

ANÁLISE MORFOLÓGICA CARDÍACA DE ANIMAIS SAL SENSÍVEIS E SAL RESISTENTES

Marllos Eduardo da Silva Brandão (IC) Vera de Moura Azevedo Farah (Orientadora)

Apoio: PIVIC Mackenzie

RESUMO

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) é um fator de risco considerável no desencadeamento das doenças cardiovasculares. Hoje, um modelo experimental muito utilizado no estudo da Hipertensão arterial sistêmica é a linhagem de ratos espontaneamente hipertensos (SHR), que desenvolvem HVE em condições fisiológicas e patológica. Outros modelos experimentais também são utilizados para o estudo das alterações morfofuncionais cardíacas decorrentes da elevação da pressão arterial, entre esses modelos temos os animais da linhagem Dahl, onde temos as cepas resistente ao sal e a que quando recebe sal se torna hipertensa. Portanto, este trabalho teve por objetivo analisar a morfologia cardíaca de animais Dahl sensíveis e resistentes e comparar as alterações morfológicas de animais Dahl resistentes induzidos ao *Diabetes Mellitus* (DM). Para isso, foram utilizados ratos Dahl, pesando entre 200-250g, subdivididos em 3 grupos: Dahl Resistente Controle: alimentados com ração padrão; Dahl Sensível Controle: alimentados com ração padrão; Dahl Resistente Tratado: alimentados com ração padrão e induzidos ao diabetes por única injeção endovenosa (e.v.) de estreptozotocina (50 mg/Kg). Ao final do protocolo experimental de 21 dias os animais foram submetidos à eutanásia, livre de dor ou sofrimento, mediante a uma dose de Xilazina/Quetamina (10/90 mg/Kg). Foi coletado o ventrículo esquerdo (VE) e submetido aos procedimentos histotécnicos para análises da espessura da parede, área da cavidade e área dos cardiomiócitos, nossos resultados sugerem que os animais sensíveis ao sal apresentam alterações na morfologia cardíaca independente de alterações pressóricas e que o *Diabetes Mellitus* foi capaz de alterar a morfologia cardíaca nos animais resistentes.

Palavras-chave: Hipertrofia Ventricular Esquerda. Dahl. Diabetes

ABSTRACT

Left ventricular hypertrophy (LVH) is a considerable risk factor in the onset of cardiovascular diseases. Today, an experimental model used in the study of systemic arterial hypertension is the lineage of spontaneously hypertensive rats (SHR), which develop LVH under physiological and pathological conditions. Other experimental models are also used for the study of cardiac morphofunctional alterations due to elevated blood pressure. Among these models we have the Dahl line, where we have the salt resistant strains and the one that when it receives salt becomes hypertensive. Therefore, this work aimed to analyze the cardiac

morphology of sensitive and resistant Dahl animals and to compare the morphological alterations of Dahl resistant animals induced to Diabetes Mellitus (DM). For this, Dahl rats between 200-250g, subdivided into 3 groups were used: Dahl Resistant Control: fed with standard feed; Dahl Sensitive Control: fed with standard feed; Dahl Resistant Treated: fed standard and diabetic rations by single intravenous (e.v.) injection of streptozotocin (50 mg / kg). In the end of the 21 st day experimental protocol the animals were submitted to euthanasia, free of pain or suffering, at a dose of Xylazine / Quetamine (10/90 mg / kg). Our results suggest that the saltsensitive animals present alterations in the cardiac morphology independent of changes in blood pressure and that Diabetes is the most common type of cardiomyocyte in the left ventricle. Diabetes Mellitus was able to alter cardiac morphology in resistant animals.

Keywords: Left Ventricular Hypertrophy. Dahl. Diabetes

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são responsáveis pela alta taxa de morbimortalidade, tanto nos países desenvolvidos quanto nos emergentes (GERSH et.al., 2010). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), essas doenças foram responsáveis por quase 30% da mortalidade mundial em 2004. Em 2005, no Brasil, dados estatísticos mostram que doenças do aparelho circulatório foram as principais causas de morte na população, sendo registradas como as mais frequentes, a doença cerebrovascular (8,9%) e a doença cardiovascular aterosclerótica (8,4%), (CERVATO et al., 1997; SOUZA e ALENCAR, 2009). Além disso, sabe-se os principais fatores de risco são a hipertensão arterial, as dislipidemias, a obesidade, o *Diabetes Mellitus* e a presença de hipertrofia ventricular esquerda, consequência de adaptações às sobrecargas de pressão (KATO et al., 1973; CERVATO et al., 1997; HERMSDORFF et al., 2004).

Essas doenças podem ser acompanhadas da prevalência de fatores de risco que aumentam em ritmo exponencial o seu quadro e que podem ser classificados como ambientais, pois estão relacionados principalmente pelos hábitos relacionados ao estilo de vida como dieta rica em calorias, gorduras saturadas, consumo de bebidas alcoólicas, tabagismo e sedentarismo. Outros fatores são os imutáveis que não podem ser mudados, como idade, sexo e hereditariedade que resulta na propensão genética de desenvolver o quadro de algum tipo disfunção cardiovascular. Estudos apontam que a Hipertensão arterial sistêmica e a Diabetes Mellitus podem causar ou agravar as doenças cardiovasculares, e quando associadas, aumentam o risco de mortes por acidentes cardiovasculares e lesões orgânicas no miocárdio (MANCIA, 2005).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é caracterizada pelos níveis tensionais nos vasos arteriais causados por distúrbios metabólicos, hormonais e morfofuncionais, como hipertrofias cardíacas e vasculares. A prevalência de indivíduos hipertensos no Brasil encontra-se acima de 30%, sendo uma elevação da prevalência para 50% entre indivíduos de 60 e 69 anos e 75% acima de 70 anos. Ocorre uma distribuição semelhante entre os gêneros, tendo uma prevalência de 35,8% nos homens e de 30% em mulheres (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2010).

Envolvida em mecanismos complexos como fatores genéticos e ambientais, a HAS é uma das principais resultantes das disfunções nos mecanismos de controle da pressão arterial (PA). Tais disfunções são observadas em quase todos esses mecanismos, sendo difícil

estabelecer qual fator é responsável pela manutenção dos valores elevados de pressão, sendo que diversas adaptações fisiológicas são desencadeadas nesse quadro (KRIEGER; IRIGOYEN, 1999; IRIGOYEN et al., 2003).

A Diabetes *Mellitus* (DM) é considerada uma desordem de etiologia múltipla caracterizada por hiperglicemia crônica, acarretando distúrbios no metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas, resultantes de insuficiência de secreção/ação da insulina proveniente das células beta pancreáticas. Estudos demonstram que a resistência à insulina é um fator chave no desencadeamento da doença e considerada um cofator no desenvolvimento da hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia e aterosclerose (IRIGOYEN et al., 2003).

A coexistência de ambas as patologias, HAS e DM, causam danos estruturais e funcionais no músculo cardíaco, podendo resultar insuficiência cardíaca congestiva prematura e infarto do miocárdio (MANCIA, 2005). Sabe-se também que a DM e a HAS quando associadas às alterações estruturais e funcionais das funções cardíacas como aumento da massa e anormalidade no ventrículo esquerdo, disfunção endotelial e enrijecimento arterial, precedem a doença cardiovascular clínica (IRIGOYEN, 2003). Estudos clínicos mostram que a hipertensão arterial é mais dominante em indivíduos diabéticos do que nos não diabéticos.

Pensando do ponto de vista morfológico, a hipertensão ventricular esquerda é um fator de risco considerável no desencadeamento das doenças cardiovasculares. A hipertrofia cardíaca é considerada processo adaptativo do miocárdio se manifesta pelo espessamento absoluto ou relativo das paredes das câmaras cardíacas devido ao aumento do diâmetro dos cardiomiócitos e que em alguns casos, a proliferação de tecido intersticial, como o colágeno, contribui diretamente na alteração do tecido cardíaco (FRANCHINI, 2001; ANVERSA et al., 1986; GARCIA; INCERPI, 2008).

Um modelo experimental muito utilizado no estudo da HAS tem como modelo uma linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR), desenvolvidos por modificação genética (AKAMOTO E AOKI, 1963). Esses animais desenvolvem hipertrofia do ventrículo esquerdo e elevação da pressão arterial. Em idade mais avançada esses animais podem sofrer de comprometimento da função miocárdica e dilatação do ventrículo esquerdo (CONRAD, 1991), sugerindo uma relação direta de alterações morfofuncionais cardíacas e elevação da pressão arterial.

Existem outros modelos experimentais para o estudo das alterações morfofuncionais cardíacas decorrentes da elevação da pressão arterial, entre esses modelos temos os animais da linhagem Dahl. Dahl et al. (1962) obteve a linhagem desses animais por meio do endocruzamento de ratos Sprague-Dawley de hipertensão genética resultando em duas cepas: Dahl sal-sensíveis (DS) que desenvolvem hipertensão arterial sistêmica após uma dieta hipersódica de 8 % de NaCl e Dahl sal-resistentes (DR) que mesmo submetidos a dieta hipersódica mantiveram as pressões sanguíneas similares nos grupos controle e experimental. Os mecanismos de hipertensão genética sal sensíveis da cepa de ratos Dahl ainda não são suficientemente conhecidos (FAZAN, 2001).

Pouco se conhece sobre a caracterização morfológica cardíaca da linhagem Dahl e as alterações morfofuncionais que podem ocorrer ao longo da vida ou na indução da DM. Assim, partindo do pressuposto de que a HAS e a DM podem gerar alterações morfofuncionais no tecido cardíaco, o objetivo do presente trabalho é analisar o tecido ventricular esquerdo de animais Dahl sensíveis e Dahl resistentes e comparar o tecido cardíaco de animais Dahl resistentes induzidos ao DM com animais Dahl resistentes.

3. METODOLOGIA

Foram utilizados 15 ratos Wistar Dahl Sal-Sensíveis e Dahl Sal-Resistentes separados em três grupos (Dahl Sensível Controle, Dahl Resistente Controle e Dahl Resistente Tratado) machos com peso aproximado de 200 a 250g com aproximadamente 40 dias de idade, provenientes do Laboratório Charles River (EUA) e acondicionados Biotério Central da Universidade Presbiteriana Mackenzie. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada (22^o e 25^o) de ciclo claro-escuro (12 horas) e com livre acesso à água e alimentação no Biotério Central da Universidade Presbiteriana Mackenzie. Os procedimentos experimentais adotados foram submetidos à análise e aprovação da Comissão de Pesquisa e Ética da Universidade Presbiteriana Mackenzie (Protocolo nº 12304-2015).

Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais com 5 animais:

- Dahl/Sal Sensível Controle (DSC) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água (n=5). Não houve tratamento.
- Dahl/Sal Resistente (DRC) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água (n=5). Não houve tratamento.

- Dahl/Sal Resistente Tratado (DRT) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água (n=5). Houve uma única aplicação de dose intravenosa de estreptozotocina (STZ).

Os animais foram identificados por marcação não agressiva e o peso corporal foi avaliado semanalmente utilizando balança comercial para pequenos animais (Kn Waagen).

Foram utilizados 15 ratos Wistar Dahl Sal-Sensíveis e Dahl Sal-Resistentes separados em três grupos (Dahl Sensível Controle, Dahl Resistente Controle e Dahl Resistente Tratado) machos com peso aproximado de 200 a 250g com aproximadamente 40 dias de idade, provenientes do Laboratório Charles River (EUA) e acondicionados Biotério Central da Universidade Presbiteriana Mackenzie. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada (22º e 25º) de ciclo claro-escuro (12 horas) e com livre acesso à água e alimentação no Biotério Central da Universidade Presbiteriana Mackenzie. Os procedimentos experimentais adotados foram submetidos à análise e aprovação da Comissão de Pesquisa e Ética da Universidade Presbiteriana Mackenzie (Protocolo nº 123-04-2015).

Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais com 5 animais:

Dahl/Sal Sensível Controle (DSC) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água (n=5). Não houve tratamento.

Dahl/Sal Resistente (DRC) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água (n=5). Não houve tratamento.

Dahl/Sal Resistente Tratado (DRT) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água (n=5). Houve uma única aplicação de dose intravenosa de estreptozotocina (STZ).

Os animais foram identificados por marcação não agressiva e o peso corporal foi avaliado semanalmente utilizando balança comercial para pequenos animais (Kn Waagen).

3.1 O DIABETES EXPERIMENTAL

O modelo do diabetes experimental é caracterizado pela destruição química das células beta pancreáticas por estreptozotocina (STZ). Nesse trabalho o diabetes foi induzido por uma única injeção endovenosa (e.v.) de estreptozotocina (50 mg/Kg, e.v., *Sigma Chemical Company*, St. Louis, MO, EUA) pela veia caudal (Rerup, 1970).

A estreptozotocina foi dissolvida em uma solução de tampão citrato (0,01M, pH 4,5) e injetada cerca de 5 minutos após a diluição, nos animais com 6 horas de jejum com apenas consumo de água. Ao final da indução do diabetes, os animais receberam uma solução de

glicose (12,5 g/L) durante 24 horas na água de beber. O acompanhamento ocorreu por 21 dias através do Protocolo experimental pré-estabelecido pelo grupo de pesquisa.

3.2 TESTE DE GLICEMIA

A aferição da glicemia basal para medição das concentrações de glicose sanguínea foi feita uma vez através do Accu-Check Advantage Blood Glucose Monitor (Roche Diagnostic Corporation, Indianapolis, IN), 3 dias após a indução da Diabetes por estreptozotocina (STZ).

3.3 EUTANÁSIA

Ao final do protocolo experimental, 21 dias após indução do DM, realizou-se a eutanásia, livre de dor e sofrimento, através de injeção intraperitoneal de Quetamina (90mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg). Após a retirada dos tecidos de interesse e os cadáveres dos animais foram colocados em sacos específicos para descarte e acondicionados para a incineração executada por uma empresa especializada. O coração foi colocado em Cloreto de potássio (KCl) e o ventrículo esquerdo foi seccionado.

3.4 ANALISES HISTOLÓGICAS

Durante o procedimento da eutanásia e retirada dos órgãos, pesou-se o coração e o ventrículo esquerdo foi isolado, pesado e cortado transversalmente no plano médio entre o ápice e a base como porções resultantes, fixadas em formaldeído 4% durante 24 horas.

Após esse período, transferiu-se o material para uma solução de álcool 70% posteriormente encaminhado ao processamento histológico (Processador Histotécnico OMA DM-40) para ser desidratação, diafanização e parafinização.

Os tecidos foram emblocados com paraplast (Sigma) e cortados em um micrótomo (Microm HM34OE) em fatias de 4 µm de espessura. Os cortes foram fixados em lâminas e submetidos a coloração com Hematoxilina-eosina (Dinamica e Synth). Usou-se de 3 a 5 lâminas para cada animal.

As lâminas passaram por um processo de uma sequência de 12 a 16 fotos por lâmina em um microscópio óptico (Nikon Optiphot- 2) com câmera acoplada (Nikon Digital Sight DS-UI) e analisadas digitalmente pelo programa Image Pro Plus vs, 4.1.0.0.

Os aspectos morfológicos das seguintes estruturas do ventrículo esquerdo (VE) levados em consideração como critério de caracterização do coração dos animais foram: espessura da parede, área da cavidade e área de cardiomiócitos.

Para obter a área da espessura da parede (μm) mediu-se a porção equatorial do tecido traçando os limites da parede com o cursor do mouse (Figura 1).

A área da cavidade do ventrículo esquerdo foi calculada a partir da delimitação da imagem. Desenhou-se um contorno por toda a cavidade (Figura 2) e mediu-se a área (μm^2).

Para a medição dos cardiomiócitos, contornou-se a área de cada célula observada de forma nítida (Figura 3). Para cada imagem delimitou-se 20 células para se obter a média.

Resumidamente considerou-se para as análises morfológicas a área da cavidade, espessura da parede, diâmetro dos cardiomiócitos e o volume do colágeno intersticial. Mediuse a área da cavidade e a espessura da parede do VE no aumento de 4x. Já a medição do diâmetro dos cardiomiócitos e da porcentagem do colágeno tecidual usou-se o aumento de 40x. No Programa Image Pro Plus, durante as análises, considerou-se a calibração exigida para cada aumento. A calibração foi considerada na seguinte equivalência: 1mm = 1000 μm .

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística utilizou-se o software STATISTIC 6.0 e os resultados apresentados como média \pm Erro Padrão de Média (EPM) através da análise de variância (ANOVA) de 1 caminho, seguida de Teste Bonferroni quando necessário. Considerou-se significativamente diferente somente ao acaso de $p < 0,05$.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentadas as médias e erro padrão (\pm) dos valores absolutos do peso corporal do início do protocolo (PI), ao final de 21 dias de experimento (PF) bem como o ganho de peso corporal durante os 21 dias (ΔP), que representa a diferença entre PF e PI.

Foram observadas diferenças significativas entre os grupos DRC e DRT.

Tabela 1- Média do peso corporal dos grupos no início (PI) e no final do protocolo (PF), bem como ganho corporal

GRUPO	PI (g)	PF(g)	ΔP (g)
DSC	213 \pm 1,3	273 \pm 3,8	59 \pm 2,9
DRC	243 \pm 12,7	305 \pm 12,1	62 \pm 5,4
DRT	258 \pm 19,3	249 \pm 5,1	-9 \pm 19,8 *

Sendo PI o peso no início do Protocolo, PF o peso ao final dos 21 dias e ΔP a diferença entre PF e PI, representando o ganho de peso dos grupos DSC e DRC e perda de peso do grupo DRT ao final do protocolo experimental. Considerou-se * $p < 0.05$ em DRC vs DRT

Gráfico abaixo (Figura 4) também apresenta os valores absolutos do peso inicial do Protocolo e o peso final como também, o ganho corporal ao decorrer dos 21 dias de protocolo.

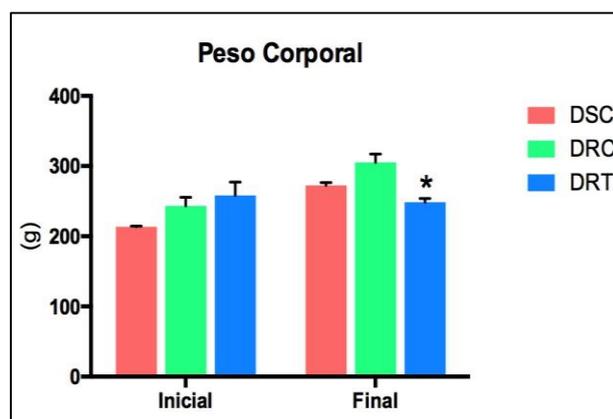


Figura 1- Peso corporal dos grupos no início e fim do protocolo. * $p < 0.05$ em DRC vs DRT.

Visto que os ratos utilizados pesavam 200 – 250 gramas de idade jovem esperava-se um aumento natural de peso em todos os grupos.

Nota-se, a partir da figura 4, que não houve diferenças significativas entre os pesos corporais dos grupos DSC e DRC. Acredita-se que por não terem sido induzidos ao DM por estreptozotocina e submetidos a uma dieta normal de ração e água de beber, seu ganho ou perda de peso corporal não foi alterado de forma significativa.

O grupo DRT, por sua vez, apresentou perda de peso corporal. O DM é uma síndrome crônica, caracterizada pela ausência de insulina ou por resistência ao hormônio. Constitui um problema de importância crescente em saúde pública e está associado a complicações que comprometem a qualidade de vida e a sobrevivência dos indivíduos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2006). Um estudo clínico e laboratorial feito por Lerco (2003) mostrou que animais diabéticos tendem a apresentar diversas características em resposta à indução do DM como apatia, alterações na pelagem, odor forte na urina, anorexia, poliúria e polidipsia.

Estudos explicam que DM do tipo I pode ser caracterizado pela destruição das células β pancreáticas, que excitam a insulina. Quando não metabolizada dentro das células, a glicose permanece na corrente sanguínea. Logo, para obter energia, o organismo tende a metabolizar outros substratos como proteínas e gorduras. Como consequência, o peso corporal tende a diminuir no curso do DM I do tipo principalmente.

Tabela 2-Glicemia basal (mg/dL) dos grupos

GRUPO	Glicemia Basal (mg/dL)
DSC	99 \pm 2,8
DRC	114 \pm 2,8
DRT	428 \pm 25,2 *

Considerou-se * $p < 0,05$ em DRC vs DRT

A glicemia basal não apresentou diferença significativa entre os grupos DSC e DRC. Porém, entre os grupos DRC e DRT houve grande diferença nos valores apresentados abaixo na Tabela 2 e na Figura 5.

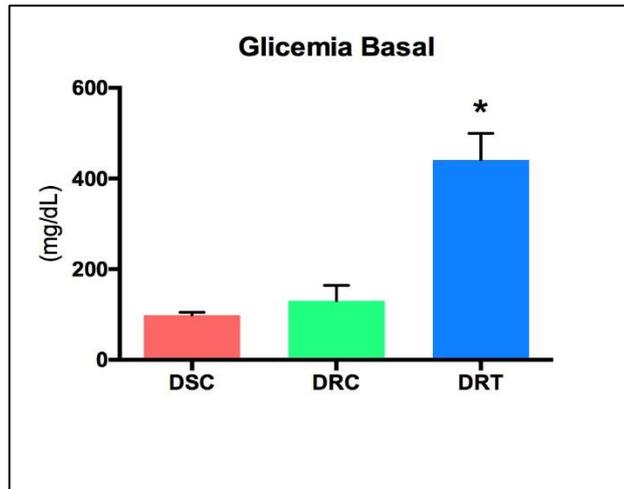


Figura 2 - Glicemia Basal. * $p < 0,05$ em DRC vs DRT.

Segundo Nery (2007), 90% dos indivíduos diabéticos do tipo I apresentam níveis hipoglicemiantes constantemente devido aos distúrbios de glicose na corrente sanguínea e excessiva eliminação pela urina. Na figura apresentada acima observou-se no grupo DRT um grande aumento da glicemia basal (mg/dL), o que difere do referencial pressuposto. A medição da glicemia foi feita 48 horas após a injeção de estreptozotocina, sendo assim, é possível compreender o valor apresentado.

A tabela a seguir (Tabela 3) mostra as médias da espessura da parede do VE dos grupos.

Tabela 3- Espessura da Parede do VE dos grupos (μm)

GRUPO	Espessura da parede do VE (μm)
DSC	1770,76 \pm 8,8
DRC	1405,9 \pm 27,5 *
DRT	1482,42 \pm 91,6 #

Considerou-se * $p < 0,05$ em DRC vs DSC e # DRC vs DRT.

A razão do VE pelo peso do grupo foi estabelecida para compreender se o peso do órgão era concomitante ao peso do animal ao longo do protocolo. Observou-se que o grupo DSC teve a maior relação do VE em proporção ao peso. Notou-se também que o grupo DRT apresentou maior proporção do VE em relação ao peso corporal comparado ao grupo DRC (Figura 6).

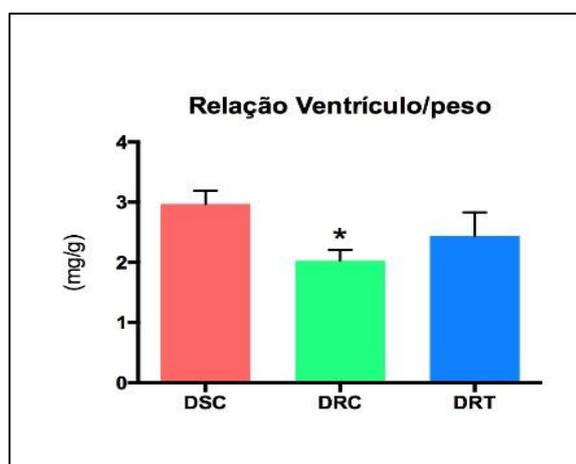


Figura 3 - Relação do V.E (g) pelo peso corporal (g). Considerou-se * $p < 0,05$ em DRC vs DSC e DRC vs DRT.

Segundo Frohlich (2001) a HVE da HAS se inicia com a hipertrofia de cardiomiócitos e o aumento da deposição de colágeno extracelular e por consequência, aumenta a rigidez ventricular gerando dificuldade no enchimento do VE. Pode ser atualmente definida como um estado de crescimento do VE caracterizado pelo aumento da massa e/ou da espessura de suas paredes (LEVY et al., 2009). Na figura 7 observou-se que a espessura da parede do VE do grupo DSC foi maior em relação ao grupo DRC. O espessamento da parede pode ser explicado na hipertrofia patológica, quando há HAS. Mesmo que os DSC e DRC apresentaram diferenças na espessura, não se considerou como hipertrofia do VE, já que os animais dos dois grupos não foram submetidos à indução da DM. Portanto, considerouse que a espessura da parede do VE estivesse em condições normais dos animais.

Entretanto, houve diferença entre o grupo DRC e DRT (Figura 7). Observou-se que o grupo DRT apresentou maior espessura em relação ao grupo DRC (Figura 7). Como dito anteriormente no referencial acima, um dos fatores que influenciam no desenvolvimento da HVE é o DM. Caracterizada como cardiomiopatia diabética, a HVE nesse quadro clínico pode ser resultado do aumento da massa ventricular e perda anormal dos cardiomiócitos por apoptose, em resposta ao estresse oxidativo no quadro de DM (BOUDINA; ABEL, 2007; DIEZ; FROHLICH, 2010).

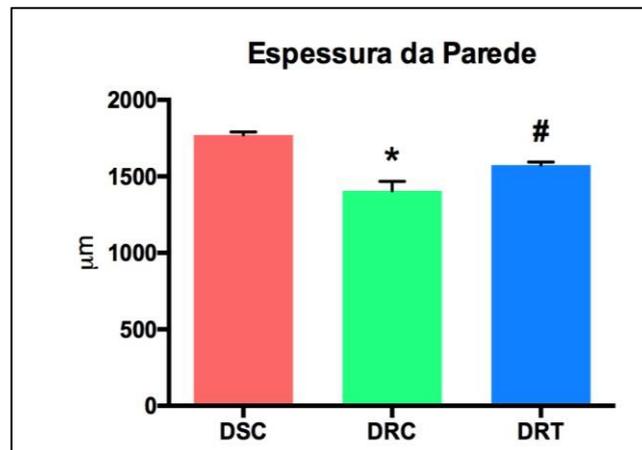


Figura 4 - Espessura da parede do V.E (µm). * $p < 0,05$ em DSC vs DRC. # $p < 0,05$ em DRT vs DRC

A tabela 4 apresenta abaixo os valores obtidos da área da cavidade de cada um dos grupos estudados.

Tabela 4-Área da cavidade dos grupos

GRUPO	Área da Cavidade (µm ²)
DSC	6983,84 ± 259,3
DRC	2164,39 ± 63,6 *
DRT	2073,10 ± 208

Considerou-se $p < 0,05$ * em DRC vs DSC.

Na área da cavidade foi observado que o grupo DSC obteve maior área que o grupo DRC (Figura 9). No entanto, o grupo DRC e DRT não apresentaram diferença significativa

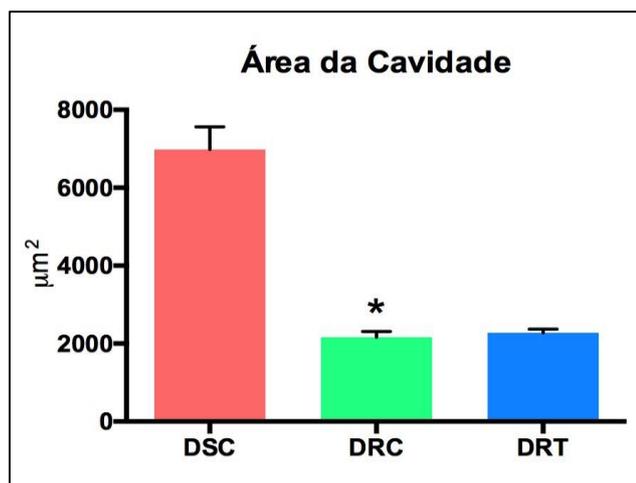


Figura 5- Área da cavidade (µm²). Considerou-se $p < 0,05$ * em DRC vs DSC.

Em doenças com sobrecarga de volume, como por exemplo a insuficiência mitral e a hipertrofia do miocárdio é comum o aumento das cavidades cardíacas, caracterizando a hipertrofia excêntrica. Os novos sarcômeros são depositados em série com relação aos pré-existentes, levando ao alongamento dos cardiomiócitos. Na evolução também ocorrem insuficiência cardíaca, infarto ou arritmia (MIHL; DASSEN; KUIPERS, 2008). O grupo DSC apresentou uma área maior em relação aos outros grupos. Logo, pode-se considerar um indício de hipertrofia. No entanto, o grupo não possuía doenças, já que não fora submetido a algum tipo de tratamento.

Porém, o grupo DRT apresentou uma área pequena em relação aos outros grupos. Logo, pode-se considerar que houve a hipertrofia concêntrica caracterizada por Muhl, Dassen e Kuipers (2008) pelo espessamento das paredes do miocárdio e redução das câmaras cardíacas. Os novos sarcômeros são depositados em paralelo com relação aos pré-existentes, aumentando a força de contração dos cardiomiócitos. A espessura da parede cardíaca ultrapassa com frequência o limite da normalidade. O processo de desenvolvimento da hipertrofia concêntrica pode ocorrer diminuição da espessura das paredes cardíacas e da força de contração. A insuficiência cardíaca pode ocorrer, assim como o óbito, que pode ocorrer por infarto ou parada cardíaca.

Calculou-se também a área dos cardiomiócitos presentes na parede do VE. Com isso, foram obtidos os seguintes resultados abaixo representados pela tabela 5 e a Figura 11, sucessivamente.

Tabela 5 - Área dos cardiomiócitos dos grupos.

GRUPO	Área dos cardiomiócitos (μm^2)
DSC	$5,4 \pm 0,16$
DRC	$2,8 \pm 0,21$ *
DRT	$1,8 \pm 0,05$ #

Considerou-se $p < 0,05$ * em DRC vs DSC e # em DRC vs DRT.

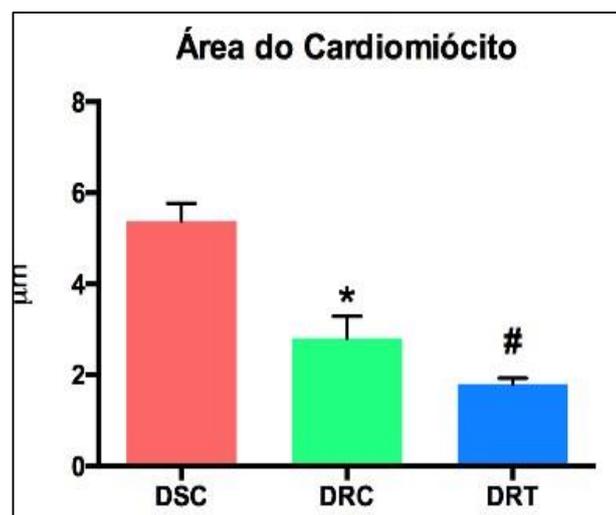


Figura 6- Área dos cardiomiócitos (μm^2). Considerou-se $p < 0,05$ * em DRC vs DSC e # em DRC vs DRT.

A figura apresentada acima mostra as diferenças entre as áreas dos cardiomiócitos de cada grupo. Notou-se que o Grupo DSC possui maior área em relação ao grupo DRC. Contudo, estes valores podem estar em condição normal. Alguns autores como Boudina (2010), Cervato (1997) e Junod (1999) afirmam que alguns modelos experimentais, incluindo animais da linhagem Dahl, possuem adaptações fisiológicas e morfológicas para algumas patologias como HAS e insuficiência cardíaca. Animais SHR, por exemplo, possuem mecanismos que geram maior compensação mitótica de cardiomiócitos em resposta à sobrecarga de trabalho e apoptose no tecido cardíaco.

O modelo DRT, por sua vez, apresentou menor área em relação ao DRC, mas pode ter apresentado uma quantidade maior de cardiomiócitos no VE do que nos outros grupos por resposta ao DM. Contudo, para maior precisão desse resultado seria necessário a contagem de cardiomiócitos, por meio de morfometria, presentes no VE de cada um dos grupos estudados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando o pressuposto de que a HVE pode ser causada por diversos fatores fisiológicos e patológicos, nossos resultados sugerem que houveram diferenças significativas na morfologia cardíaca entre os grupos DSC e DRC. A área de cardiomiócito foi menor no DRC quando comparado ao DSC sugerindo a presença de HVE nos animais

DAHL sensíveis independente da sobrecarga pressórica induzida pelo sal. Por outro lado, o *Diabetes Mellitus* também foi capaz de induzir a HVE no grupo DRT quando comparado ao grupo DRC.

Este trabalho trouxe a perspectiva da continuidade experimental visando aprimorar as técnicas utilizadas e tornar as análises mais precisas por meio de métodos como ecocardiograma, ressonância nuclear magnética e o uso de marcadores moleculares em técnicas de imunohistoquímica. Além disso, estabelecer um estudo com mediadores hipertóxicos, como o NO, em animais Dahl diabéticos e hipertensos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAMOTO K, AOKI K. **Development of a strain of spontaneously hypertensive rats.** *Jap Circ J* 27. p. 282-93, 1963.

ARAUJO E.P.; SOUZA C.T.; GASPARETTI A.L.; UENO M.; BOSCHERO A.C.; SAAD M.J., et al. **Short-term in vivo inhibition of insulin receptor substrate-1 expression leads to insulin resistance, hyperinsulinemia, and increased adiposity.** *Endocrinology*. 2005; 146: 1428-37.

BARNA, M.; BIRÓ, G. **Atherosclerosis: dietary considerations.** *World Rev. Nutr. Diet*, v. 59, p. 126-55, 1999.

BARRIOS V, ESCOBAR C, CALDERON A, RIBAS L, MARTI D, ASIN E. **Prevalence of left ventricular hypertrophy detected by Cornell voltage-duration product in a hypertensive population.** *Blood Pressure*. v.2 ,n.17, p 110, 2008

BOUDINA, S; ABEL, E.D. **diabetic cardiomyopathy, causes and effects.** *Rev endocr metab disord* 2010; 11: 31-9.

CERVATO, A. M. et al. Dieta habitual e fatores de risco para doenças cardiovasculares. **Rev Saúde Pública**, v. 31, n. 3, p. 227–35, 1997.

CONRAD CH, BROOKS WW, ROBINSON KG, BING OH. **Impaired myocardial function in spontaneously hypertensive rats with heart failure**. *Am J Pathol.* v. 260, p. 136- 45, 2000.

DAHL, LK, HEINE, M, TASSINARI, L. **Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion**. *Nature*. n.3, v. 194, p. 480-2, 1962.

DALL'AGO, P.; FERNANDES, T.G.; MACHADO, U.F.; BELLO, A.A.; IRIGOYEN, M.C: **“Baroreflex And Chemoreflex Dysfunction In Streptozotocin-Diabetic Rats”**. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v .30, p.119-124,1997.

DASH R, SCHMIDT AG, PATHAK A, GERST MJ, BINIAKIEWICZ D, KADAMBI VJ, ET AL. **Differential regulation of p38 mitogen-activated protein kinase mediates genderdependent catecholamine-induced hypertrophy**. *Cardiovasc Res.* 2003; 57: 704-14

DE ANGELIS, K.; SCHAAN, B.D.; MAEDA, C.Y.; DALL'AGO, P.; WICHI, R.B.; IRIGOYEN, M.C.: **“Cardiovascular Control In Experimental Diabetes”**. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v. 35, p.1091-1100, 2002.

Development Of Diabetic Nephropathy *Dn.Horm.Metab. Res.* n. 33, p. 1-6; 2001.

DIEZ, J. **Frohlich, a translational approach o hypertensive heart disease**. *Hypertension* 2010; 55: 1-8.

DEVEREUX RB, ROMAN MJ, DE SIMONE G, O'GRADY MJ, PARANICAS M, YEH JL, et al. **Relations of left ventricular mass to demographic and hemodynamic variables in American Indians: the Strong Heart Study**. *Circulation.* v.5, n. 96 p.1416-1423, 1997.

FARAH, V. M. A.; DE ANGELIS, K.; JOAQUIM, L. F.; CANDIDO, G. O; BERNARDES, N.; FAZAN, R.; SHAAN, B. D.; IRIGOYEN, M. C. **Autonomic modulation of arterial pressure and heart rate variability in hypertensive diabetic rats**. *Clinics*, São Paulo, v. 62, n. 4, p. 477-482, 2007.

FIORINO, P.; EVANGELISTA, F. S.; SANTOS, F.; MAGRI, F. M. M.;DELORENZI, J. C.M.O.B.; GINOZA, M.; FARAH, V. M. A. **The effects of green tea consumption on cardiometabolic alterations induced by experimental diabetes**. *Exp Diabetes Res*, 2012.

FRANCHINI, K. G. **Hipertrofia cardíaca: mecanismos moleculares**. *Rev Bras Hipertens*, v. 8, n. 1, p. 125–42, 2001.

GARCIA J.A.; INCERPI, E. K.; **Factors and mechanisms involved in left ventricular hypertrophy and the anti-hypertrophic role of nitric oxide**. *Arq Bras Cardiol.* V. 6, n. 90, p.409-416, 2008.

GERSH BJ, SLIWS K, MAYOSI BM, YUSUF S. **Novel therapeutic concepts: the epidemic.of cardiovascular disease in the developing world: global implications**.

Eurheart J. n. 31, p. 642-8, 2010.

IRIGOYEN, M. C, et al. **Exercício físico no diabetes melito associado à hipertensão arterial sistêmica.** *Rev Bras Hipertens.* v. 10, n.2, 2003.

JUNOD, A.; LAMBERT, A.E.; STAUFFACHER, W.; RENOLD, A.E **Diabetogenic Action Of Streptozotocin: Relationship Of Dose To Metabolic Response.** *J. Clin. Invest.;* v. 48 , n. 11, p. 2129-39,1999.

KATO, H. et al. **Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in japanese men living in Japan, Hawaii and California.** *Am. J. Epidemiol.,* **97:**372-85, 1973.
7.

KEMPF, T; WOLLERT K.C. **Nitric oxide and the enigma of cardiac hypertrophy.***Bioessays.* v. 6, n.26,p. 608-615, 2004.

LERCO, M. M. et al. **Caracterização de um modelo experimental de Diabetes mellitus, induzido pela aloxana em ratos.** Estudo clínico e laboratorial. *Acta Cirúrgica Bras.,* v. 18, n. 2, p.133-142, 2003.

LIEB W, GONA P, LARSON MG, ARAGAM J, ZILE MR, CHENG S, et al. **The natural history of left ventricular geometry in the community clinical correlates and prognostic significance of change in LV geometric pattern.** *JACC Cardiovasc Imaging.* v.7, n, p. 870, 2014.

LINDPAINTENER K.; GANTEN, D. The cardiac rennin-angiotensin system: an appraisal of present experimental and clinical evidence. *Circ Res.* v.1, n. 68, p. 905-914, 2014;.

LORELL B.H.; CARABELLO, B.A. **Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis.** *Circulation.*v.4, n.102, p.470-473, 2010.

MANCIA, G. **The association of hypertension and diabetes:prevalence and cardiovascular risk and protection by blood pressure reduction.** *Acta Diabetol,* 2005.

MIHL, C.; DASSEN, W.R.M.; KUIPERS, H.; **Cardiac Remodeling: Concentric hypertrophy and eccentric hypertrophy.** *Netherlands Heart Journal.* v. 16, n.4, 2008.

OGIHARA T, ASANO T, ANDO K, SAKODA H, ANAI M, SHOJIMA N, et al. **High-salt diet enhances insulin signaling and induces insulin resistance in Dahl salt-sensitive rats.** *Hypertension.* v.9, n.40, p.83, 2002.

OLIVEIRA, V. L.; MOREIRA, E. D.; FARAH, V. M. A.; CONSOLIM-COLOMBO, F; KRIEGER, E.M.; IRIGOYEN, M.C. **Cardiopulmonary reflex impairment in experimental diabetes in rats.***Hypertension* v.4, n.34, p.813-817. 1999

OZAKI M.; KAWASHIMA S.; YAMASHITA T.; HIRASE T.; OHASHI Y.; INOUE N, ET AL. **Overexpression of endothelial nitric oxide synthase attenuates cardiac hypertrophy induced by chronic isoproterenol infusion.** *Circ J.* 2002; 66: 851-6

PEWSNER D, JÜNI P, EGGER M, BATTAGLIA M, SUNDSTRÖM J, BACHMANN LM. **Accuracy of electrocardiography in diagnosis of left ventricular hypertrophy in arterial hypertension: systematic review.** n.711, p. 707, 2007.

PUNTMANN VO, GEBKER R, DUCKETT S, MIRELIS J, SCHNACKENBURG B, GRAEFE M, ET AL. **Left ventricular chamber dimensions and wall thickness by cardiovascular magnetic resonance: comparison with transthoracic echocardiography.** Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2013.

SATO K, KOMARU T, SHIOIRI H, TAKEDA S, TAKAHASHI K, KANATSUKA H, ET AL. **Hypercholesterolemia impairs transduction of vasodilator signals derived from ischemic myocardium: myocardium-microvessel cross-talk.** Arterioscler Thromb Vasc Biol. v.11, n.24, p. 2034-2039, 2004.

SCHAAN, B.; BERTOLUCI, M.C.; LACCHINI, S.; MACHADO, U.F.; IRIGOYEN, M.C.; SCHIMID, H. **“Increased Renal Glut 1 Abundance, Albuminuria And Urinary Tgf- β 1 In Stz-Induced Diabetic Rats,** 2008.

SCHILLACI G.; BATTISTA F.; PUCCI G. **A review of the role of electrocardiography in the diagnosis of left ventricular hypertrophy in hypertension.** J Electrocardiology. v. 45, n.6, p.617-623, 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Atualização brasileira sobre diabetes.** Rio de Janeiro. p. 1-43, 2014.

YAGIHASHI, S. ;Hiroasaki Univ. School Medicine, Dep. Pathology, 5 Zaifu-Cho, **“Hiroasaki Pathology And Pathogenetic Mechanisms Of Diabetic Neuropathy 036”**,Japon Diabetes/Metabolism Reviews , v. 11, n. 3 , p. 193-225, 1995.

YANG, T. **Red Algae reduces (*Gelidium amansii*) adiposity via activation of lipolysis in rats with diabetes induced by streptozotocin-nicotinamide.** JFDA, v.30, p.1-8, 2015.

Contatos: brandao.marillos@gmail.com e vera.farah@mackenzie.br