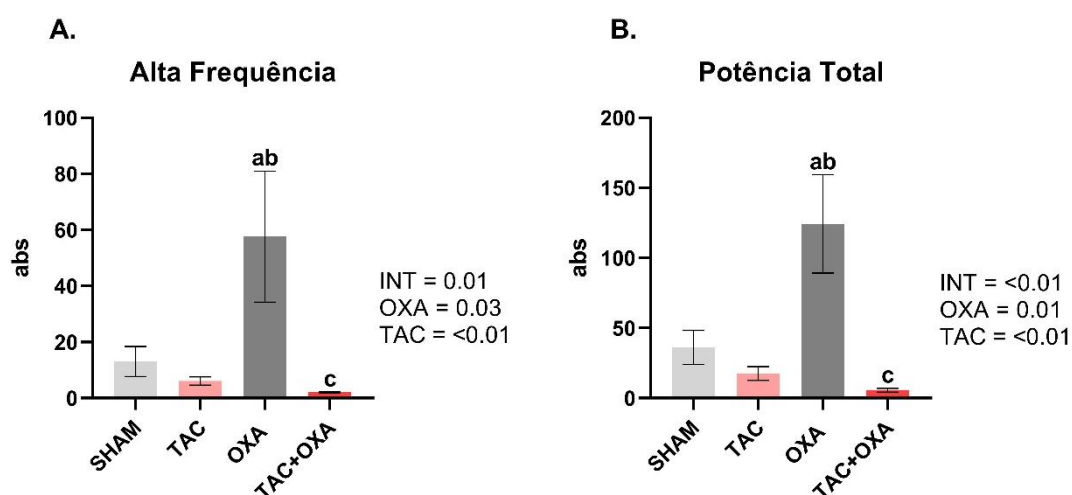


Figura 14. Análise do domínio da frequência. **A.** Banda de alta frequência absoluta (AFA). **B.** Potência Total absoluta. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

Na **figura 15** são mostradas as bandas do domínio da frequência que não tiveram diferenças entre os grupos e que também não tiveram um padrão de distribuição normal dos dados.

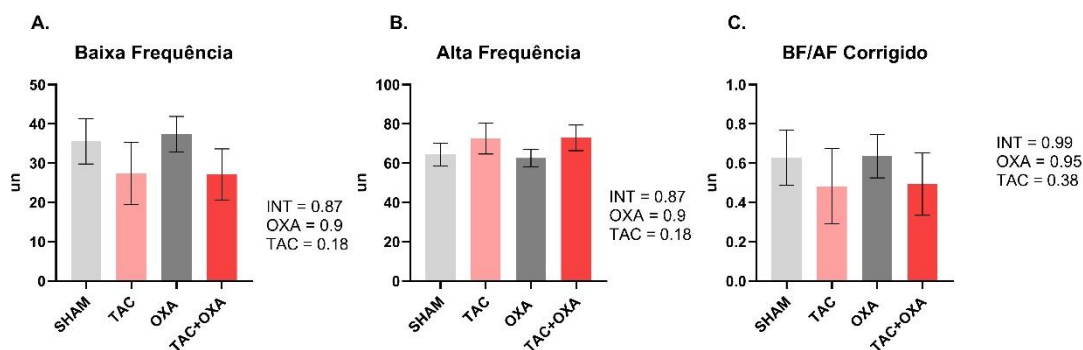


Figura 15. Análise do domínio da frequência. **A.** Banda de baixa frequência (BF). **B.** Banda de alta frequência (AF). **C.** Balanço simpatovagal. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel.

Por último, a modulação da pressão arterial sistólica pode ser avaliada por meio do desvio padrão da pressão arterial sistólica (DP-PAS) e da banda de baixa frequência absoluta da pressão arterial sistólica (BFA-PAS), sendo que o DP-PAS exibiu um aumento apenas no grupo TAC quando comparado ao grupo SHAM e a BFA-PAS não apresentou diferença entre os grupos. Contudo, no DP-PAS foi possível notar que a cirurgia TAC e a gavagem com oxalato de sódio solúvel tiveram efeito semelhante em cada animal ($p < 0.01$) sem que fosse possível observar uma diferença entre todos os grupos e a cirurgia TAC demonstrou ter sido a intervenção que mais contribuiu para essa

alteração($p=0.01$), além de demonstrar que foi um fator de maior influência na banda de BFA-PAS ($p=0.04$)(**fig.16**).

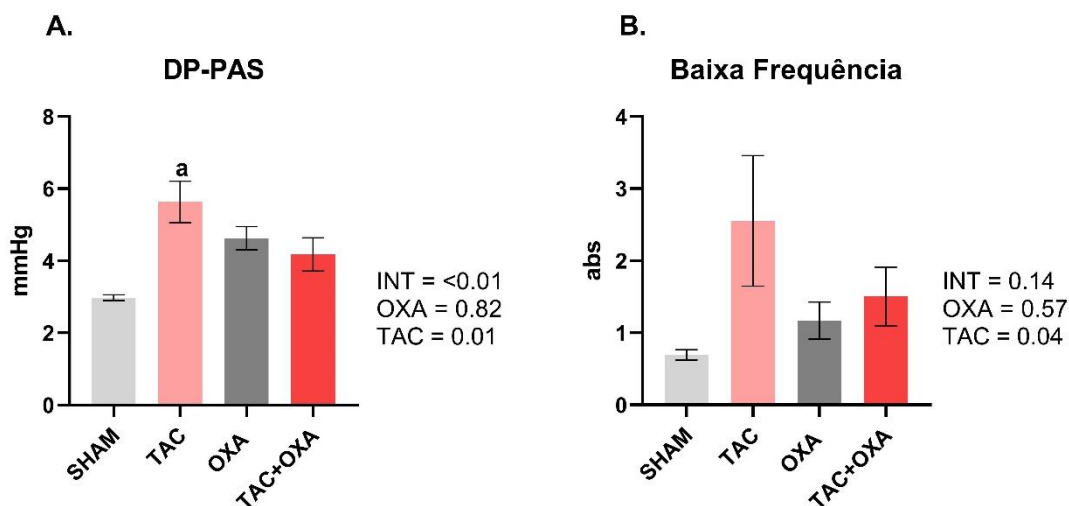


Figura 16. Análise da modulação da pressão arterial sistólica. A. Desvio padrão da pressão arterial sistólica (DP-PAS). **B.** Banda de baixa frequência absoluta da pressão arterial sistólica (BFA-PAS). **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM.

4.4. Sensibilidade Barorreflexa

Na **tabela 7** estão todos os valores da média, seguidos dos seus respectivos erros padrão da média, dos parâmetros que avaliam a sensibilidade barorreflexa.

Tabela 7. Sensibilidade barorreflexa.

Parâmetros	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
Índice de eficiência barorreflexa (bpm/mmHg)	0,30 ± 0,06	0,16 ± 0,05	0,23 ± 0,03	0,09 ± 0,01
Índice Alfa (BF-IP/BF-PAS)	3,64 ± 1,00	1,91 ± 0,62	5,10 ± 1,10	0,68 ± 0,13 ^{ac}
Taquicardia reflexa (bpm/mmHg)	10,42 ± 0,89	3,70 ± 0,98 ^a	3,94 ± 1,05 ^a	1,32 ± 0,27 ^a
Bradicardia reflexa(bpm/mmHg)	4,42 ± 0,75	2,42 ± 0,66	2,40 ± 0,75	2,45 ± 0,38

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** $p<0,05$ vs. SHAM; **c:** $p<0,01$ vs. OXA. Os valores são média ± erro padrão da média.

Foram consideradas quatro variáveis para se avaliar a sensibilidade barorreflexa, são elas o índice de eficiência barorreflexa, o índice alfa, resposta bradicárdica e resposta taquicárdica. O grupo TAC+OXA apresentou o menor

índice alfa, sendo que essa diferença foi significativa ao compará-lo aos grupos que não receberam a cirurgia TAC. Além disso, a cirurgia TAC foi o fator que mais influenciou no resultado do índice de eficiência barorreflexa e no índice alfa (fig. 17).

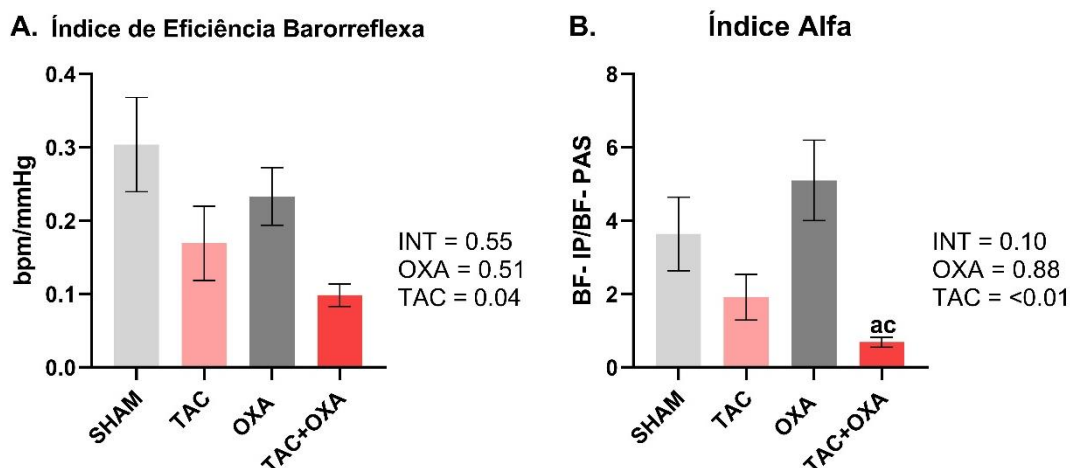


Figura 17. Análise da sensibilidade barorreflexa. A. Índice de eficiência barorreflexa. **B.** Índice alfa. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **c:** vs. OXA.

A resposta bradicárdica não apresentou diferenças entre os grupos (fig. 18). Por outro lado, a resposta taquicárdica dos animais que receberam tanto a gavagem de oxalato quanto a cirurgia TAC se mostraram diferentes da resposta do grupo SHAM (fig. 19).

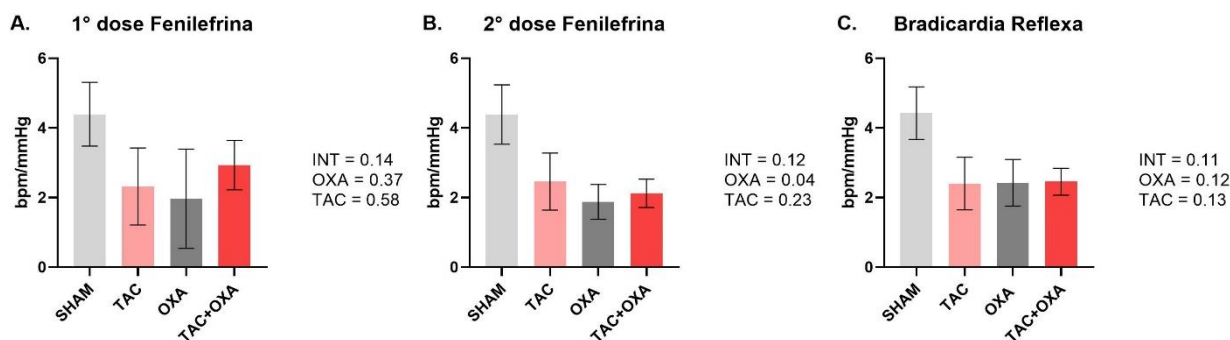


Figura 18. Resposta bradicárdica. A. 1º dose de fenilefrina. **B.** 2º dose de fenilefrina. **C.** Resposta bradicárdica reflexa. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel.

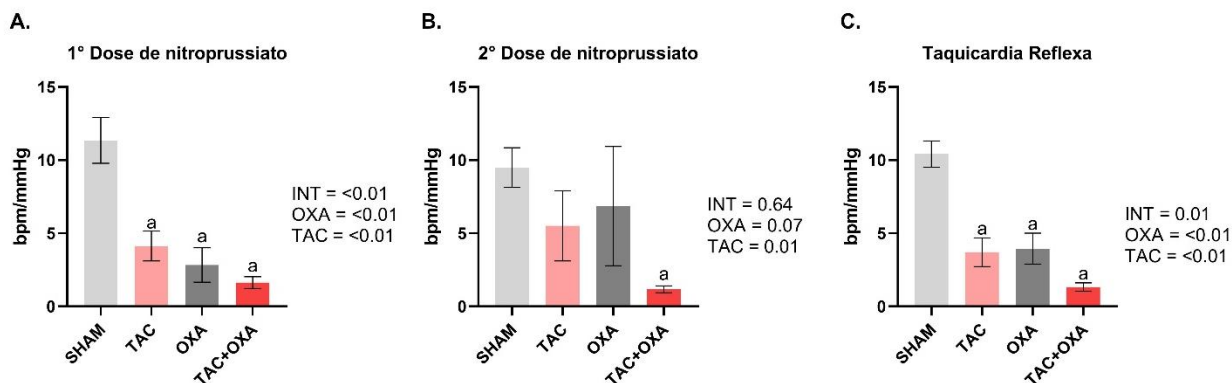


Figura 19. Resposta taquicardica. **A.** 1° dose de nitroprussiato de sódio. **B.** 2° dose de nitroprussiato de sódio. **C.** Resposta taquicárdica reflexa. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM.

4.5. Avaliação da Função Renal

O resultado das dosagens e das avaliações da função renal são apresentados nas **figuras 20, 21 e 22**. O grupo TAC+OXA apresentou um aumento da concentração de ureia sérica quando comparado com o grupo controle SHAM (**fig. 20**).

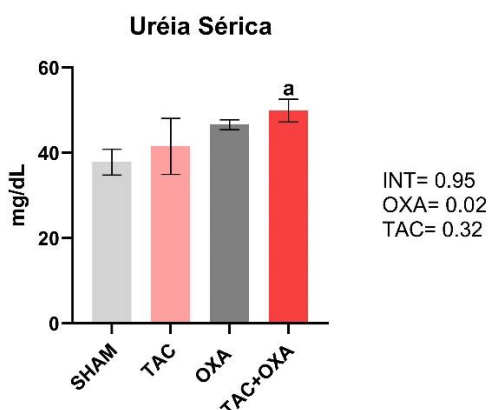


Figura 20. Concentração de ureia sérica. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** p = 0,02 vs. SHAM.

Na **figura 21.A**, os grupos não apresentaram diferença no fluxo urinário de 24h. Na **figura.21.B**, o consumo de água em 24h do grupo TAC+OXA se mostrou menor quando comparado ao grupo OXA (**fig. 21**).

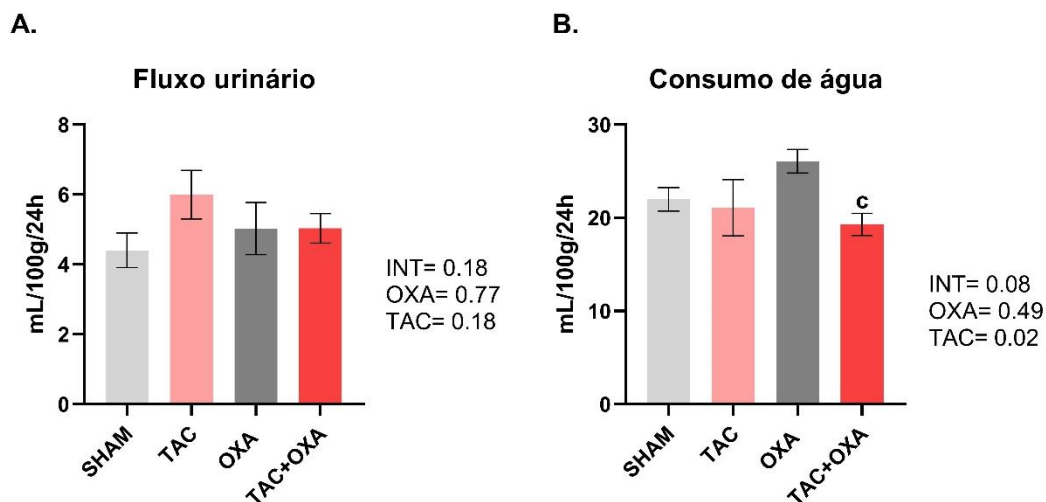


Figura 21. A. Fluxo urinário; B. Consumo de água em 24 horas. OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; SHAM: animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; TAC: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; TAC+OXA: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. c: p=0,0175 vs. OXA.

O balanço hídrico se mostrou reduzido nos grupos com a TAC, principalmente no grupo TAC+OXA ao compará-lo com o grupo OXA (fig.22).

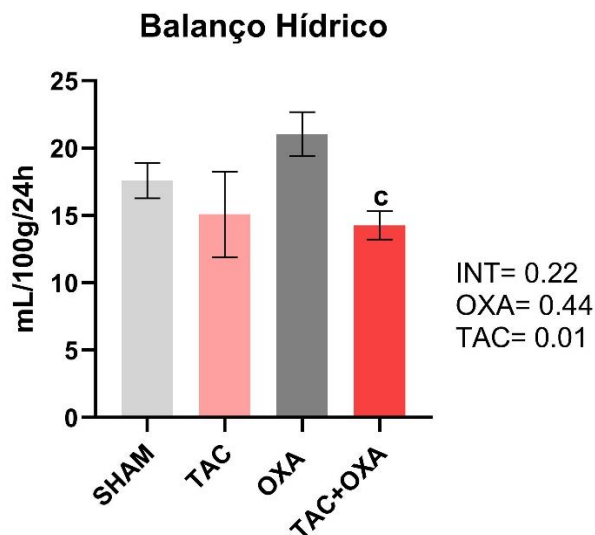


Figura 22. Balanço hídrico em 24 horas. OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; SHAM: animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; TAC: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; TAC+OXA: animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. c: p=0.0234 vs. OXA.

4.6. Análises Biométricas

A **tabela 8** mostra as médias dos dados que foram normalizados pelo tamanho da tíbia, são eles o peso corporal, dos ventrículos e dos rins. Também se observa a média dos índices de congestão. As **figuras 23, 24 e 25** apresentam as análises estatísticas dos parâmetros apresentados na **tabela 8**.

Tabela 8. Resultados biométricos.

Peso normalizado	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
Ventrículos (mg/mm)	6,73 ± 0,14	10,02 ± 0,67 ^{a4}	7,14 ± 0,27 ^b	8,05 ± 0,29 ^{ab}
Rim Direito (mg/mm)	11,08 ± 0,21	10,06 ± 0,55	10,47 ± 0,42	11,52 ± 0,42
Rim Esquerdo (mg/mm)	9,89 ± 0,28	9,57 ± 0,20	9,77 ± 0,44	10,22 ± 0,25
Massa Renal Total	20,97 ± 0,41	19,64 ± 0,72	20,25 ± 0,82	21,56 ± 0,57
Peso Corporal (g/mm)	1,67 ± 0,04	1,62 ± 0,02	1,55 ± 0,04	1,68 ± 0,03
Índice de Congestão Pulmonar	78,07 ± 0,23	78,77 ± 0,35	77,76 ± 0,23	78,83 ± 0,19 ^c
Índice de Congestão Hepática	69,86 ± 0,76	70,83 ± 0,14	68,68 ± 0,67	69,86 ± 0,30

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** $p < 0,05$ e **a4:** $p < 0,01$ vs. SHAM; **b:** $p < 0,01$ vs. TAC. **c:** $p = 0,01$ vs. OXA. Os valores são média ± erro padrão da média.

O peso dos ventrículos nos animais que receberam a cirurgia de constrição do arco aórtico foi maior quando comparado aos animais do grupo SHAM. O grupo TAC apresentou a maior média de peso, seguido do grupo TAC+OXA. Não houve diferença entre os grupos no peso corporal dos animais, porém neste parâmetro foi possível observar que tanto a cirurgia TAC quanto a gavagem com oxalato de sódio solúvel tiveram efeito semelhante em cada animal, sendo que esse efeito não foi o suficiente para causar a diferença entre os grupos ($p = 0,02$) (fig.9).

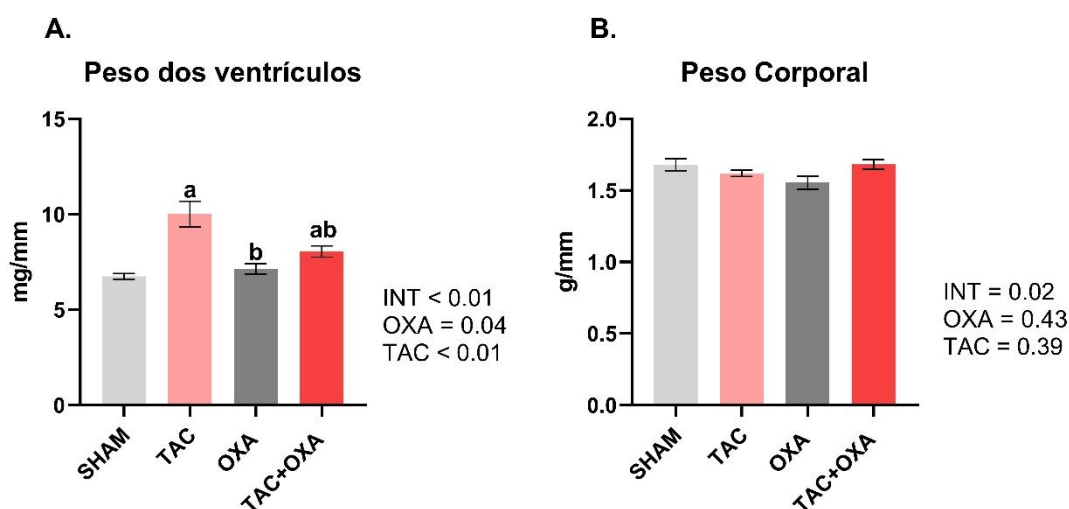


Figura 23. A. Peso dos ventrículos. B. Peso corporal. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC.

Em relação ao índice de congestão pulmonar, o único grupo que apresentou diferença foi o grupo TAC+OXA quando comparado ao grupo OXA ($p=0.01$), sendo que a cirurgia TAC demonstrou ter sido a intervenção que alterou este parâmetro ($p<0.01$). Não houve diferença entre os grupos no índice de congestão hepática (**fig.24**).

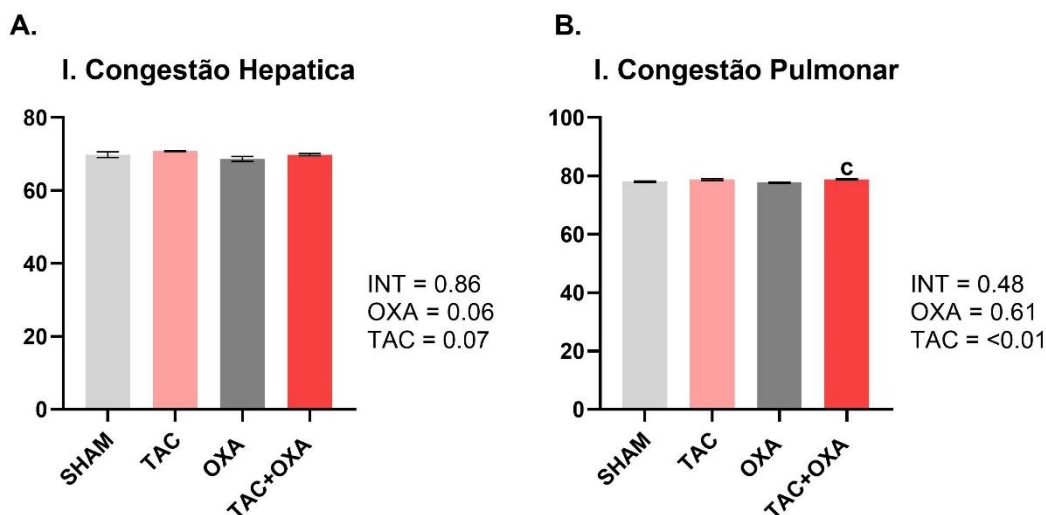


Figura 24. A. Índice de congestão hepática. B. Índice de congestão pulmonar. OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **c:** vs. OXA.

O peso dos rins e a massa renal total não apresentaram diferença entre os grupos, mas a cirurgia TAC e a gavagem com oxalato de sódio solúvel tiveram efeito semelhante em cada animal em relação ao peso do rim direito, de maneira que não foi possível observar uma diferença entre os grupos ($p=0.02$) (**fig.25**). Todavia, é interessante ressaltar que a secção sagital dos rins de alguns dos animais que receberam oxalato de sódio solúvel exibiram regiões esbranquiçadas (**fig.26**).

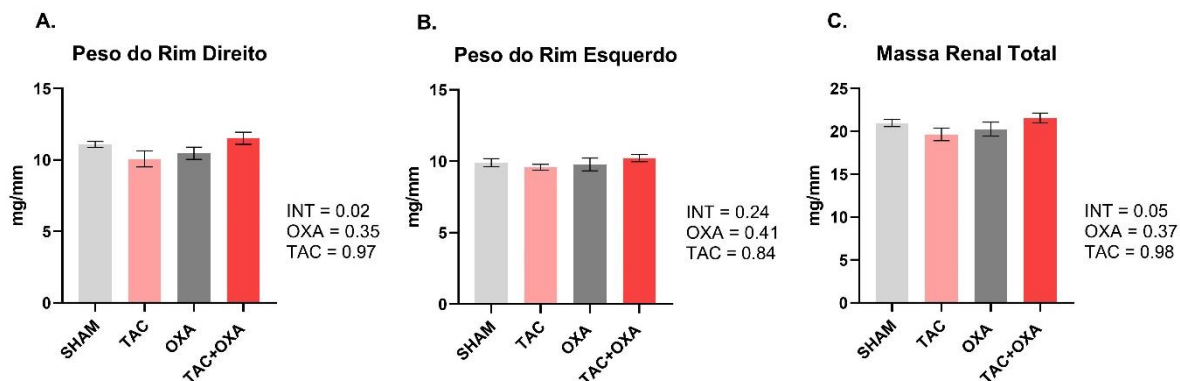


Figura 25. A. Peso do rim direito normalizado. B. peso do rim esquerdo normalizado. C. Massa renal total. OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel.

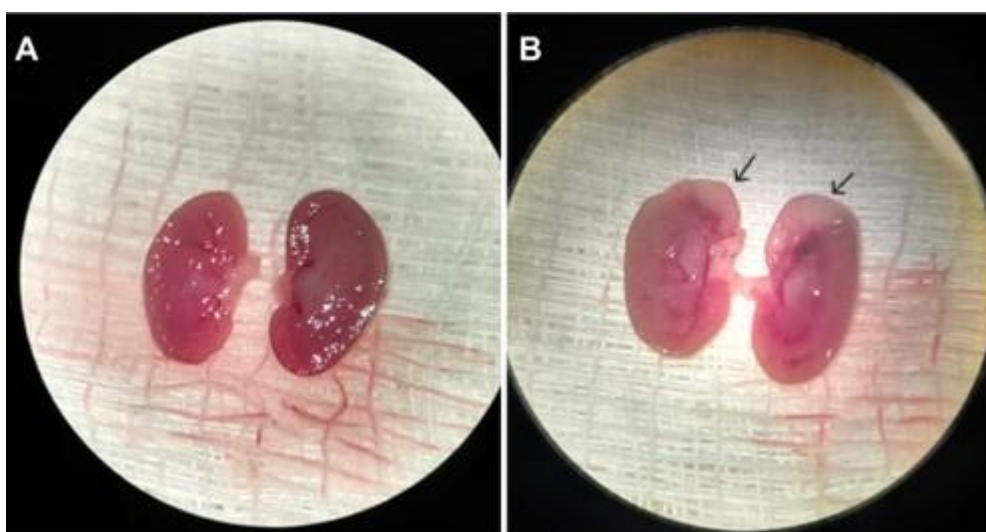


Figura 26. Rim de um camundongo que recebeu gavagem de 15 dias de oxalato de sódio solúvel ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$). A. Rim esquerdo; B. Rim Direito apresentando regiões esbranquiçadas (setas).

Ao fim do protocolo, nenhum dos animais apresentou caquexia, letargia ou dispneia.

4.7. Histopatologia Renal

Na análise histopatológica dos rins, os grupos que receberam oxalato de sódio apresentaram alterações focais nos rins, principalmente nos túbulos proximais. Estas alterações são degenerativas com perda do epitélio tubular. Alguns animais destes grupos também apresentaram necrose e infiltrados inflamatórios de maneira não constante.

No grupo TAC+OXA foi possível notar a presença de células basofílicas, maior frequência de alterações nos túbulos proximais e glomérulos com metaplasia da cápsula de Bowman e espessamento fibroso da mesma.

É importante salientar que a fixação dos rins não foi eficiente e há marcante presença de autólise nos rins dos quatro grupos avaliados, conforme observado na **figura 27**.

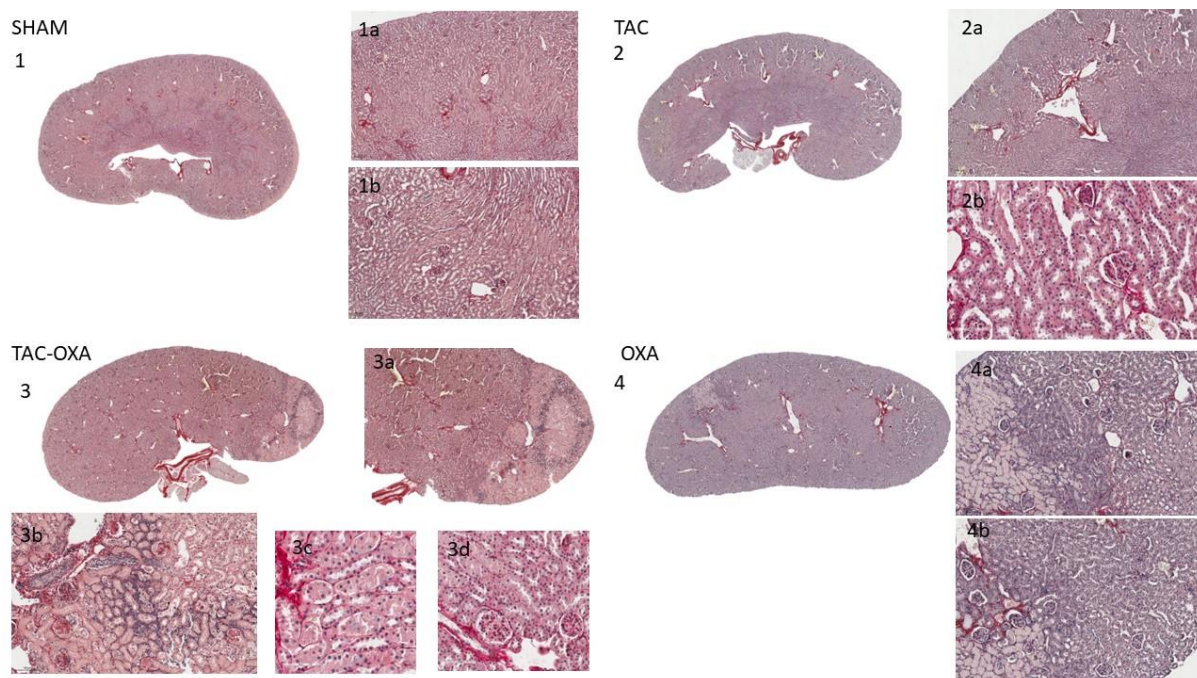


Figura 27. Cortes sagitais do rim direito de camundongos BLC57, coloração de picrossireus. 1. Rim direito de um animal SHAM; **2.** Rim direito de um animal TAC; **3.** Rim direito de um animal TAC+OXA; **4.** Rim direito de um animal SHAM+OXA.

Na **tabela 9** são apresentadas as médias do percentual de fibrose das camadas dos rins de cada grupo, seguido do respectivo erro padrão da média. A diferença deste percentual entre os grupos está explícita nos gráficos da **figura 28**.

Tabela 9. Percentual de deposição de colágeno no tecido renal.

Tecido Renal	SHAM	TAC	OXA	TAC+OXA
% Córtex	1,36 ± 0,27	0,26 ± 0,11 ^a	0,78 ± 0,12	2,02 ± 0,22 ^{bbcc}
% Medula	1,38 ± 0,11	0,52 ± 0,24 ^a	1,04 ± 0,15	3,22 ± 0,56 ^{aabbcc}
% Glomérulos	6,2 ± 0,9	2,6 ± 0,8 ^a	2,8 ± 0,6 ^a	10,3 ± 0,14 ^{aab4c4}

OXA: animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** $p < 0,05$ e **aa:** $p < 0,01$, vs. SHAM; **bb:** $p < 0,001$ e **b4:** $p < 0,0001$ vs. TAC; **cc:** $p < 0,01$ e **c4:** $p < 0,0001$ vs. TAC+OXA com o grupo OXA. Os valores são média ± erro padrão da média.

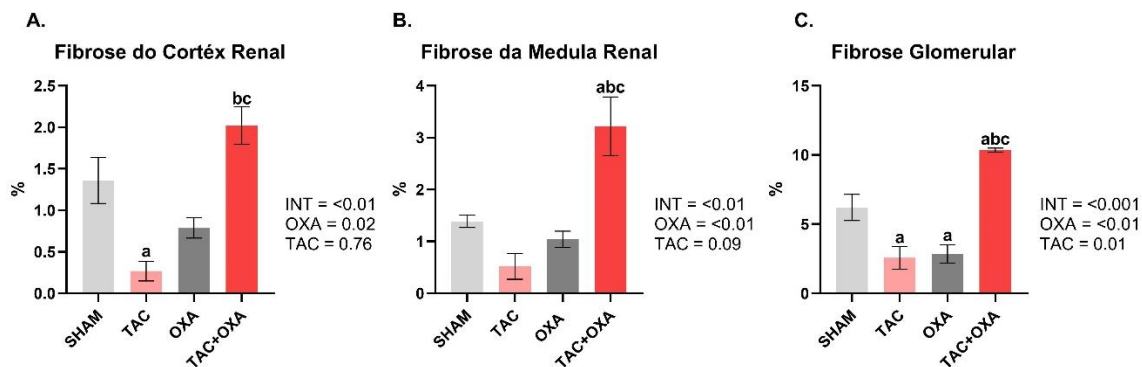


Figura 28. Percentual de fibrose das camadas do rins. **A.** Percentual de fibrose do córtex renal. **B.** Percentual de fibrose da medula renal. **C.** Percentual de fibrose glomerular. **OXA:** animais submetidos a cirurgia simulada e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel; **SHAM:** animais submetidos a cirurgia simulada e que receberam gavagem de água de injeção; **TAC:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de água de injeção; **TAC+OXA:** animais com constrição do arco aórtico e receberam gavagem de oxalato de sódio solúvel. **a:** vs. SHAM; **b:** vs. TAC; **c:** vs. OXA.

O grupo TAC+OXA apresentou os maiores valores do percentual de fibrose nas três camadas dos rins, enquanto os grupos TAC e OXA tiveram os menores valores.

5. DISCUSSÃO

5.1. Avaliação dos parâmetros hemodinâmicos

Os métodos mais comumente utilizados para se avaliar a pressão arterial na prática de experimentação animal são a aferição da pressão caudal (tail-cuff) e a aferição direta da pressão por meio da canulação de alguma artéria, como a carótida, este último como já descrito anteriormente por nosso grupo em SARTORI, 2016. A aferição por meio da canulação da carótida, ou seja, pela medida direta da PA, é um método menos utilizado na literatura tanto em camundongos após cirurgia TAC quanto em camundongos que receberam gavagem de oxalato de sódio. Sendo assim, este é o primeiro trabalho que expõem as alterações hemodinâmicas, por meio da medida direta da PA, em animais submetidos aos efeitos da TAC associada ao oxalato de sódio.

Os registros da literatura referentes a hemodinâmica do modelo TAC são escassos. Apesar disto, Schaefer e colaboradores (2003) observaram que após 4 semanas de TAC, ao aferirem a pressão intracardíaca por meio de um cateter de condutância Millar, camundongos machos C57Bl já apresentavam pressão intracardíaca sistólica de 166 mmHg e diastólica de 99 mmHg (SCHAEFER et.

al., 2003). Os animais TAC do presente estudo apresentaram pressão arterial sistólica e diastólica de 154,2 mmHg e 91,67 mmHg, respectivamente, após 8 semanas de TAC, evidenciando pressão arterial com valores compatíveis aos observados da pressão intracardíaca de animais com TAC por 4 semanas. Isto pode estar indicando que após 4 semanas de TAC a pressão destes animais se mantém constante ao menos até a oitava semana.

No que se refere a ingestão de oxalato de sódio solúvel, recentemente estudos têm mostrado que a administração de oxalato de sódio por meio de uma ração com pouca concentração de cálcio é capaz de não só causar injúria renal, mas também de causar alterações cardíacas e hemodinâmicas. Em 2021, Crestani e colaboradores mediram a pressão caudal de ratos que receberam por 21 dias uma dieta rica em oxalato de sódio e pobre em cálcio, e constataram que esses animais desenvolveram hipertensão arterial, visto que a média da PAM estava acima de 150 mmHg (CRESTANI et. al., 2021). No presente estudo os animais receberam o oxalato de sódio por meio de gavagem durante 15 dias, com solução mais concentrada de oxalato do que a concentração do estudo citado, e no grupo OXA foi observado uma pressão arterial média de 114,8 mmHg e no grupo TAC+OXA uma PAM de 132,0 mmHg.

Estes indícios apontam que a cirurgia TAC conseguiu elevar os parâmetros hemodinâmicos dos grupos e está de acordo com achados da literatura. Porém, a gavagem de oxalato de sódio por 15 dias no grupo OXA não foi suficiente para alterar os parâmetros hemodinâmicos. Em contraste, 21 dias de ingestão de oxalato de sódio nos animais do estudo de Crestani e colaboradores demonstraram alterações hemodinâmicas. É provável que o tempo de estímulo com oxalato de sódio seja mais importante para causar maior injúria cardíaca do que a concentração nas doses administradas no presente estudo.

5.2. Avaliação da função cardíaca

Na quarta semana, o grupo TAC+OXA estava com uma hipertrofia excêntrica e com a função sistólica alterada, pois estava com a FE, FS e espessura da parede posterior do VE na sístole diminuídas e com o tempo de

ejeção aumentado. O diâmetro interno do VE na sístole, o volume final sistólico do VE e o tempo de contração isovolumétrico também estavam com os maiores valores de média dentre os grupos, embora essa diferença estatística não tenha sido apontada com todos os grupos. Já o índice de performance miocárdica do TAC+OXA se manteve semelhante ao do grupo SHAM, ou seja, as alterações citadas estavam conseguindo compensar a função cardíaca dos TAC+OXA na quarta semana.

O grupo TAC também apresentou uma redução na espessura da parede posterior do VE na sístole e aumento do tempo de ejeção, mas diferente dos TAC+OXA, o índice de performance miocárdica e o marcador de movimentação tecidual do relaxamento miocárdico, o índice E'/A' , reduziram, indicando uma descompensação da função cardíaca. Apesar de os testes estatísticos não terem demonstrado um $p < 0,05$, é possível notar que a FE e a FS estão com médias inferiores às dos grupos SHAM e OXA, também o volume sistólico final do VE está maior que o dos dois grupos citados e, diferente dos TAC+OXA, os TAC não tiveram um aumento do tempo de contração isovolumétrico. Portanto, a falta de um aumento no tempo de contração isovolumétrico somado à redução do índice E'/A' e ao aumento do tempo de ejeção podem estar indicando uma piora da movimentação tecidual do miocárdio dos TAC durante a quarta semana, fazendo com que ocorra a redução do índice de performance miocárdica.

Os parâmetros morfométricos observados no OXA, durante a quarta semana, tiveram uma média de valores muito semelhante à média do grupo SHAM, no entanto mostrou alterações nas características funcionais, visto que a onda E, que é um marcador do pico de enchimento rápido diastólico, e a onda E' , que representa a movimentação tecidual durante o pico de enchimento rápido diastólico, estavam reduzidas quando comparadas aos SHAM e TAC. O índice E/A , parâmetro indicativo do relaxamento miocárdico, estava com média de valores inferiores aos demais grupos e a onda A, que marca a fase de contração atrial da diástole, estava aumentada, embora os testes estatísticos não tenham evidenciado estas diferenças com todos os grupos. Estas alterações estão mais relacionadas a um padrão de alteração do relaxamento miocárdico, ou seja, durante a quarta semana este grupo estava com uma disfunção diastólica.

NAKAMURA et. al., 2001 tiveram resultados comparáveis aos observados aqui, eles foram os primeiros a demonstrar que o desempenho sistólico do VE diminui imediatamente após a TAC, mas diferentemente do que nós observamos no presente estudo, os camundongos de NAKAMURA tiveram uma melhora da função sistólica com o desenvolvimento de uma hipertrofia concêntrica compensatória do VE ao longo de 10 a 20 dias após a TAC. Nossos animais demonstraram uma hipertrofia excêntrica mal adaptada do VE após 28 dias da cirurgia TAC.

O estudo de Crestani (2021), demonstrou que após 3 semanas da dieta de oxalato de sódio os ratos Wistar desenvolveram um estágio inicial de disfunção diastólica com hipertrofia compensatória, visto que a espessura do septo interventricular estava aumentada na diástole, mas a cavidade do VE se manteve sem alterações. Nosso estudo demonstrou que ao final de 15 dias de gavagem com oxalato de sódio solúvel, os camundongos também estavam com disfunção diastólica, mas sem sinais de hipertrofia.

Desta forma, as modificações pertinentes à quarta semana demonstram que a cirurgia de constrição do arco aórtico comprometeu a função sistólica dos animais, de maneira que o grupo TAC demonstrou uma fase inicial de hipertrofia excêntrica mal adaptada e o grupo TAC+OXA uma hipertrofia excêntrica mais adaptada. Já a gavagem com o oxalato de sódio solúvel isoladamente gerou uma disfunção diastólica sem promover modificações morfológicas.

Na oitava semana, os TAC+OXA não tiveram alterações morfológicas em comparação com os outros grupos, mas estavam com a onda E e o índice E'/A' maiores e com a desaceleração da onda E menor em comparação com os OXA. Além disso, da quarta para a oitava semana os TAC+OXA tiveram um aumento da onda E e da onda A e uma diminuição da desaceleração da onda E e do tempo de ejeção, ou seja, eles tiveram uma piora da função diastólica.

Os TAC também não tiveram alterações morfológicas em comparação com os outros grupos na oitava semana, mas estavam com o tempo de ejeção maior que os SHAM e OXA. Da quarta para a oitava semana os TAC aumentaram o volume final e o diâmetro interno do VE na diástole e, assim como

os TAC+OXA, diminuíram a desaceleração da onda E e o tempo de ejeção. Portanto, os TAC tiveram uma piora da função diastólica com uma dilatação da cavidade do VE na diástole.

Os OXA apresentaram aumento da espessura da parede posterior do VE na diástole em comparação com os SHAM e uma redução do índice E/A. Eles também estavam com a maior média de desaceleração da onda E e com os menores valores de onda E e índice E'/A', principalmente quando comparados aos grupos com constrição do arco aórtico. Da quarta para a oitava semana a onda A' dos OXA aumentou. Desta forma, na oitava semana os OXA tiveram uma piora da função diastólica, pois houve uma piora do índice E/A, uma fase de enchimento rápido da diástole prolongada devido ao maior tempo de desaceleração da onda E e uma redução do pico de enchimento rápido diastólico, posto que a onda E está diminuída. Também apresentaram uma fase inicial de hipertrofia concêntrica, visto que a parede posterior do VE na diástole estava aumentada.

HAMPTON e colaboradores em 2017 também estudaram as alterações da cirurgia TAC em camundongos macho C57/BL6 com 9 a 11 semanas de idade e observaram que após 3 semanas com a TAC os camundongos desenvolveram hipertrofia concêntrica que se manifestou por meio do espessamento da parede do VE, e posteriormente ocorreu uma regressão parcial do espessamento da parede, conforme o diâmetro e o volume do VE aumentavam. A partir da nona semana pós-TAC que se observou um aumento do diâmetro sistólico final do VE e apenas na décima segunda semana pós-TAC que o VE teve um aumento dos diâmetros e volumes diastólicos e sistólicos finais, resultando em um modelo de insuficiência cardíaca.

Complementando HAMPTON e colaboradores (2017), no presente estudo os camundongos apresentaram uma hipertrofia do VE na quarta semana pós-TAC, mas diferente do estudo citado foi uma hipertrofia excêntrica e possivelmente mal adaptada, sendo que na oitava semana os animais com a TAC já estavam apresentando fase diastólica do VE dilatada e disfunção diastólica. É provável que nossos resultados possam estar mostrando as fases

intermediárias a progressão da insuficiência cardíaca observada no modelo do estudo citado.

5.3. Avaliação da modulação autonômica

O grupo OXA foi o grupo que apresentou aumento do desvio padrão do intervalo de pulso (DP-IP), da raiz quadrada da média da diferença entre batimentos cardíacos consecutivos (RMSSD), da banda de muito baixa frequência absoluta (MBFA), da banda de baixa frequência absoluta (BFA), da banda de alta frequência absoluta (AFA) e da potência total. Também foi possível observar que os grupos que receberam a cirurgia TAC apresentaram as menores médias dos parâmetros citados, principalmente o grupo TAC+OXA, embora nem todas essas diferenças tenham sido expressas nos testes estatísticos. Esses resultados indicam que o grupo OXA apresentou um aumento acentuado da modulação autonômica como um todo, visto que tanto os parâmetros indicativos do sistema simpático quanto os do sistema parassimpático se mostraram aumentados, ou seja, o oxalato de sódio solúvel sozinho foi capaz de aumentar a modulação autonômica.

Contudo, o grupo TAC+OXA não apresentou a mesma resposta que o grupo OXA, apesar de também ter recebido a gavagem com o oxalato de sódio. O TAC+OXA teve uma resposta mais similar ao grupo TAC e ambos não demonstraram diferença significativa com o grupo SHAM, mesmo assim apresentaram uma média de valores inferior aos outros grupos, sendo a média do TAC+OXA a menor de todas.

Quanto à modulação da pressão arterial sistólica, o grupo TAC teve a maior média de DP-PAS e, embora a BFA-PAS não tenha sido estatisticamente diferente entre os grupos, é possível notar que neste parâmetro os grupos com constrição do arco aórtico obtiveram as maiores médias de valores.

Nós esperávamos que o aumento da pressão intracardíaca gerado pela TAC e a injúria cardíaca causada pelo oxalato de sódio ao longo das oito semanas fossem aumentar a atividade simpática conforme a progressão da hipertrofia cardíaca, visto que Schlaich et. al., 2003 e Grassi et. al., 2009

constatarem que pacientes com hipertensão primária tiveram um aumento da atividade simpática cardíaca à medida que a hipertrofia cardíaca e a disfunção diastólica estavam presentes (SCHLAICH et. al., 2003; GRASSI et. al., 2009). Os resultados dos animais OXA estão de acordo com o relatado em ambos os estudos citados, entretanto, o observado nos animais com a TAC foi um aumento apenas do DP-PAS e nenhuma outra alteração significativa nos outros parâmetros relacionados ao simpático, também observamos que nos animais TAC+OXA o efeito foi oposto, a atividade simpática reduziu severamente.

A resposta observada nos TAC+OXA também pode significar hiperatividade simpática, visto que SAUL et. al., 1988 e HOULE et. al., 1999 mostram que mesmo em situações de hiperatividade simpática, a modulação da BF também pode reduzir severamente, como o observado nos casos de insuficiência cardíaca dos estudos citados.

É interessante ressaltar que, com exceção dos dados da banda de baixa frequência (BF), banda de alta frequência e do balanço simpátovagal, a cirurgia TAC foi a intervenção que demonstrou ter maior influência sobre o resultado de todos os parâmetros utilizados para se avaliar a modulação autonômica, uma vez que esta foi a intervenção que teve constantemente um valor de p da interação inferior a 0.01.

5.4. Avaliação da sensibilidade Barorreflexa

O índice alfa é um indicativo da sensibilidade barorreflexa espontânea e nos resultados deste estudo foi possível observar que o grupo TAC+OXA exibiu uma importante redução deste índice quando comparado aos grupos SHAM e OXA, evidenciando que a constrição do arco aórtico juntamente com a gavagem de oxalato de sódio gerou uma atenuação da sensibilidade barorreflexa espontânea. Apesar disto, os grupos não mostraram diferenças no índice de eficiência barorreflexa, mas é necessário notar que os grupos com TAC demonstraram as menores médias nesse parâmetro.

A resposta taquicárdica dos grupos com TAC e/ou que receberam gavagem de oxalato foi expressivamente reduzida durante a 1º dose de

nitroprussiato de sódio (100ng/mm) e essa resposta se manteve reduzida durante a 2ª dose (150ng/mm) apenas no grupo TAC+OXA. A taquicardia reflexa também foi expressivamente reduzida nos grupos com TAC e/ou que receberam gavagem de oxalato.

A redução na taquicardia reflexa também foi observada em pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada após infusão de nitroprussiato no estudo de Eckberg e colaboradores em 1971. Também, no estudo citado, eles relataram que esses pacientes tiveram redução severa na desaceleração da frequência cardíaca para qualquer elevação da pressão arterial sistêmica, dado este que está de acordo com o observado em nosso estudo, uma vez que o duplo produto dos dois grupos com TAC está maior do que o dos outros grupos.

5.5. Avaliação da função renal e Biometria

As alterações cardíacas observadas neste estudo estão de acordo com os estudos TAC descritos na literatura, uma vez que o grupo TAC apresentou aumento do peso dos ventrículos, normalizado pelo tamanho da tíbia, após 8 semanas de protocolo (10,02 mg/mm). Bottner e colaboradores em 2021 também demonstraram alteração similar no peso do coração de camundongos C57Bl sedentários que, após 10 semanas de TAC, apresentaram uma média do peso do coração, corrigido pela tíbia, de 11,6 mg/mm. A frequência cardíaca, segundo Oort, et. al., 2010, de camundongos wild type após 8 semanas de TAC foi de 496 BPM, valor inferior ao observado nos grupos TAC do presente estudo. Ademais, nenhum dos artigos evidenciou diferenças nos índices de congestão pulmonar e hepática dos animais TAC (BOTTNER et. al., 2021; OORT, et. al., 2010).

No entanto, o grupo TAC+OXA teve uma média do peso dos ventrículos de 8,05 mg/mm e FC de 603,5 BPM, ou seja, um valor de massa cardíaca inferior ao esperado e FC aumentada. Esses dados podem ser um indicativo de que talvez o coração destes animais esteja conseguindo compensar o estímulo da TAC e do oxalato com uma FC aumentada e sem ganho de massa cardíaca.

Quanto ao peso dos rins, nenhum dos grupos apresentou diferença, mas a análise histopatológica mostrou que o grupo TAC+OXA teve um acúmulo de fibrose intersticial importante nas três camadas de tecido renal, enquanto os TAC e os OXA tiveram uma redução de colágeno intersticial no córtex renal e na região glomerular.

Os grupos que receberam o oxalato de sódio apresentaram alterações degenerativas com perda do epitélio tubular e presença de necrose e células inflamatória, mas dentre eles o TAC+OXA foi o que apresentou processo cicatricial com acúmulo de fibrose e maior frequência de túbulos proximais alterados, ou seja, a associação da TAC com a gavagem de oxalato de sódio solúvel gerou maior injúria renal do que quando separados. A TAC isoladamente não causou alterações importantes no tecido renal, mas o oxalato sozinho gerou processo inflamatório principalmente nos túbulos proximais.

O grupo de pesquisa de Wesseling (2021) também estudou as alterações renais oriundas do modelo de constrição do arco aórtico e relataram que mesmo quando os animais desenvolveram a insuficiência cardíaca, a TAC não induziu alterações estruturais ou funcionais significativas, mas devido à redução do volume sistólico final, os animais tiveram uma diminuição da perfusão renal e conseqüente aumento de secreção de renina, aumentando a formação de angiotensina. Assim, o grupo citado relatou que o modelo TAC pode causar dano renal primário apenas, devido a alteração do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Estes dados estão de acordo com o que observamos no presente estudo, visto que nos animais TAC não houve alterações estruturais renais significativas, apenas quando a TAC foi associada ao oxalato que se observou danos renais estruturais importantes.

A lesão renal induzida por 14 dias de dieta de oxalato de sódio nos camundongos de MA, STEIGER e ANDERS (2017) foi descrita com processo inflamatório nos rins, atrofia tubular e fibrose intersticial progressivas, características comuns a doença renal crônica progressiva. Nossos resultados também evidenciaram degeneração do epitélio tubular e processo inflamatório nos animais que receberam 15 dias de gavagem de oxalato de sódio. No entanto,

apenas o TAC+OXA que apresentou acúmulo de fibrose intersticial e aumento da ureia séria, indicando maior prejuízo da função renal neste grupo.

A administração de oxalato de sódio por gavagem durante 15 dias causou prejuízo renal, mas provavelmente o uso da ração com cálcio, mesmo deixando os animais de jejum antes e depois de administrar a gavagem, pode ter diminuído a absorção do oxalato de sódio pelo trato gastrointestinal dos animais, atenuando o efeito do oxalato principalmente no grupo OXA.

6. CONCLUSÃO

O objetivo deste estudo foi induzir hipertrofia do ventrículo esquerdo em camundongos C57Bl adultos por meio da cirurgia TAC durante 8 semanas, aumentando a pressão intracardíaca. Paralelamente, a administração de oxalato de sódio solúvel por gavagem durante 15 dias visou causar injúria renal, agravando a função cardíaca. A TAC foi eficaz em elevar a pressão arterial dos grupos. Após 4 semanas, a TAC resultou em remodelamento excêntrico assimétrico e disfunção sistólica do VE, e após 8 semanas, provocou a fase inicial de insuficiência cardíaca, com dilatação do VE, hipertrofia do VE e piora da função diastólica. A administração de oxalato de sódio por gavagem durante 15 dias causou injúria renal primária, com inflamação e danos nos túbulos proximais, a fibrose intersticial esteve presente apenas quando associada à TAC. A combinação de constrição do arco aórtico e gavagem de oxalato resultou em hipertensão sistêmica, comprometimento da função renal, hipertrofia excêntrica assimétrica, pior função diastólica, diminuição da modulação autonômica e sensibilidade barorreflexa, sugerindo a possibilidade de um modelo de insuficiência cardíaca com perda de função renal em um estudo prolongado.

REFERÊNCIAS

AIRES, Margarida de Mello. **Fisiologia**. 3 ed^a. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan S.A, 2008. p. 639.

ALURU, J. S.; BARSOUK, A.; SAGINALA, K.; RAWLA, P.; BARSOUK, A. Valvular Heart Disease Epidemiology. **Medical sciences**, Switzerland, v.10, p.32, jun. 2022.

BARROSO, Weimar Kunz Sebba et. al. Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial–2020. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 116, p. 516-658, mar. 2021.

BENZIGER, C. P.; ROTH, G. A.; MORAN, A. E. The Global Burden of Disease Study and the Preventable Burden of NCD. **Global Heart**, New York, v. 11, dez. 2016.

BERNARDO, B. C.; WEEKS, K. L.; PRETORIUS, L.; MCMULLEN, J. R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies, **Pharmacology & Therapeutics**, Australia, v. 128, p.191-227, out. 2010.

BIDANI, A. K; GRIFFIN. Pathophysiology of Hypertensive Renal Damage: Implications for Therapy. **Hypertension**, v. 44, p.595-601, set. 2004.

BJØRNSTAD, J. L.; SKRBIC, B.; SJAASTAD, I.; BJØRNSTAD, S.; CHRISTENSEN, G.; TØNNESEN, T. A mouse model of reverse cardiac remodelling following banding-debanding of the ascending aorta. **Acta Physiologica**, v. 205, p. 92-102, mai. 2012.

BOTTNER, J; WERNER, S; ADAMS, V; KNAUTH, S; KRICKE, A; THIELE, H; BUTTNER, P. Structural and functional alterations in heart and skeletal muscle following severe TAC in mice: impact of moderate exercise training. **Biological Research**, v. 54, p. 1-16, set. 2021.

BRISTOW, M. R. Mechanisms of Development of Heart Failure in the Hypertensive Patient. **Cardiology**, v. 92, p.3-6, nov. 1999.

CAMPBELL, N. R.C.; SCHUTTE, A. E.; VARGHESE, C. V.; ORDUNEZ, P.; ZHANG, X. H.; KHAN, T.; SHARMAN, J. E.; WHELTON, P. K.; PARATI, G.; WEBER, M. A.; ORÍAS, M.; JAFFE, M. G.; MORAN, A. E.; PLAVNIK, F. L.; RAM, V. S.; BRAININ, M.; OWOLABI, M. O.; RAMIREZ, A. J.; BARBOSA, E.; BORTOLOTTI, L. A.; LACKLAND, D. T. Llamado a la acción de San Pablo para la prevención y el control de la hipertensión arterial, 2020. **Revista Panamericana de Salud Pública**. v. 45, p. e26, abr. 2021.

CRESTANI, T; CRAJOINAS, R. O; JENSEN, L; DIMA, L. L; BURDEYRON, P; HAUET, T; GIRAUD, S; STEICHEN, C. A Sodium Oxalate-Rich Diet Induces Chronic Kidney Disease and Cardiac Dysfunction in Rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 9244, ago. 2021.

ECKBERG, D. L.; DRABINSKY, M.; BRAUNWALD, E. Defective cardiac parasympathetic control in patients with heart disease. **The New England journal of medicine**, v. 285, p. 877-83, out. 1971.

FOËX, P.; SEAR, J. W. Hypertension: pathophysiology and treatment. **Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain**, v. 4, p. 71-75, jun. 2004.

GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; QUARTI-TREVANO, F.; DELL'ORO, R.; ARENARE, F.; SPAZIANI, D.; MANCIA, G. Sympathetic and baroreflex cardiovascular control in hypertension-related left ventricular dysfunction. **Hypertension**, v. 53, p. 205-209, jan. 2009.

HAMPTON, C.; ROSA, R.; CAMPBELL, B.; KENNAN, R.; GICHURU, L.; PING, X.; SHEN, X.; SMALL, K.; MADWED, J.; LYNCH, J. J. Early echocardiographic predictors of outcomes in the mouse transverse aortic constriction heart failure model. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v. 84, p. 93–101, mar. 2017.

HOULE, M. S.; BILLMAN, G. E. Low-frequency component of the heart rate variability spectrum: a poor marker of sympathetic activity. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 276, p. H215-H223, jan. 1999.

IUNG, B.; Delgado, V.; Rosenhek, R.; Price, S.; Prendergast, B.; Wendler, O.; Bonis, M., et al. Contemporary presentation and management of valvular heart disease: the EURObservational Research Programme Valvular Heart Disease II Survey. **Circulation**, v. 140, p. 1156-1169, out. 2019.

JARA, Z. P.; ICIMOTO, M. Y.; YOKOTA, R.; RIBEIRO, A. A.; SANTOS, F.; SOUZA, L. E. et. al. Tonin overexpression in mice diminishes sympathetic autonomic modulation and alters angiotensin type 1 receptor response. **Frontiers in Medicine**, v. 5, p. 365, jan. 2019.

KASSA, M.; GRACE, J. The Global Burden and Perspectives on Non-Communicable Diseases (NCDs) and the Prevention, Data Availability and Systems Approach of NCDs in Low-resource Countries. **Public Health in Developing Countries - Challenges and Opportunities**. IntechOpen, 2019.

KNAUF, F.; ASPLIN, J. R.; GRANJA, I.; SCHMIDT, I. M.; MOECKEL, G.; DAVID, R.; FLAVELL, R. A.; ARONSON, P. S. NALP3-mediated inflammation is a principal cause of progressive renal failure in oxalate nephropathy. **Kidney International**, v. 84, p. 895-901, jun. 2013.

KONG, P.; CHRISTIA, P. & FRANGOGIANNIS, N.G. The Pathogenesis of Cardiac Fibrosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, New York, v. 71, p. 549–574, maio. 2013.

LYGATE, C. Surgical models of hypertrophy and heart failure: Myocardial infarction and transverse aortic constriction. **Drug Discovery Today: Disease Models**, United Kingdom, v. 3, p. 283-290, 2006.

LYGATE, C.; SCHNEIDER, J. E.; HULBERT, K.; TEN HOVE, M.; SEBAG-MONTEFIORE, L. M.; CASSIDY, P. J.; CLARKE, K.; NEUBAUER, S. Serial high resolution 3D-MRI after aortic banding in mice: band internalization is a source of variability in the hypertrophic response. **Basic Research in Cardiology**, v. 101, p.8-16, jan. 2006.

MA, Q.; STEIGER, S.; ANDERS, H. J. Sodium glucose transporter-2 inhibition has no renoprotective effects on non-diabetic chronic kidney disease. **Physiological reports**, v. 5, p. e13228, mar. 2017.

MAHER, E. R.; YOUNG, G.; SMYTH-WALSH, B.; PUGH, S.; CURTIS, J. R. Aortic and mitral valve calcification in patients with end-stage renal disease. **Lancet**, England, v. 330, p.875–877, out. 1987.

MALACHIAS, M. V. B. 7ª Diretriz brasileira de hipertensão arterial: apresentação. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 107, p. XV-XIX, set. 2016.

MATSUO, H.; DOHI, K; MACHIDA, H.; TAKEUCHI, H.; AOKI, T; NISHIMURA, H., et. al. Echocardiographic assessment of cardiac structural and functional abnormalities in patients with end-stage renal disease receiving chronic hemodialysis. **Circulation Journal**, v. 82, p. 586-595, jan. 2018.

MILL, J.G; VASSALLO, D.V. Hipertrofia cardíaca. **Revista Brasileira de Hipertensão**, Espírito Santo, v. 8, p. 63-75, jan/mar. 2001.

MORAES-SILVA, I. C.; DE LA FUENTE, R. N.; MOSTARDA, C.; ROSA, K.; FLUES, K.; DAMACENO-RODRIGUES, N. R. et. al. Baroreflex deficit blunts exercise training-induced cardiovascular and autonomic adaptations in hypertensive rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 37, p. e114-e120, 2010. Fev. 2010.

MOSTARDA, C.; RODRIGUES, B.; VANE, M.; MOREIRA, E. D.; ROSA, K.; MORAES-SILVA, I. C. et al. Autonomic impairment after myocardial infarction: role in cardiac remodelling and mortality. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 37, p. 447-452, Mar. 2010.

MULAY, S. R.; EBERHARD, J. N.; PFANN, V.; MARSCHNER, J. A.; DARISIPUDI, M. N.; DANIEL, C.; ROMOLI, S.; DESAI, J.; GRIGORESCU, M.; KUMAR, S. V.; RATHKOLB, B.; ECKHARD, W.; ANGELIS, M. H.; BÄUERLE, T.; DIETEL, B.; WAGNER, C. A.; AMANN, K.; ECKARDT, K. U.; ARONSON, P. S.; ANDERS, H. J.; KNAUF, F. Oxalate-induced chronic kidney disease with its uremic and cardiovascular complications in C57BL/6 mice. **American Journals of Physiology**, v. 310, p. F785-F795, abr. 2016.

NAKAMURA, A.; ROKOSH, D. G.; PACCANARO, M.; YEE, R. R.; SIMPSON, P. C.; GROSSMAN, W.; FOSTER, E. LV systolic performance improves with development of hypertrophy after transverse aortic constriction in mice. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 281, p. H1104–H1112, set. 2001.

OKA, T.; AKAZAWA, H; NAITO, A. T.; KOMURO, I. Angiogenesis and cardiac hypertrophy: maintenance of cardiac function and causative roles in heart failure. **Circulation research**, v. 114, p. 565-571, jan. 2014.

Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). **Cardiovascular disease burden in the Region of the Americas, 2000-2019, 2021. ENLACE data portal**. Disponível em: < <https://www.paho.org/en/enlace/cardiovascular-disease-burden>>. Acesso em: 19 out. 2023.

Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). **Un mejor manejo de la hipertensión podría salvar 420.000 vidas al año en las Américas, dice el Director de la OPS, 2023**. Disponível em: < <https://www.paho.org/es/noticias/11-5-2023-mejor-manejo-hipertension-podria-salvar-420000-vidas-al-ano-america-dice> >. Acesso em: 19 out. 2023.

OORT, R. J. V; RESPRESS, J. L; LI, N; REYNOLDS, C; ALMEIDA, A. C; SKAPURA, D. G; WINDT, L. J; WEHRENS, X. H. T. Accelerated Development of Pressure Overload-Induced Cardiac Hypertrophy and Dysfunction in a RyR2-R176Q Knockin Mouse Model. **Hypertension**, v. 55, p. 1-15, abr. 2010.

PONIKOWSKI, P.; ADRIAAN A. VOORS, STEFAN D. ANKER, HÉCTOR BUENO, JOHN G. F. CLELAND, ANDREW J. S., VOLKMAR FALK, JOSÉ RAMÓN GONZÁLEZ-JUANATEY, VELI-PEKKA HARJOLA, EWA A. JANKOWSKA, MARIELL JESSUP, CECILIA LINDE, PETROS NIHOYANNOPOULOS, JOHN T. PARISSIS, BURKERT PIESKE, JILLIAN P. RILEY, GIUSEPPE M. C. ROSANO, LUIS M. RUILOPE, FRANK RUSCHITZKA, FRANS H. RUTTEN, PETER VAN DER MEER. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. **European Journal of Heart Failure**, v. 18, p.891-975, ago. 2016.

RAI, V; SHARMA, P; AGRAWAL, S; AGRAWAL, D. K. Relevance of mouse models of cardiac fibrosis and hypertrophy in cardiac research. **Molecular and Cellular Biochemistry**, New York, v. 424, p. 123-145, out. 2016.

SARTORI, Michelle. Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações do diabetes tipo 2 em camundongos fêmeas ob/ob: papel preventivo do treinamento físico dinâmico aeróbio, resistido ou combinado [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina; 2016.

SAUL, J. Philip; Arai, Y; Berger, R. D.; Lilly, L. S.; Colucci, W. S.; Cohen, R. J. Assessment of autonomic regulation in chronic congestive heart failure by heart rate spectral analysis. **The American journal of cardiology**, v. 61, p. 1292-1299, jun. 1988.

SCHAEFER, A; KLEIN, G; BRAND, B; LIPPOLT, P; DREXLER, H; MEYER, P. Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Pulsed Doppler Tissue Imaging in Mice. **American Society of Echocardiography**, v. 16, p. 1144-1149, 2003.

SCHLAICH, M. P.; KAYE, D. M.; LAMBERT, E.; SOMMERVILLE, M.; SOCRATOUS, F.; ESLER, M. D. Relation between cardiac sympathetic activity and hypertensive left ventricular hypertrophy. **Circulation**, v. 108, p. 560-565, jul. 2003.

SHIMIZU, I; MINAMINO, T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v.97, p. 245-262, ago. 2016.

SHIOJIMA, I; SATO, K.; IZUMIYA, Y.; SCHIEKORFER, S; ITO, M; LIAO, R.; COLUCCI, W. S.; WALSH, K. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. **The journal of clinical investigation**, v. 115, p. 2108-2118, ago. 2005.

STEWART, B. F.; SISCOVICK, D.; LIND, B. K.; GARDIN, J. M.; GOTTDIENER, J. S.; SMITH, V. E.; KITZMAN, D. W.; OTTO, C. M. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v.29, p.630–634, mar. 1997.

THAM, Y.K.; BERNARDO, B.C.; OOI, J.Y.Y.; WEEKS, K. L.; MCMULLEN, J. R. Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: signaling pathways and novel therapeutic targets. **Archives of Toxicology**, Australia, v. 89, p. 1401-1438, set. 2015.

UDUMAN, Junior. Epidemiology of cardiorenal syndrome. **Advances in chronic kidney disease**, v. 25, p. 391-399, set. 2018.

WESSELING, M.; MULDER, E.; BRANS, M. A. D.; KAPTEIJN, D. M. C.; BULTHUIS, M.; PASTERKAMP, G.; VERHAAR, M. C.; DANSER, A. H. J.; VAN GOOR, H.; JOLLES, J. A.; de JAGER, S. C. A. Mildly Increased Renin Expression in the Absence of Kidney Injury in the Murine Transverse Aortic Constriction Model. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, p. 614656, jun. 2021.

World Health Organization (WHO). Cardiovascular diseases (CVDs), 2021. Disponível em: < [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))>. Acesso em 19 out. 2023.

World Health Organization (WHO). Hypertension, 2023. Disponível em:<<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>>. Acesso em 19 out. 2023.