



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

EMANUEL BARBOSA DOS SANTOS

**REDUÇÃO DA EXPRESSÃO DE CONEXINA 43 PROVOCA ARRITMIAS ATRIAIS
EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO EXPERIMENTAL**

**SÃO CRISTÓVÃO
2025**

**EMANUEL
BARBOSA
DOS SANTOS**

**REDUÇÃO DA EXPRESSÃO DE CONEXINA 43
PROVOCA ARRITMIAS ATRIAIS EM RATOS COM
HIPOTIREOIDISMO EXPERIMENTAL**

2025

EMANUEL BARBOSA DOS SANTOS

**REDUÇÃO DA EXPRESSÃO DE CONEXINA 43 PROVOCA ARRITMIAS ATRIAIS
EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Diego Santos de Souza

**SÃO CRISTÓVÃO
2025**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Santos, Emanuel Barbosa dos
S237r Redução da expressão de conexina 43 provoca arritmias atriais em ratos com hipotireoidismo experimental / Emanuel Barbosa dos Santos ; orientador Diego Santos de Souza. – São Cristóvão, SE, 2025.

70f. : il

Dissertação (mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2025.

1. Hipotireoidismo. 2. Fibrilação atrial. 3. Conexina 43. 4. Coração - Doenças. 5. Eletrofisiologia. I. Souza, Diego Santos de, orient. II. Título.

CDU 612.17:616.441-008.61

EMANUEL BARBOSA DOS SANTOS

**REDUÇÃO DA EXPRESSÃO DE CONEXINA 43 PROVOCA ARRITMIAS ATRIAIS
EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Diego Santos de Souza

Orientador: Prof. Dr. Diego Santos de Souza
Universidade Federal de Sergipe

1º Examinador: Prof. Dr. Michael Nadson Santos Santana
Universidade Federal de Sergipe

2º Examinador: Prof. Dr^a. Carla Maria Lins Vasconcelos
Universidade Federal de Sergipe

Aos mestres que, com seus ensinamentos e exemplos, despertaram em mim a paixão pelo conhecimento e me inspiraram a trilhar o caminho acadêmico, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

No momento em que escrevo estas palavras, passou-se apenas um ano desde o meu ingresso no programa de mestrado – embora a sensação seja de que vivi uma vida inteira nesse intervalo. Foi uma experiência intensa, transformadora e, em muitos momentos, desconfortável. Um desconforto necessário, que moldou não apenas minha trajetória profissional e acadêmica, mas, sobretudo, minha vida pessoal. E é justamente por isso que, ao chegar aqui, torna-se impossível não reconhecer o papel essencial de algumas pessoas cuja presença, apoio ou simples existência foram essenciais para que eu pudesse seguir em frente.

Devo iniciar, com toda a certeza, agradecendo à minha mãe, Maria Aparecida. Foi ela quem me inseriu no meio acadêmico e esteve ao meu lado desde o início, mesmo com recursos escassos e com as limitações de morar no interior. Me ver formado sempre foi um sonho para ela, e por isso, nunca me faltaram incentivo e apoio para continuar estudando. Concluir a graduação e pensar em seguir carreira acadêmica só foi possível graças à sua persistência, à sua força e ao cuidado que sempre me foi dado.

Outro pilar fundamental nessa caminhada foi meu amado parceiro, Matheus, que enfrentou junto comigo cada etapa desse processo, desde os percalços da pré-seleção até este momento em que finalmente concluo este trabalho. Suas palavras, sua escuta, sua paciência e a partilha dos pequenos e grandes momentos fizeram toda a diferença. Pude encontrar em você companhia e apoio mesmo nos dias em que eu mal conseguia estar presente por completo.

Finalizar o mestrado, em muitos momentos, pareceu uma tarefa impossível. Conciliar estudo e trabalho, administrar uma casa e manter uma vida pessoal minimamente organizada foi, sem dúvida, um grande desafio. Logo no início, essas barreiras pareciam muito intimidadoras. Ser egresso de outra universidade, não conhecer os docentes do programa e não dispor de tempo integral para me dedicar às atividades do laboratório geraram um sentimento de deslocamento. Ainda assim, encontrei acolhimento e oportunidades onde esperava obstáculos e devo isso, em grande parte, à orientação do professor Diego.

A este grande mestre, minha mais sincera gratidão. Sua generosidade, disponibilidade e confiança foram determinantes para que eu pudesse concluir todas as etapas do mestrado – e, vejam só, com um ano de antecedência. Você mostrou que, quando há compromisso genuíno por parte do orientador, as coisas realmente acontecem. Mais do que um orientador, você foi um parceiro neste processo. Estendo esse agradecimento à professora Aimeé, que esteve presente na rotina dos experimentos e ofereceu suporte, quando necessário. Mais do que

esclarecer dúvidas, também compartilhou suas experiências de vida que foram verdadeiramente inspiradoras para mim.

Falando em experimentos, não poderia deixar de mencionar os colegas do meu grupo de pesquisa, que foram muito prestativos e parceiros. Sempre com muita disposição, colocaram a mão na massa comigo para que tudo acontecesse da melhor forma possível. Fui acolhido desde o início com atenção e respeito, e a colaboração de cada um foi indispensável. Em especial, cito Jonathan e Sérgio, que trilharam boa parte desse percurso comigo, com muita parceria e comprometimento.

Agradeço também ao professor Enilton, então coordenador do PROCFIS, por ter sido solícito durante este período. Reconheço que foram muitas as demandas, mas ainda assim houve paciência e resolutividade de sua parte.

À banca examinadora, meu reconhecimento e gratidão pela leitura criteriosa ao meu trabalho, pelas contribuições valiosas e pelo direcionamento que enriqueceram ainda mais esta pesquisa.

Aos meus amigos especiais, que estiveram por perto nas mensagens, nas ligações, nas visitas, nos rolês... deixo meu mais sincero carinho e gratidão. A amizade de cada um tem um significado especial para mim e exalto a importância de tê-los comigo.

Por fim, sou grato a mim mesmo por não ter desistido, apesar das incertezas, do cansaço e das inúmeras renúncias. Em cada passo trilhado, houve muito esforço e empenho e isso não me limito em reconhecer. Quem lê este trabalho vai enxergar nele um conteúdo científico – e, sem dúvida, muito relevante. Porém, quando leio tudo que aqui está escrito, enxergo momentos, histórias, crescimento pessoal e, acima de tudo, superação.

“Se quiserem saber o que é a revolução, chamem-na de Progresso, e, se quiserem saber o que é o progresso, chamem-no de Amanhã. O Amanhã faz irresistivelmente seu trabalho, e o faz desde hoje.”

- **Victor Hugo**, *Les Misérables* (1862)

RESUMO

Redução da expressão de conexina 43 provoca arritmias atriais em ratos com hipotireoidismo experimental, Emanuel Barbosa dos Santos, São Cristóvão, Sergipe, 2025.

O hipotireoidismo é um distúrbio caracterizado pela diminuição da produção ou ação dos hormônios tireoidianos – triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) –, que participam de processos metabólicos em diversos tecidos. Essa condição pode ser fator de risco para algumas doenças cardiovasculares, incluindo arritmias atriais. O objetivo deste estudo foi investigar alterações eletrofisiológicas e morfológicas em átrios direito e esquerdo de ratos com hipotireoidismo experimental. Foram utilizados ratos machos Wistar (6-9 meses, 150-250g), divididos em grupos controle e hipotireoide. O hipotireoidismo foi induzido com metimazol 0,02% na água de beber durante 28 dias. Após a indução, realizaram-se medições de ECG *in vivo* em ambos os grupos e os átrios foram removidos para análise de suscetibilidade a arritmias e caracterização contrátil em cuba de órgão isolado, exame histológico e análise da expressão de conexinas 43. O ECG *in vivo* mostrou redução da frequência cardíaca ($307,98 \pm 21,06$ vs. $263,71 \pm 29,38$ bpm; $p = 0,0043$), prolongamento da duração da onda P ($20,52 \pm 2,91$ vs. $33,93 \pm 9,44$ ms; $p = 0,0046$) e do intervalo PR ($50,82 \pm 4,01$ vs. $56,89 \pm 6,15$ ms; $p = 0,0377$) no grupo hipotireoide. Em átrio direito isolado, utilizando o protocolo *burst pacing*, observou-se maior predisposição a arritmias e instabilidade elétrica, evidenciado por maior número de episódios ($0,5 \pm 0,55$ vs. $2,83 \pm 2,14$; $p = 0,027$) e duração aumentada desses eventos ($1,80 \pm 2,26$ vs. $26,31 \pm 16,20$ seg; $p = 0,004$). A avaliação funcional da contratilidade atrial revelou prolongamento da duração sistólica ($0,175 \pm 0,036$ vs. $0,314 \pm 0,107$ s; $p = 0,023$) no grupo hipotireoide, sem alterações significativas na amplitude contrátil ($0,373 \pm 0,045$ vs. $0,318 \pm 0,096$ N). Não houve diferença no *overshoot* de Ca^{2+} induzido por cafeína ($0,031 \pm 0,010$ vs. $0,036 \pm 0,020$ gf), nem no efeito inotrópico induzido por isoproterenol ($198,4 \pm 74,8\%$ vs. $220,7 \pm 64,9\%$), sugerindo que a lentificação da sístole e a instabilidade elétrica poderiam estar associadas a alterações morfológicas. A histologia do tecido atrial revelou remodelamento estrutural no grupo experimental, com aumento do espaçamento da matriz extracelular, o que pode contribuir para a lentificação da condução elétrica. O hipotireoidismo também reduziu a expressão de conexina 43 ($0,348 \pm 0,047$ vs. $0,850 \pm 0,119$ a.u.; $p < 0,0001$) nos átrios desses animais. A combinação entre as alterações histológicas observadas e a redução da expressão de conexina 43 pode criar um substrato altamente vulnerável ao desenvolvimento de fibrilação atrial, uma das arritmias mais prevalentes em disfunções tireoidianas. Assim sendo, o hipotireoidismo afeta significativamente a estabilidade elétrica e a função dromotrópica do tecido atrial, aumentando a suscetibilidade a arritmias, particularmente a fibrilação atrial. Observou-se remodelamento estrutural, desacoplamento celular e redução da expressão de conexinas, sugerindo que a interação entre os mecanismos elétricos e estruturais desempenha um papel central na predisposição às arritmias atriais. Dessa forma, destaca-se a necessidade de intervenções precoces para prevenir complicações cardiovasculares em pacientes com hipotireoidismo.

Descritores: Hipotireoidismo; Fibrilação Atrial; Conexina 43; Eletrofisiologia Cardíaca.

ABSTRACT

Reduction of connexin 43 expression induces atrial arrhythmias in rats with experimental hypothyroidism, Emanuel Barbosa dos Santos, São Cristóvão, Sergipe, 2025.

Hypothyroidism is a disorder characterized by decreased production or action of thyroid hormones – triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) – which participate in metabolic processes in various tissues. This condition may be a risk factor for some cardiovascular diseases, including atrial arrhythmias. The objective of this study was to investigate electrophysiological and morphological changes in the right and left atria of rats with experimental hypothyroidism. Male Wistar rats (6-9 months, 150-250 g) were used, divided into control and hypothyroid groups. Hypothyroidism was induced with 0.02% methimazole in drinking water for 28 days. After induction, *in vivo* ECG measurements were performed in both groups, and the atria were removed for analysis of arrhythmia susceptibility and contractile characterization in isolated organ baths, histological examination, and assessment of connexin 43 expression. *In vivo* ECG showed a reduction in heart rate (307.98 ± 21.06 vs. 263.71 ± 29.38 bpm; $p = 0.0043$), prolongation of P wave duration (20.52 ± 2.91 vs. 33.93 ± 9.44 ms; $p = 0.0046$), and PR interval (50.82 ± 4.01 vs. 56.89 ± 6.15 ms; $p = 0.0377$) in the hypothyroid group. In isolated right atrium, using the burst pacing protocol, a greater predisposition to arrhythmias and electrical instability was observed, evidenced by a higher number of episodes (0.5 ± 0.55 vs. 2.83 ± 2.14 ; $p = 0.027$) and increased duration of these events (1.80 ± 2.26 vs. 26.31 ± 16.20 s; $p = 0.004$). Atrial contractility functional assessment revealed prolonged systolic duration (0.175 ± 0.036 vs. 0.314 ± 0.107 s; $p = 0.023$) in the hypothyroid group, with no significant changes in contractile amplitude (0.373 ± 0.045 vs. 0.318 ± 0.096 N). There was no difference in caffeine-induced Ca²⁺ overshoot (0.031 ± 0.010 vs. 0.036 ± 0.020 gf) nor in the inotropic effect induced by isoproterenol ($198.4 \pm 74.8\%$ vs. $220.7 \pm 64.9\%$), suggesting that the slowing of systole and electrical instability could be associated with morphological changes. Histological analysis of atrial tissue revealed structural remodeling in the experimental group, with increased extracellular matrix spacing, which may contribute to the slowing of electrical conduction. Hypothyroidism also reduced connexin 43 expression (0.348 ± 0.047 vs. 0.850 ± 0.119 a.u.; $p < 0.0001$) in the atria of these animals. The combination of observed histological alterations and reduced connexin 43 expression may create a highly vulnerable substrate for the development of atrial fibrillation, one of the most prevalent arrhythmias in thyroid dysfunctions. Thus, hypothyroidism significantly affects the electrical stability and dromotropic function of atrial tissue, increasing susceptibility to arrhythmias, particularly atrial fibrillation. Structural remodeling, cellular uncoupling, and reduced connexin expression were observed, suggesting that the interaction between electrical and structural mechanisms plays a central role in the predisposition to atrial arrhythmias. Therefore, early interventions are needed to prevent cardiovascular complications in patients with hypothyroidism.

Keywords: Hypothyroidism; Atrial Fibrillation; Connexin 43; Cardiac Electrophysiology.

RESUMO VOLTADO PARA A SOCIEDADE

Redução da expressão de conexina 43 provoca arritmias atriais em ratos com hipotireoidismo experimental, Emanuel Barbosa dos Santos, São Cristóvão, Sergipe, 2025.

O hipotireoidismo é uma condição onde a produção dos hormônios da tireoide diminui, afetando o funcionamento de vários órgãos, inclusive o coração. Nosso estudo investigou como essa disfunção pode aumentar o risco de arritmias, especialmente a fibrilação atrial, que é a alteração nos batimentos cardíacos mais comum na população mundial. Para isso, realizamos alguns experimentos em ratos para que eles desenvolvessem hipotireoidismo. Observamos que, nesses animais, o coração batia mais devagar e apresentava sinais de instabilidade elétrica. Além disso, o tecido do coração estava estruturalmente alterado e apresentava menor quantidade de uma proteína chamada conexina 43. Essa proteína é muito importante para a comunicação das células cardíacas. Se ela diminui, pode favorecer o surgimento de arritmias. Os resultados deste estudo reforçam a importância do diagnóstico e tratamento precoce do hipotireoidismo para evitar problemas no coração, como a fibrilação atrial.

Palavras-Chave: Hipotireoidismo; Arritmias Cardíacas; Fibrilação Atrial.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Fig. 1 - Esquema de funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide	04
Fig. 2 - Ciclo cardíaco	09
Fig. 3 - Curso temporal dos potenciais de ação cardíacos rápido e lento e das principais correntes de influxo e efluxo	10
Fig. 4 - Representação molecular das junções comunicantes	12
Fig. 5 - Representação gráfica das ondas, intervalos e segmentos de um eletrocardiograma ..	13
Fig. 6 - Potenciais de ação desencadeados por pós-despolarizações precoces (EAD) e tardias (DAD)	16
Fig. 7 - Fluxograma do protocolo experimental e distribuição dos animais utilizados no estudo	21
Fig. 8 - Concentrações reduzidas de T3 total e T4 livre no grupo hipotireoide confirmam a eficácia do modelo experimental	27
Fig. 9 - Alterações eletrofisiológicas atriais causadas pelo hipotireoidismo sugerem impacto na condução entre átrios e ventrículos	28
Fig. 10 - Hipotireoidismo causou alterações eletrofisiológicas ventriculares	29
Fig. 11 - Análise da força contrátil dos átrios isolados indicou prolongamento da duração sistólica em animais com hipotireoidismo	30
Fig. 12 - Respostas ao protocolo <i>burst pacing</i> em átrios isolados de ratos indicam que o hipotireoidismo está associado a maior suscetibilidade a arritmias e instabilidade elétrica	31
Fig. 13 - Comparação do <i>overshoot</i> em resposta à cafeína (10 mM) não demonstrou diferença na carga de Ca^{2+} entre grupos controle e hipotireoide	32
Fig. 14 - A administração de isoproterenol aumentou significativamente a amplitude de pico em ambos os grupos	33
Fig. 15 - Hipotireoidismo não altera infiltrado inflamatório em átrios	33
Fig. 16 - Alterações histológicas do miocárdio induzidas pelo hipotireoidismo em átrios	34
Fig. 17 - Hipotireoidismo reduz a expressão de Cx43 nos átrios	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AV - Atrioventricular

BAV - Bloqueio Atrioventricular

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

Cx43 - Conexina 43

D1 - Desiodases Tipo 1

D2 - Desiodases Tipo 2

D3 - Desiodases Tipo 3

DAD - Pós-Despolarização Tardia

EAD - Pós-Despolarização Precoce

ECG - Eletrocardiograma

FA - Fibrilação Atrial

FV - Fibrilação Ventricular

H&E - Hematoxilina e Eosina

HT - Hormônios Tireoidianos

IMC - Índice de Massa Corporal

LT3 - Liotironina

LT4 - Levotiroxina

MMI - Metimazol

PA - Potencial de Ação

PTU - Propiltiouracil

RS - Retículo Sarcoplasmático

SA - Sinoatrial/Sinusal

T3 - Triiodotironina

T4 - Tiroxina

TBG - Globulina Ligadora de Tiroxina

TDAH - Transtorno de Déficit de Atenção com Hiperatividade

TR - Receptor Nuclear

TRH - Hormônio Estimulador de Tireotrofina

TSH - Hormônio Estimulador da Tireoide

TTR - Transtirretina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1 Hormônios tireoidianos	03
2.1.1 Hipotireoidismo	05
2.2 Fisiologia cardíaca	08
2.3 Arritmias cardíacas	14
2.3.1 Arritmias supraventriculares	15
2.4 Doenças da tireoide e fibrilação atrial	17
3 OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo geral	19
3.2 Objetivos específicos	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Animais	20
4.2 Delineamento experimental	20
4.3 Medições de ECG <i>in vivo</i>	22
4.4 Contratilidade do miocárdio em átrio isolado	22
4.5 Carga de cálcio do retículo sarcoplasmático	23
4.6 Avaliação da resposta inotrópica atrial ao isoproterenol	23
4.7 Protocolo <i>burst pacing</i> para indução de arritmias	24
4.8 Exame histológico	24
4.9 Expressão das proteínas	25
4.10 Análise estatística	26
5 RESULTADOS	27
5.1 Concentrações séricas de T3 total e T4 livre	27
5.2 Registro e análise do ECG <i>in vivo</i>	27
5.3 Avaliação funcional da contratilidade atrial	29
5.4 Indução de arritmias atriais pelo protocolo <i>burst pacing</i>	30
5.5 Efeitos do tratamento com cafeína e isoproterenol na contração atrial	32
5.6 Análise histológica e infiltrado inflamatório em átrios	33
5.7 Expressão de conexina 43 no átrio de animais com hipotireoidismo	34
6 DISCUSSÃO	36

7 CONCLUSÃO	40
8 PERSPECTIVAS FUTURAS	41
REFERÊNCIAS	42
APÊNDICE A	50
ANEXO A	54

1 INTRODUÇÃO

O hipotireoidismo é um distúrbio comum caracterizado pela diminuição da produção ou da ação dos hormônios tireoidianos (HT), a triiodotironina (T3) e a tiroxina (T4). Esses hormônios desempenham papel essencial na regulação de diversos processos fisiológicos, contribuindo para funções vitais, como o crescimento, o desenvolvimento e o metabolismo energético (Mendoza & Hollenberg, 2017).

A deficiência de T3 e T4 pode ocorrer em até 1% a 2% da população adulta em algum momento de suas vidas, com uma taxa de prevalência maior em mulheres, principalmente após o climatério, quando as alterações hormonais são mais recorrentes (Boron & Boulpaep, 2015). Níveis baixos de HT prejudicam a expressão gênica em diversos tecidos corporais e interferem em processos fisiológicos importantes, como o atraso do crescimento em crianças, por exemplo. Os sinais clássicos incluem depressão, fadiga, intolerância ao frio, constipação intestinal e aumento de peso (Babić *et al.*, 2021).

O diagnóstico é dado a partir da avaliação da concentração sérica de TSH, T3 total e T4 livre. Sendo necessário realizar o tratamento imediatamente, pois o hipotireoidismo pode levar a redução da performance física e mental, colesterol elevado e maior risco de complicações cardíacas, ocasionadas, principalmente, pela redução do metabolismo, da expressão de receptores e da atividade das mitocôndrias (Van-Uytfanghe *et al.*, 2023). Além das manifestações clínicas diretas, o hipotireoidismo é um fator de risco para uma série de doenças cardiovasculares com implicações significativas na mortalidade em geral (Jonklaas *et al.*, 2014).

Estudos em modelos animais de hipotireoidismo indicam que essa condição pode levar à diminuição da pressão ventricular esquerda, ao aumento do escore total de arritmias e a uma maior incidência de arritmias graves, como fibrilação atrial (FA), *flutter* atrial, taquicardia e fibrilação ventricular (FV) (Baumgartner *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2022). Nos distúrbios cardíacos associados ao hipotireoidismo são frequentemente observadas alterações eletrofisiológicas, como onda P prolongada, ectopia nas veias pulmonares e alterações na automaticidade do nó sinoatrial (SA). A redução da expressão e atividade dos canais de cálcio tipo L (Ca^{2+}), canais de sódio (Na^+) e canais de potássio (K^+) podem contribuir para a lentificação da condução atrial e instabilidade elétrica (Takawale *et al.*, 2022).

A FA é a arritmia cardíaca mais prevalente em humanos e está associada a um risco aumentado de morte, acidente vascular encefálico e embolismos periféricos. De acordo com o *Global Burden of Disease*, a prevalência estimada da população afetada pela FA é de

aproximadamente 33,5 milhões de pessoas em todo o mundo (2,5% - 3,5%) e a incidência aumenta com a idade (Morin *et al.*, 2016). No Brasil, apesar dos dados epidemiológicos sobre a FA serem limitados, estima-se que cerca de 1,5 milhão de pessoas sejam afetadas (Lopes *et al.*, 2023).

Esse distúrbio eletrofisiológico gera impulsos de forma desorganizada, geralmente decorrentes de alterações estruturais nas conexões celulares do coração que levam a uma condução elétrica não coordenada, ocasionando um ritmo atrial irregular e rápido (300-500 bpm). As causas mais comuns incluem ondas eletrofisiológicas iniciadas por potenciais de ação (PA) ectópicos, frequentemente nas veias pulmonares do átrio esquerdo, ou por atividade reentrante relacionada à condução heterogênea devido à fibrose intersticial (Joglar *et al.*, 2023).

A fibrose desempenha um papel central na FA, contribuindo para sua persistência, recorrência, resistência ao tratamento e complicações. Além disso, é considerada um substrato fisiopatológico comum por alterar a estrutura e a condução elétrica do tecido cardíaco, criando um ambiente que favorece o desenvolvimento e a manutenção da arritmia, independente da causa subjacente. Geralmente, é associada à expressão desregulada de conexina 43 (Cx43), a principal proteína nos canais de junção de GAP do músculo cardíaco em mamíferos. Essa alteração resulta no desacoplamento miocárdico e na redução na velocidade de condução, promovendo áreas fibróticas e o mecanismo arritmogênico de reentrada (Lillo *et al.*, 2023).

A FA precisa ser melhor explorada por meio de estudos histológicos e eletrofisiológicos, proporcionando uma nova base de conhecimento para abordagens terapêuticas. A ligação entre o hipotireoidismo e a FA ainda não está clara, embora o hipotireoidismo seja sugerido como um fator de risco para FA. Compreender os fundamentos mecanicistas que relacionam essas doenças é essencial para identificar pacientes afetados e projetar futuras estratégias de prevenção.

Dessa forma, na tentativa de contribuir para o estado de conhecimento e embasar futuros estudos preventivos e terapêuticos, o presente estudo buscou caracterizar alterações eletrofisiológicas e morfológicas no tecido atrial em um modelo de hipotireoidismo em ratos, partindo da hipótese de que o hipotireoidismo está associado à alteração na expressão da Cx43 e ao aumento da fibrose atrial, provocando uma disfunção célula a célula que favorece a ocorrência de FA.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Hormônios tireoidianos

A tireoide é uma glândula endócrina localizada na parte inferior, anterior ao pescoço e é responsável por produzir os hormônios T3 e T4, necessários para o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de diversos sistemas do corpo humano (Armstrong, Asuka & Fingeret, 2023). Distúrbios da tireoide, como o hipertireoidismo e o hipotireoidismo, são comuns e afetam mais de 10% da população adulta mundial (Paschou *et al.*, 2022).

Histologicamente, a tireoide é composta por inúmeros folículos, preenchidos com coloide e revestidos por células foliculares. É no interior destes folículos que os HT são produzidos. As células foliculares capturam o iodo da corrente sanguínea e secretam para dentro do lúmen do folículo. Ao penetrar o coloide, o iodo é oxidado por uma enzima, chamada tireoperoxidase, que também é responsável pela reação que incorpora o iodo oxidado a resíduos de tirosina específicos da tireoglobulina. Dessa junção, formam-se as monoiodotirosinas (MIT) e as diiodotirosinas (DIT) (Boron & Boulpaep, 2015).

A função endócrina da tireoide é regulada por um esquema de funcionamento conhecido como eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (Fig. 1), onde o hipotálamo secreta o hormônio estimulador de tireotrofina (TRH), que estimula a hipófise a liberar o hormônio estimulador da tireoide (TSH). Este, por sua vez, impulsiona a tireoide a produzir os hormônios T3 e T4, ao estimular a ligação de MIT e DIT. Ao formar os HT no coloide, eles são desacoplados da tireoglobulina no interior das células foliculares e secretados na corrente sanguínea, onde serão destinados às células-alvo (Boron & Boulpaep, 2015; Aires, 2018).

O T3 é o hormônio biologicamente mais ativo, e sua presença elevada inibe tanto a produção de TRH pelo hipotálamo quanto de TSH pela hipófise, estabelecendo um mecanismo de *feedback* negativo (Fig. 1). A tireoide produz o hormônio T4 em maior quantidade, numa proporção de cerca de 90% dos HT presentes na corrente sanguínea. Entretanto, nas células-alvo, o T4 sofre uma reação enzimática pelas desidrases, que removem um iodo do hormônio, convertendo-o em T3. Logo, a proporção de T3 no interior das células-alvo é proporcionalmente maior, dada a sua relevância para os processos metabólicos (Aires, 2018).

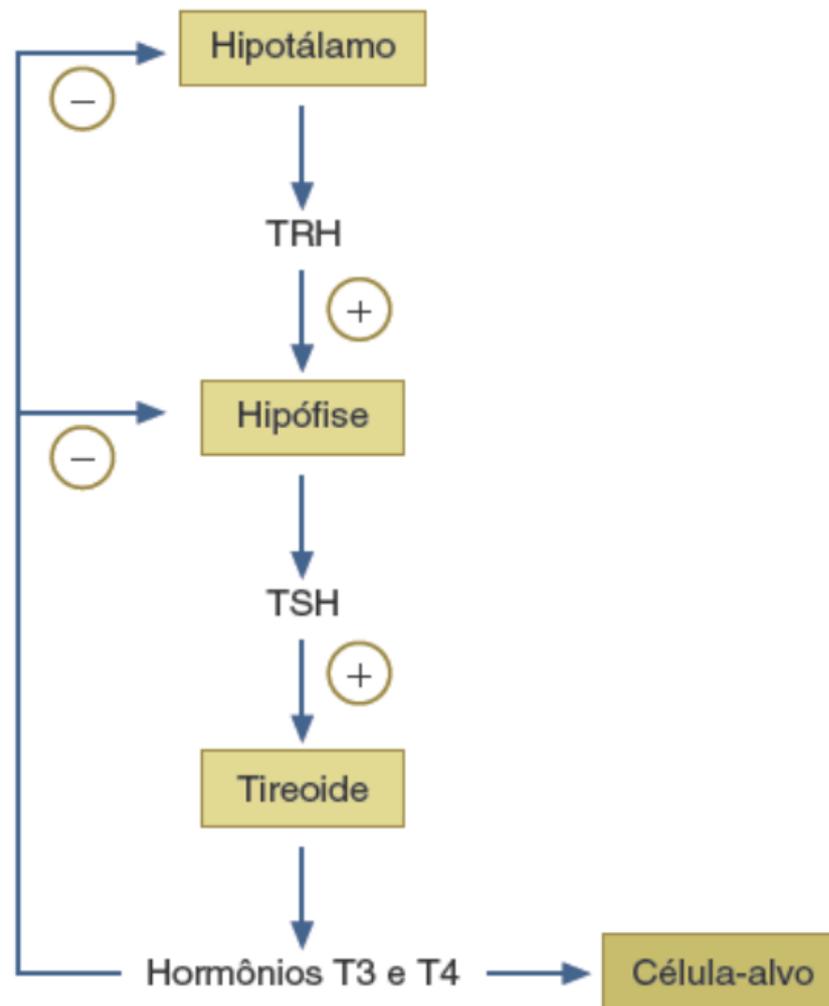


Fig. 1 - Esquema de funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. O hipotálamo secreta o TRH, que estimula a hipófise a liberar o TSH. Este, por sua vez, impulsiona a tireoide a produzir os hormônios T3 e T4. Os níveis elevados de HT na corrente sanguínea inibem tanto a produção de TRH pelo hipotálamo quanto de TSH pela hipófise, estabelecendo um mecanismo de *feedback* negativo. Fonte: Aires, 2018.

Com o tempo, a secreção de todos os hormônios envolvidos mantém-se equilibrada. Se algum desses hormônios estiver fora do padrão esperado, isso pode indicar disfunções em um dos pontos dessa cadeia de controle. Por exemplo, geralmente, se houver uma falha primária na tireoide que resulte na produção insuficiente de T3 e T4 (hipotireoidismo), os níveis de TSH aumentarão, já que a hipófise pode tentar compensar essa baixa. Porém, se o T3 e o TSH estiverem abaixo dos níveis normais, o problema pode estar na hipófise ou no hipotálamo, e não na tireoide (Aires, 2018; Jonklaas *et al.*, 2014).

O T3 exerce sua ação ao se ligar aos receptores nucleares (TR), que influenciam a expressão gênica relacionada à síntese proteica em várias células do corpo, como hepatócitos, células musculares cardíacas e esqueléticas, células renais, células endoteliais pulmonares e

neurônios. Essa regulação pode ser tanto positiva quanto negativa, dependendo do gene e do tecido envolvidos (Jonklaas *et al.*, 2014).

A ação dos HT nos tecidos é modulada por um sistema complexo que envolve a secreção, o transporte plasmático, o transporte transmembrana, a ativação ou inativação dos hormônios, bem como a interação com diferentes isoformas de TR e seus co-reguladores. A medição direta de T3 e T4 no sangue fornece a quantidade total de hormônios circulantes, incluindo tanto as formas livres quanto aquelas ligadas a proteínas como a globulina ligadora de tiroxina (TBG), transtirretina (TTR) e albumina. No entanto, esses testes não permitem distinguir entre as formas livres e ligadas dos hormônios (Bianco *et al.*, 2002).

A sensibilidade do TSH a variações nos níveis de T3 e T4 torna-se uma ferramenta extremamente útil para avaliar o estado funcional dos HT, porque reflete diretamente uma integração do *feedback* negativo entre o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide e os níveis hormonais nos tecidos-alvo (Feng *et al.*, 2000). Dessa forma, são detectadas disfunções como o hipertireoidismo, caracterizado pelo excesso de HT, e o hipotireoidismo, pela sua deficiência. Nesse estudo, optou-se por investigar o hipotireoidismo, devido ao seu impacto na estrutura e fisiologia cardiovascular e a pouca compreensão da literatura acerca da ligação entre esses dois sistemas.

2.1.1 Hipotireoidismo

O hipotireoidismo é uma condição caracterizada pela produção insuficiente de HT pela glândula tireoide ou pela falta de estímulo adequado da glândula, seja pelo hipotálamo ou pela hipófise (Wilson, Stem & Bruehlman, 2021). O diagnóstico mais comum é o de hipotireoidismo primário, quando os níveis de HT estão baixos, o que resulta em um aumento nos níveis de TSH. O hipotireoidismo secundário é diagnosticado quando além dos níveis de HT, os níveis do TSH também estão baixos. Já o hipotireoidismo subclínico é diagnosticado quando o TSH está elevado, mas os níveis de HT permanecem dentro da faixa normal (Udovcic *et al.*, 2017).

Entre as principais causas do hipotireoidismo, destaca-se a deficiência de iodo, que pode ser total ou parcial, especialmente em condições específicas, como a gravidez. No início do século XX, pesquisadores observaram que o iodo se acumulava em grandes concentrações na tireoide e que a sua deficiência estava relacionada ao desenvolvimento de bócio. Em resposta à falta de iodo, a hipófise aumenta a produção de TSH, estimulando a tireoide a capturar mais iodo e produzir mais hormônio. Quando essa deficiência persiste, o aumento crônico do TSH pode resultar no aumento da glândula, causando o bócio (Dai, Levy & Carrasco, 1996).

Um estudo populacional realizado na Dinamarca identificou que a forma mais comum de hipotireoidismo (Chiovato, Magri & Carlé, 2019), presente em 84,4% dos casos, é o hipotireoidismo espontâneo, provavelmente de origem autoimune. Outras causas incluem o hipotireoidismo pós-parto (4,7%) e o induzido por amiodarona (4,0%). Menos comuns, mas também relevantes, são a tireoidite subaguda, o hipotireoidismo associado a radiação ou cirurgia prévia na tireoide, o hipotireoidismo congênito e o relacionado ao uso de lítio (1,6% cada). Recentemente, as causas iatrogênicas, especialmente devido a imunoterapias, têm se tornado mais frequentes. Outras causas raras incluem resistência ao HT, superdosagem de medicamentos antitireoidianos, efeitos de outros fármacos e exposição à radiação terapêutica ou ambiental (Chiovato, Magri & Carlé, 2019). Caso a produção de HT continue insuficiente, os sintomas do hipotireoidismo começam a se manifestar (Feldt-Rasmussen *et al.*, 2024).

Os sintomas variam, podendo ser leves ou graves, com casos extremos levando ao coma mixedematoso, uma condição rara e potencialmente fatal. Entre os sintomas mais comuns, estão intolerância ao frio, cansaço excessivo, ganho de peso, pele seca, constipação intestinal e alterações na voz (Boron & Boulpaep, 2015). Como esses sinais não são exclusivos e podem ser confundidos com outras condições, o diagnóstico de hipotireoidismo deve ser confirmado por meio da medição dos níveis de TSH, T3 total e T4 livre. O diagnóstico precoce é fundamental para o início do tratamento adequado (Wilson, Stem & Bruehlman, 2021).

O tratamento padrão para o hipotireoidismo consiste na reposição hormonal com levotiroxina (LT4), uma vez que essa substância é convertida periféricamente em T3, a forma biologicamente ativa do hormônio. Essa conversão é realizada pelas desidases tipo 1 (D1) e tipo 2 (D2), enquanto a desidase tipo 3 (D3) é responsável pela inativação de T4 e T3 no sangue. A dose inicial recomendada de LT4 é geralmente de 1,5 a 1,8 mcg por kg por dia (Wilson, Stem & Bruehlman, 2021). Para pacientes que não respondem adequadamente à monoterapia com LT4, a combinação de LT4 com liotironina (LT3) tem se mostrado uma alternativa eficaz. Muitos pacientes relatam melhorias significativas na qualidade de vida e na função cognitiva ao utilizar essa combinação, quando comparados ao uso exclusivo de LT4 (Bianco, 2024). O objetivo do tratamento é alcançar níveis hormonais dentro da faixa normal, ajustados pela idade, especialmente em pacientes mais velhos, a fim de evitar complicações decorrentes de um tratamento excessivo (Ross, 2021).

Vale ressaltar que a LT4 pode não reproduzir exatamente a fisiologia normal do organismo de pacientes hipotireoidianos. Além de impactos no bem-estar psicológico (Walsh *et al.*, 2006), estudos mostraram que pacientes tratados com LT4 têm um índice de massa corporal (IMC) ligeiramente mais alto do que aqueles com função tireoidiana normal ($29,8 \pm$

6,7 vs. $28,2 \pm 6,2$), além de um maior uso de medicamentos como β -bloqueadores (37% vs. 24%), estatinas (24% vs. 15%) e antidepressivos (22% vs. 15%), todos com $p < 0,01$ (Peterson, McAninch & Bianco, 2016; Jonklaas *et al.*, 2021).

No entanto, o subtratamento do hipotireoidismo pode ter consequências devastadoras para o paciente, tanto no âmbito pessoal quanto socioeconômico. De acordo com Feldt-Rasmussen *et al.* (2024), as principais consequências do não tratamento ou tratamento inadequado do hipotireoidismo em crianças incluem falhas no desenvolvimento geral e neuropsicológico, o que compromete o desempenho escolar e a capacidade de alcançar uma educação adequada, resultando em dificuldades para alcançar a independência na vida adulta.

Em adultos, o subtratamento do hipotireoidismo pode levar a diversos problemas, como déficits na função mental, transtornos como o TDAH (Transtorno de Déficit de Atenção com Hiperatividade), redução do débito cardíaco e comprometimento da capacidade física, devido à combinação de baixo débito cardíaco, fraqueza muscular e função pulmonar reduzida. Além disso, a necessidade de reduzir as doses de diversos medicamentos devido ao metabolismo mais lento pode aumentar o risco de acúmulo e toxicidade. Esses efeitos resultam em uma qualidade de vida prejudicada e dificuldades no desempenho profissional (Feldt-Rasmussen *et al.*, 2024).

Um fator de risco importante para o subtratamento é a absorção inadequada de LT4, especialmente em pacientes com comorbidades gastrointestinais. Distúrbios no pH gástrico podem afetar a absorção desse hormônio, como é o caso em pacientes com infecção por *Helicobacter pylori*, gastrite atrófica crônica, gastroparesia ou uso de medicamentos que interferem na produção de ácido gástrico. Essas condições afetam de 20 a 50% da população mundial ao longo da vida (Feldt-Rasmussen *et al.*, 2024).

Em idosos, o hipotireoidismo, seja ele manifesto ou subclínico, quando não tratado adequadamente, está associado a um aumento do risco de mortalidade precoce. Níveis elevados de TSH estão relacionados ao maior risco de mortalidade cardiovascular, especialmente em pacientes mais velhos. Embora diferentes estudos utilizem critérios distintos para classificar o subtratamento, esses resultados ressaltam a necessidade de pesquisas adicionais para determinar a meta ideal de TSH em pacientes mais velhos com hipotireoidismo (Feldt-Rasmussen *et al.*, 2024).

A relação do hipotireoidismo com a função cardíaca também deve ser cuidadosamente monitorada, especialmente em pacientes com insuficiência cardíaca preexistente. Um estudo de coorte com mais de 150.000 pacientes com hipotireoidismo mostrou que altos níveis de TSH estão associados ao aumento do risco de insuficiência cardíaca em indivíduos com menos de 65 anos, embora a relação com a doença cardíaca isquêmica tenha sido mais significativa

apenas entre os mais jovens (Thayakaran *et al.*, 2019). Essas descobertas, somadas à associação entre altos níveis de TSH e mortalidade cardiovascular, reforçam a necessidade de um tratamento adequado para os pacientes com hipotireoidismo.

2.2 Fisiologia cardíaca

O coração é geralmente descrito como uma bomba dupla que impulsiona o sangue em série pela circulação pulmonar (lado direito) e pela circulação sistêmica (lado esquerdo). Para garantir essa função, o coração possui um sistema elétrico que é responsável pela geração e condução de estímulos, os quais se propagam pelos músculos atriais e ventriculares, ativando os mecanismos que controlam a contração e o relaxamento do músculo cardíaco. Assim, pode-se dizer que os eventos elétricos sempre precedem os eventos mecânicos do coração (Aires, 2018; Boron & Boulpaep, 2015).

Como um órgão oco, o coração possui quatro câmaras: dois átrios e dois ventrículos. A espessura da parede de cada câmara está relacionada à sua função e à capacidade de gerar gradientes de pressão. Os átrios têm paredes relativamente finas e desenvolvem baixas pressões, enquanto os ventrículos, que precisam gerar pressões mais elevadas, apresentam paredes consideravelmente espessas – especialmente o ventrículo esquerdo, que requer alta pressão para vencer a resistência vascular sistêmica (Boron & Boulpaep, 2015).

A separação anatômica entre essas câmaras é realizada pelas valvas cardíacas, que, além de desempenharem essa função, são essenciais para o funcionamento adequado do coração, uma vez que suas aberturas e fechamentos definem o ciclo cardíaco (Fig. 2). Existem quatro valvas: mitral e tricúspide, denominadas valvas atrioventriculares e localizadas entre os átrios e os ventrículos; e aórtica e pulmonar, conhecidas como valvas semilunares, situadas nas vias de saída dos ventrículos (Barrett *et al.*, 2014).

O ciclo cardíaco é definido como a sequência de eventos mecânicos e elétricos que se repetem a cada batimento do coração (Boron & Boulpaep, 2015). Esse ciclo é fundamental para a coordenação das atividades cardíacas e pode ser dividido em, no mínimo, quatro fases (Fig. 2): 1. Fase de influxo (enchimento ventricular), 2. Contração isovolumétrica, 3. Fase de efluxo (ejeção ventricular) e 4. Relaxamento isovolumétrico. Na fase de influxo, a valva de entrada está aberta enquanto a de saída permanece fechada. Durante a contração isovolumétrica, ambas as valvas estão fechadas, sem fluxo sanguíneo. Na fase de efluxo, a valva de saída abre e a valva de entrada se fecha. Por último, no relaxamento isovolumétrico, ambas as valvas permanecem

fechadas, sem fluxo de sangue. A sístole abrange as fases 2 e 3, quando os ventrículos estão contraindo, enquanto a diástole inclui as fases 4 e 1, quando os ventrículos estão relaxando.

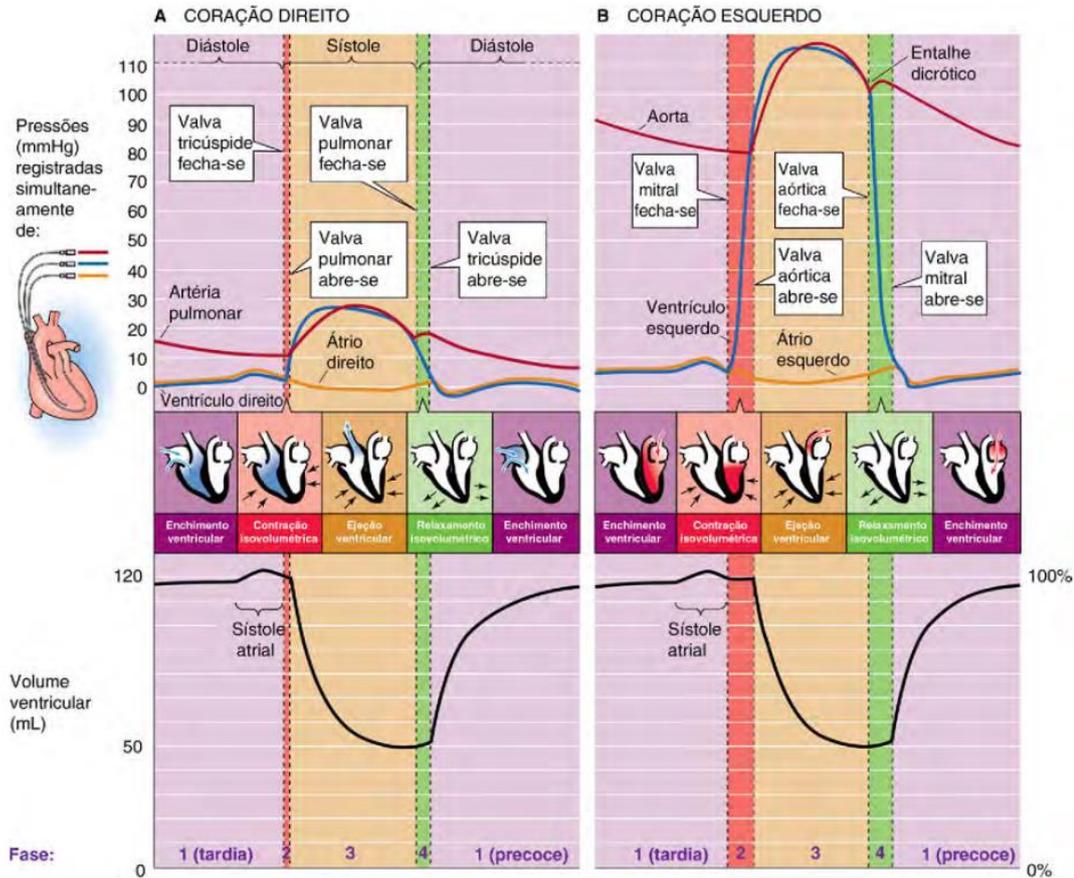


Fig. 2 - Ciclo cardíaco. O ciclo cardíaco é dividido em quatro fases: 1. Fase de influxo (enchimento ventricular), 2. Contração isovolumétrica, 3. Fase de efluxo (ejeção ventricular) e 4. Relaxamento isovolumétrico. A sístole abrange as fases 2 e 3, quando os ventrículos estão contraindo, enquanto a diástole inclui as fases 4 e 1, quando os ventrículos estão relaxando. Fonte: Boron & Boulpaep, 2015.

Em condições fisiológicas, as células cardíacas do nó SA, nó atrioventricular (AV) e fibras de Purkinje são capazes de gerar um PA elétrico espontaneamente, sem necessidade de estímulo externo. Essa capacidade é conhecida como automatismo (Garcia, 2015).

De acordo com Rahm *et al.* (2018), os PA são divididos em cinco fases (Fig. 3A): a fase 0 é a despolarização da célula, mediada pelos canais de sódio dependentes de voltagem, que permitem a entrada dos íons Na^+ ; a fase 1 corresponde a uma repolarização precoce ou incompleta, devido à inativação dos canais de Na^+ e à abertura transitória dos canais de K^+ ; a fase 2, chamada de platô, refere-se ao período em que a célula permanece despolarizada com um potencial quase constante, por conta da entrada sustentada de íons Ca^{2+} ; a fase 3 é a repolarização, quando os canais de Ca^{2+} se fecham e os canais de K^+ retificadores de atraso permanecem abertos, fazendo a célula retornar gradativamente ao seu potencial de repouso; e a

fase 4 representa a repolarização completa, onde o potencial de repouso é mantido pela Na^+/K^+ ATPase e canais de K^+ , correspondendo à diástole elétrica. Essa descrição refere-se ao PA rápido, encontrado no miocárdio de trabalho dos átrios e ventrículos, no feixe de His e nas fibras de Purkinje.

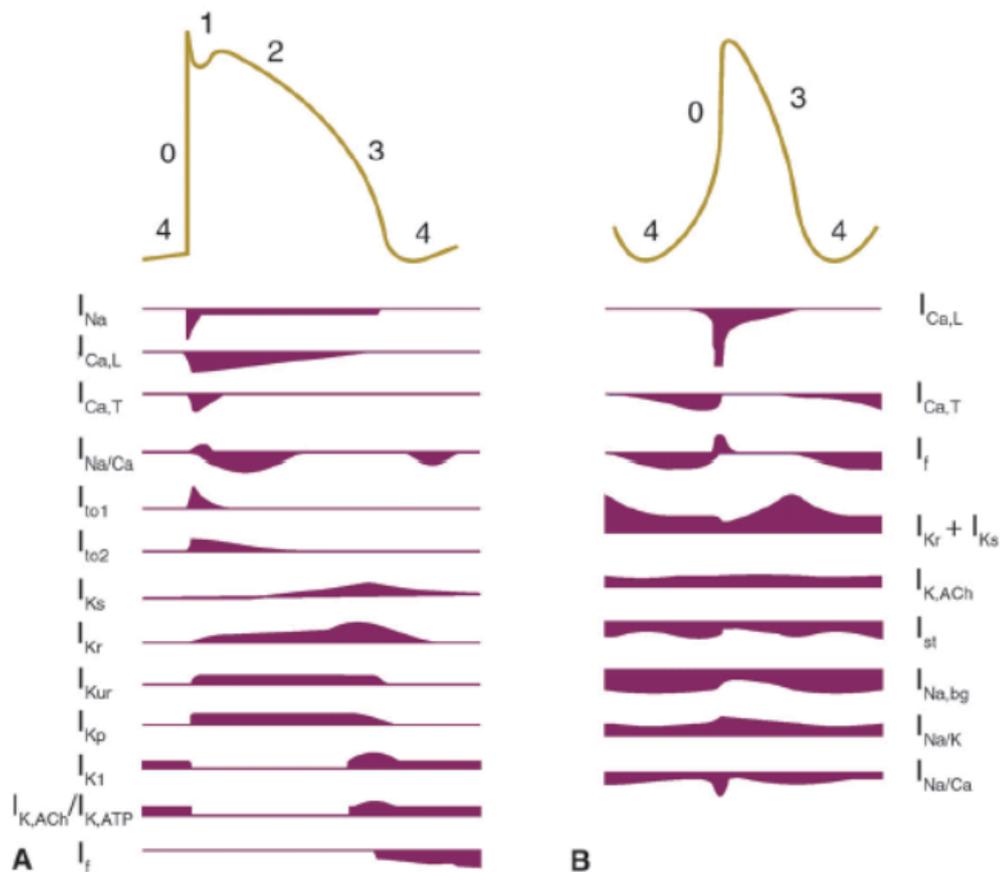


Fig. 3 - Curso temporal dos potenciais de ação cardíacos rápido (A) e lento (B) e das principais correntes de influxo e efluxo. (A) Potencial de ação rápido, encontrado no miocárdio dos átrios e ventrículos, no feixe de His e nas fibras de Purkinje, dividido em cinco fases: fase 0 – despolarização; fase 1 – repolarização precoce ou incompleta; fase 2 – platô; fase 3 – repolarização e; fase 4 – repolarização completa; (B) Potencial de ação lento, encontrado nas células nodais (nó SA e nó AV), não apresentam fase 1 e 2 bem definidas: fase 0 – despolarização lenta; fase 3 – repolarização contínua e; fase 4 – repolarização gradual. Em ambos PA, diversos canais iônicos são ativados, gerando correntes de influxo (deflexão negativa) e de efluxo (deflexão positiva). Fonte: Aires, 2018.

Em contraste, os potenciais nas células nodais (nó SA e nó AV) possuem características distintas, sendo chamados de PA lentos (Fig. 3B). Ao contrário dos cardiomiócitos atriais e ventriculares, as células nodais não apresentam uma fase 1 nem uma fase 2 bem definidas. A fase 0 é mais lenta, resultante da abertura dos canais de Ca^{2+} tipo L ao invés de canais de Na^+ , como ocorre nos PA rápidos. Após essa fase, ocorre uma repolarização contínua durante a fase 3, mediada por canais de K^+ , inicialmente mais lenta e acelera progressivamente até o final. Já na fase 4, observa-se uma repolarização gradual causada pela entrada de Na^+ , através dos canais

funny (I_f) e de Ca^{2+} pelos canais tipo T. A principal característica dessa fase é a ausência de um período de repouso estável, como nos cardiomiócitos, o que permite que as células nodais se depolarizem de maneira contínua e espontânea, gerando o ritmo cardíaco (De Paes *et al.*, 1976, *apud* Garcia, 2015).

Entre os tecidos nodais, as células do nó SA, localizadas na parede do átrio direito, próximo à entrada da veia cava superior, exibem uma fase 4 mais inclinada, o que resulta em uma tendência de despolarização diastólica mais rápida. Isso se traduz em uma maior frequência de disparos, conferindo ao nó SA a função de marcapasso cardíaco, responsável por regular a frequência cardíaca (Aires, 2018).

Os impulsos elétricos gerados no nó SA são propagados para o nó AV e, em seguida, transmitidos aos ventrículos através de vias de condução especializadas. A comunicação elétrica entre as células do coração ocorre por meio de junções comunicantes, que são poros de membrana não seletivos, permitindo a passagem de moléculas menores que 1.000 Da e garantindo a continuidade elétrica entre as células. Essas junções comunicantes, denominadas *conexons*, são formadas por seis moléculas de conexina, organizadas em hemicanais que se conectam em discos intercalados (Fig. 4). Esses discos podem agrupar centenas a milhares de *conexons*, formando estruturas densas que funcionam como condutos contínuos, possibilitando a livre circulação de íons e outras pequenas moléculas entre os cardiomiócitos (Sugita & Fujiu, 2019).

As conexinas recebem nomes baseados em seu peso molecular, e suas variações estruturais estão localizadas no *loop* citoplasmático e na região carboxil-terminal. Cada subunidade de conexina possui quatro domínios transmembrana hidrofóbicos, compostos por dois *loops* extracelulares, um *loop* citoplasmático e um terminal N-citoplasmático, além de uma região C-terminal (Fig. 4). Até o momento, mais de vinte isoformas de conexina foram identificadas, das quais quatro estão associadas ao coração: Cx43, Cx40, Cx45 e Cx30.2 (Sugita & Fujiu, 2019).

A Cx43, a isoforma mais abundante, é encontrada em quase todas as partes do coração, exceto nas células do nó SA. Notavelmente, a Cx43 tem uma meia-vida curta, variando de 1 a 5 horas, e menos de 2 horas na membrana plasmática, o que indica que a síntese e a degradação das junções comunicantes são processos dinâmicos, com a regulação da estabilidade das proteínas desempenhando um papel crucial na remodelação dessas junções (Liu *et al.*, 2022).

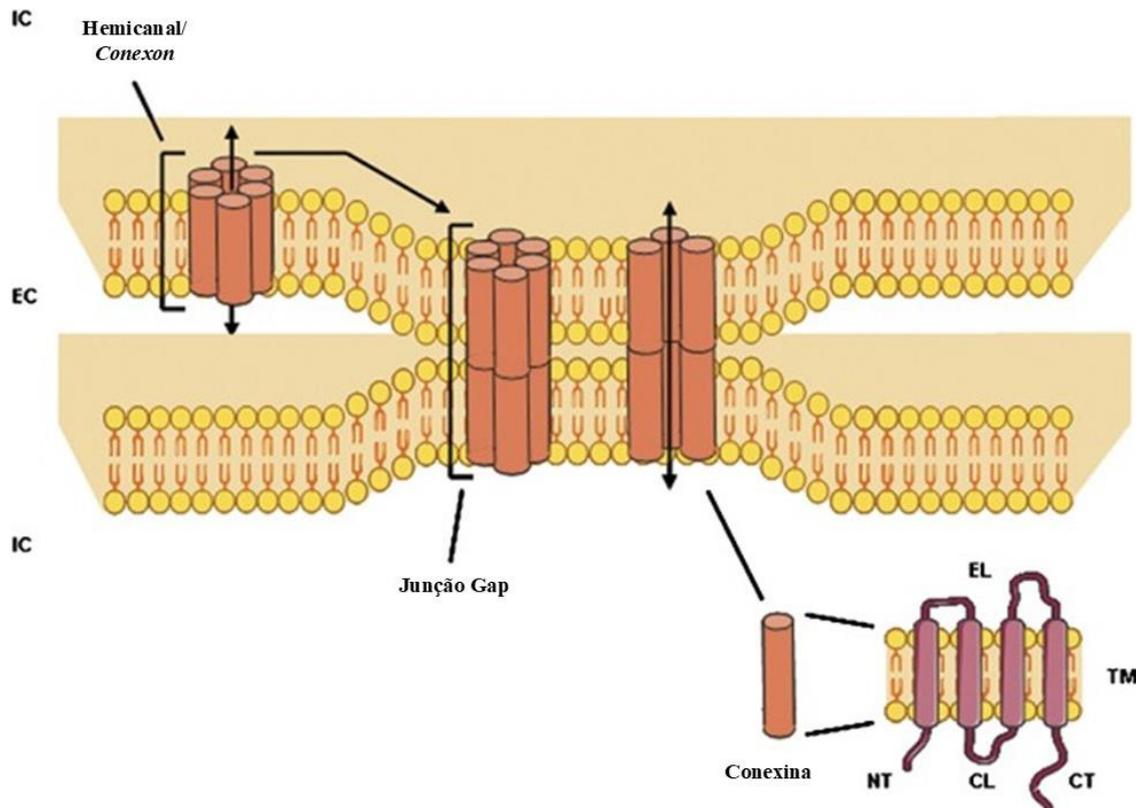


Fig. 4 - Representação molecular das junções comunicantes. Os *conexons* são formados por seis moléculas de *conexina*, organizadas em hemicanais que se conectam em discos intercalados. A proteína *conexina* é organizada em quatro domínios que abrangem a membrana (TM1-4), dois *loops* extracelulares (EL1 e EL2), um *loop* citoplasmático (CL), um terminal N-citoplasmático (NT) e uma região C-terminal (CT). Fonte: Adaptado de Decrock *et al.*, 2009.

A função adequada das junções comunicantes é essencial para a sincronização dos PA nos cardiomiócitos, resultando em uma contração cardíaca coordenada. No entanto, alterações no acoplamento dessas junções podem ocorrer em diversas doenças cardíacas, levando a defeitos na excitação elétrica que podem causar arritmias graves e morte súbita cardíaca (Wang *et al.*, 2022).

Uma das formas de observar tais fenômenos é estudar o eletrocardiograma (ECG). O ECG nada mais é que um registro gráfico da atividade elétrica do coração (Fig. 5), que permite a análise do ritmo cardíaco, a detecção de arritmias e a identificação de anormalidades na condução elétrica, bem como sinais de isquemia ou sobrecarga cardíaca. Sua interpretação baseia-se na análise das ondas, intervalos e segmentos que compõem o traçado (Andalaft, 2022).

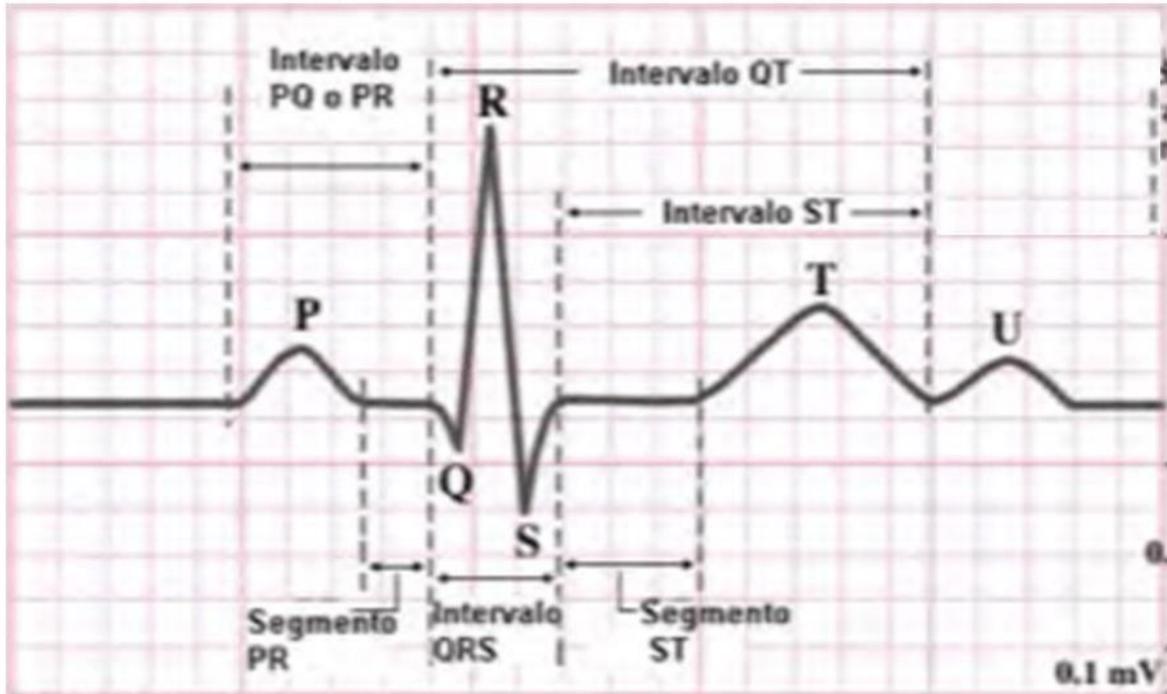


Fig. 5 - Representação gráfica das ondas, intervalos e segmentos de um eletrocardiograma. Onda P representa a despolarização atrial; complexo QRS reflete a despolarização ventricular; onda T representa a repolarização ventricular; onda U pode estar associada à repolarização tardia dos músculos papilares ou das fibras de Purkinje; intervalo PR reflete o tempo de condução do impulso através dos átrios e do nó AV; o intervalo QT mede o tempo total de despolarização e repolarização ventricular; intervalo QRS representa o tempo necessário para despolarização dos ventrículos; intervalo ST reflete o tempo em que os ventrículos permanecem despolarizados; segmento PR corresponde ao tempo de condução do impulso elétrico dos átrios para os ventrículos; e segmento ST representação do intervalo em que os ventrículos estão despolarizados. Fonte: Hernandez-Padilla *et al.*, 2016.

A onda P representa a despolarização atrial, indicando a ativação elétrica dos átrios iniciada pelo nó SA. O complexo QRS reflete a despolarização ventricular, sendo composto pela onda Q, que corresponde à primeira deflexão negativa antes da onda R, que é a primeira deflexão positiva, e pela onda S, que corresponde a uma deflexão negativa que segue a onda R. A onda T representa a repolarização ventricular, enquanto a onda U, nem sempre visível, pode estar associada à repolarização tardia dos músculos papilares ou das fibras de Purkinje (Samesima *et al.*, 2022).

Os intervalos e segmentos do ECG fornecem informações adicionais sobre a condução elétrica do coração. O intervalo PR corresponde ao tempo necessário para que o impulso elétrico se propague dos átrios para os ventrículos, atravessando o nó AV. O segmento ST representa o período entre a despolarização e a repolarização ventricular, sendo fundamental na identificação de alterações isquêmicas ou lesões miocárdicas. O intervalo QT mede o tempo total da despolarização e repolarização ventricular, sendo um marcador importante na avaliação do risco de arritmias ventriculares. O intervalo RR, por sua vez, corresponde ao tempo entre dois complexos QRS consecutivos e é utilizado para calcular a frequência cardíaca (Samesima

et al., 2022) Portanto, o ECG é uma ferramenta essencial na cardiologia e seu entendimento é fundamental para a detecção de doenças cardíacas e vasculares, como as arritmias.

2.3 Arritmias cardíacas

Alterações na geração e condução do PA podem causar desvios no ritmo cardíaco normal, conhecidos como arritmias. Milhões de pessoas ao redor do mundo enfrentam arritmias cardíacas em algum momento de suas vidas, e essas condições estão entre as principais causas de mortalidade (GBD, 2020). A prevalência de arritmias na população geral é estimada entre 1,5% a 5%, sendo a FA a mais comum. Essas condições geralmente resultam de alterações nas propriedades eletrofisiológicas das células do coração e em seus mecanismos iônicos subjacentes (Varró *et al.*, 2020).

A FA, por exemplo, pode comprometer a eficácia das contrações cardíacas, aumentando o risco de acidentes vasculares encefálicos tromboembólicos de origem atrial e, em casos extremos, de morte súbita (Saglietto *et al.*, 2020). Embora menos frequentes, as arritmias ventriculares, como a taquicardia ventricular e a FV, representam um risco significativo e também podem resultar em morte súbita (Fishman *et al.*, 2010).

A *American Heart Association* classifica as arritmias com base em diferentes critérios. Quanto à localização, elas são divididas em arritmias ventriculares, supraventriculares e de condução; quanto à frequência, em taquiarritmias e bradiarritmias; e quanto ao mecanismo, em reentrada e atividade desencadeada. Essa classificação é útil para compreender as arritmias e escolher o tratamento adequado (Tisdale *et al.*, 2020).

Bradiarritmia é definida como uma frequência cardíaca abaixo de 60 batimentos por minuto (bpm) e compreende vários distúrbios do ritmo, incluindo bloqueios atrioventriculares (BAV) e distúrbios do nó SA. Por outro lado, taquiarritmia é caracterizada por um ritmo anormal com frequência cardíaca de 100 bpm ou mais. A origem de uma arritmia ventricular está abaixo do nó AV, enquanto uma arritmia supraventricular se origina acima do nó AV, seja na região atrial ou na junção AV (Desai & Hajouli, 2023).

As arritmias podem ou não causar sintomas e podem ser paroxísticas, o que dificulta a estimativa de sua prevalência real. Para pacientes com suspeita de arritmias, o ECG é o primeiro passo e geralmente fornece o diagnóstico. No entanto, em alguns casos, o paciente pode apresentar arritmia paroxística, o que pode representar um dilema diagnóstico. A apresentação dos sintomas pode variar, mesmo para a mesma arritmia, exigindo abordagens de tratamento

diferentes com base na condição clínica e nas características individuais do paciente (Desai & Hajouli, 2023; Tisdale *et al.*, 2020).

2.3.1 Arritmias supraventriculares

O grupo de arritmias que afetam o tecido cardíaco a nível do Feixe de His ou acima é classificado como arritmias supraventriculares (Kotadia, Williams & O'Neill, 2020). Quando sintomáticos e diagnosticados, o manejo envolve procedimentos eletrofisiológicos e tratamento medicamentoso (Brugada *et al.*, 2020). A prevalência é de 2,25 a cada 1000 pessoas, sendo a FA a arritmia cardíaca sustentada mais comum na população em geral (Kotadia, Williams & O'Neill, 2020).

De acordo com Brugada *et al.* (2020), a arritmia pode ser desencadeada a partir de um impulso anormal de um miócito individual ou um aglomerado de miócitos. Como esse tipo celular não é considerado uma célula marca-passo, sua automaticidade é considerada um mecanismo anormal. Outra possibilidade, são arritmias iniciadas por um impulso anormal através de oscilações do PA (Fig. 6). As pós-despolarizações precoces (EAD) ocorrem durante as fases de repolarização do PA (fases 2 e 3) e as pós-despolarizações tardias (DAD), durante a diástole (fase 4 do PA).

As EAD são geralmente associadas ao aumento das correntes de Na^+ tardio (INaL) e Ca^{2+} do tipo L (Ica,L). Quando as EAD atingem o limiar para se propagar fora desta região, podem servir como gatilhos para induzir a reentrada. Enquanto as DAD são associadas à sobrecarga de Ca^{2+} intracelular, que ativa o trocador de sódio-cálcio (NCX), expulsando Ca^{2+} da célula em troca de três íons de Na^+ e gerando uma corrente de Na^+ para dentro. Essa corrente de Na^+ pode gerar uma atividade desencadeada manifestando-se como contrações prematuras que induzem a reentrada (Song *et al.*, 2015).

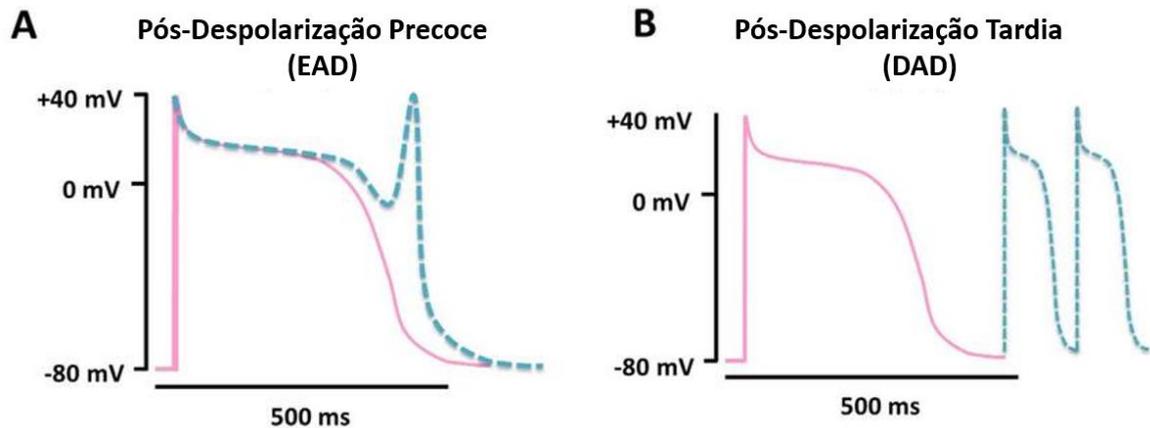


Fig. 6 - Potenciais de ação desencadeados por pós-despolarizações precoces (EAD) e tardias (DAD). As EAD ocorrem geralmente durante as fases 2 (platô) e 3 (repolarização) e estão associadas ao aumento das correntes de Na^+ tardio e de Ca^{2+} tipo L, enquanto as DAD ocorrem na fase 4 (diástole) e estão relacionadas com a ativação do NCX pela sobrecarga de Ca^{2+} intracelular. Fonte: Adaptado de Huang *et al.*, 2017.

Esse mecanismo de reentrada, diferente do mecanismo de automaticidade aumentada ou de atividade desencadeada – que são considerados mecanismos “não-reentrantes” –, acontece quando regiões miocárdicas ativadas posteriormente reexcitam regiões que já recuperaram a excitabilidade. Isso resulta em uma propagação anormal da frente de onda de excitação, gerando arritmias. É geralmente associado a um remodelamento elétrico e estrutural do tecido, que reduz a velocidade de condução e encurta o período refratário, alimentando ainda mais sua ocorrência. O remodelamento elétrico está associado a mudanças na expressão e função dos canais iônicos, enquanto o remodelamento estrutural envolve alterações nos componentes intra e extracelulares do coração, como o desenvolvimento de fibrose atrial (Filgueiras-Rama, Ramos-Prada & Cluitmans, 2023).

A fibrose é um importante contribuinte fisiopatológico para a FA e pode perpetuar os mecanismos de arritmia focal e de reentrada no tecido afetado. Geralmente está associado a uma expressão alterada de conexina, que causa o desacoplamento entre os miócitos, favorecendo o desenvolvimento de tecido fibrótico. O colágeno patologicamente desencadeado é diferente do colágeno de corações saudáveis, devido a proporções modificadas de seus subtipos. Os fibroblastos cardíacos normais são células não-excitáveis, porém, são capazes de transferir correntes para os cardiomiócitos via conexinas. Na fibrose atrial, essa condução é comprometida e lentificada, fornecendo um substrato de arritmia (Sohns & Marrouche, 2020).

Esses mecanismos no tecido atrial geralmente estão relacionados ao surgimento da FA. O manejo e a intervenção, nesses casos, serão instituídos de acordo com a classificação da *American Heart Association*. A FA é classificada, de acordo com seu padrão temporal, em três tipos: paroxística, persistente ou permanente. Quando os episódios terminam espontaneamente

dentro de sete dias, sem intervenção farmacológica, são classificados como paroxísticos. Se persistir, exigindo cardioversão elétrica ou farmacológica para o término, a FA é classificada como persistente. Porém, se a cardioversão não obtiver sucesso ou se a FA de longa duração (maior que um ano) não tiver indicação de cardioversão, ela é classificada como permanente (Cintra & Figueiredo, 2021).

Em suma, é importante ressaltar que todos esses mecanismos arritmogênicos estão interligados e se retroalimentam. Por conta disso, uma das características da FA é ser uma arritmia sustentada, dado o ciclo vicioso de ativação de gatilhos e remodelamento do substrato cardíaco. Essas características tornam o manejo e controle dessas arritmias desafiadores, necessitando cada vez mais de novos estudos para complementar e direcionar para um tratamento mais resolutivo. Esse desafio pode ser ainda maior quando a FA está associada a outras condições, especialmente disfunções hormonais, como ocorre nas doenças tireoidianas.

2.4 Doenças da tireoide e fibrilação atrial

Os HT influenciam diretamente a frequência cardíaca, a contratilidade do miocárdio, a resistência vascular periférica e o ritmo cardíaco, agindo no aumento da expressão de canais iônicos (como sódio e potássio) e proteínas relacionadas ao manejo do Ca^{2+} , que são cruciais para os PA cardíacos (Marrakchi *et al.*, 2015). Tanto o hipertireoidismo quanto o hipotireoidismo podem alterar a eletrofisiologia cardíaca, predispondo ao desenvolvimento de FA (Grais & Sowers, 2014).

A deficiência de HT resulta em uma série de alterações moleculares no tecido cardíaco, afetando o sistema cardiovascular de várias formas. Além de bradicardia e prolongamento do intervalo QT, a falta de HT impacta negativamente o tônus vascular e o volume sanguíneo, fatores que podem levar a um quadro clínico semelhante à insuficiência cardíaca (Elnakish *et al.*, 2015). Em humanos e modelos experimentais, o hipotireoidismo pode causar atrofia dos cardiomiócitos e remodelamento da câmara ventricular esquerda a longo prazo. Essas alterações sistêmicas tornam-se evidentes algumas semanas após a redução dos níveis de HT, especialmente T3, impactando diretamente a contratilidade do miocárdio e a função sistólica (Montalvo *et al.*, 2018).

Além das condições predisponentes, como síndromes genéticas, que favorecem o desenvolvimento de arritmias cardíacas, as alterações estruturais e metabólicas, incluindo as causadas por distúrbios tireoidianos, têm sido associadas a um aumento da frequência de arritmias com risco de morte (Deo & Albert, 2012). O estudo de Zhang *et al.* (2013) indicou

que a regulação anormal da glândula tireoide pode amplificar a indução de FA, particularmente em indivíduos idosos, nos quais níveis baixos de TSH estão frequentemente associados a uma maior ocorrência de FA. Além disso, níveis reduzidos de TSH ou níveis elevados de T3 e T4 circulantes têm sido correlacionados à recorrência de FA após procedimentos como ablação por cateter.

No hipertireoidismo, os níveis elevados de T3 e T4 aumentam a sensibilidade e a densidade dos receptores β -adrenérgicos no coração, o que leva a uma hiperatividade simpática, aumentando a frequência cardíaca e a excitabilidade do tecido atrial. Esse processo favorece a sobrecarga de Ca^{2+} intracelular e o encurtamento do período refratário, condições que facilitam os mecanismos de reentrada e atividade ectópica, predispondo à FA. A FA é uma das complicações mais comuns do hipertireoidismo, afetando de 10 a 25% dos pacientes não tratados, especialmente aqueles em faixas etárias mais avançadas ou com doenças cardiovasculares preexistentes (Fernandez-Ruocco *et al.*, 2019).

Por outro lado, o hipotireoidismo é mais comumente associado a bradicardia e alterações no intervalo QT. No entanto, em casos graves, pode estar relacionado à FA devido à fibrose atrial, resultante do remodelamento estrutural do miocárdio. Esse remodelamento compromete o metabolismo energético e altera a condução elétrica, criando condições propícias para o desenvolvimento de arritmias (Souza *et al.*, 2022). Embora o risco de FA no hipotireoidismo seja menor do que no hipertireoidismo, ele ainda é relevante, especialmente em pacientes com insuficiência cardíaca concomitante.

Essa relação está intimamente ligada à disfunção de comunicação célula a célula, que ocorre quando a comunicação elétrica entre os cardiomiócitos é prejudicada. A redução na expressão de conexinas, como a Cx43, compromete as junções comunicantes responsáveis pela propagação dos impulsos elétricos de forma coordenada. Além disso, o aumento da fibrose celular, caracterizado pelo acúmulo de matriz extracelular e colágeno, contribui para o isolamento elétrico das células e a formação de zonas de condução heterogênea. Esses fatores combinados criam um substrato eletrofisiológico vulnerável, favorecendo o surgimento de circuitos de reentrada e atividade elétrica desorganizada, principais mecanismos das arritmias supraventriculares (Lillo *et al.*, 2023).

Portanto, o presente estudo buscou entender os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento das arritmias atriais em condições de hipotireoidismo, partindo da hipótese de que a disfunção célula a célula, decorrente da redução na expressão de Cx43 e do aumento da fibrose celular, pode promover um incremento significativo na ocorrência de arritmias supraventriculares.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar alterações eletrofisiológicas e morfológicas em átrios direito e esquerdo de ratos com hipotireoidismo experimental.

3.2 Objetivos específicos

Comparando animais saudáveis e animais com hipotireoidismo:

- a. Identificar alterações eletrocardiográficas;
- b. Analisar a contratilidade do átrio esquerdo;
- c. Examinar a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático do átrio esquerdo;
- d. Caracterizar arritmias induzidas por protocolo de estimulação no átrio direito;
- e. Investigar alterações morfológicas e infiltrado inflamatório no tecido atrial;
- f. Mensurar a expressão da conexina 43.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos, com idade entre 6 a 9 semanas e massa corporal aproximada de 150 a 250g, reproduzidos, criados e mantidos pelo Biotério setorial da Universidade Federal de Sergipe e alojados no Biotério do Laboratório de Biofísica do Coração. Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de 12 horas, à temperatura ambiente (20 - 25 °C), e tiveram acesso à água e ração livremente. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Sergipe (Anexo A) e executado sob a normativa do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Após a morte, os animais foram descartados segundo as recomendações do Departamento de Fisiologia/CCBS/UFS.

4.2 Delineamento experimental

Os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos: o grupo controle, que recebeu água filtrada, e o grupo Hipo, que foi tratado com metimazol (MMI) 0,02% na água de beber durante 28 dias (Alves *et al.*, 2013; Herwig *et al.*, 2014). O hipotireoidismo foi induzido em 40 animais e o grupo controle foi pareado com o grupo Hipo em relação à idade e massa corporal. Foram agrupados 4 animais por gaiola, entretanto, cada animal individualmente foi considerado como unidade experimental dentro dos estudos.

O MMI pertence ao grupo das tioaminas e atua inibindo a enzima tireoperoxidase, responsável pelas reações de oxidação do iodo no interior dos folículos tireoidianos e pelo acoplamento do iodo oxidado à tirosina, essenciais para a síntese dos HT. Dessa forma, o MMI reduz seletivamente a produção de T3 e T4. Outras formas alternativas de induzir o modelo animal de hipotireoidismo é pelo tratamento com propiltiouracil (PTU) ou pela realização de uma tireoidectomia total ou parcial. O tratamento com MMI, em comparação com o PTU, possui algumas vantagens: o MMI não inibe a conversão de T4 em T3, enquanto o PTU exerce essa função; o MMI apresenta menor risco de hepatotoxicidade; e a potência do MMI é maior, sendo necessárias doses menores que o PTU para indução do modelo (Tan *et al.*, 2021; Homsanit *et al.*, 2001).

No 29º dia de tratamento, foram coletadas amostras de sangue de três animais de cada grupo para determinação das concentrações séricas de T3 total e T4 livre, a fim de avaliar o

estado da tireoide. A coleta foi realizada após a eutanásia dos animais por decapitação em guilhotina, sem anestesia prévia, conforme as diretrizes do Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia Animal (Brasil, 2013). O sangue foi centrifugado a 10.000 g, a 10°C, por 10 minutos, para separação do soro e armazenado a -80°C até o momento da análise. Os testes foram realizados segundo as orientações do fabricante (Labtest Diagnóstica S.A Vista Alegre, Lagoa Santa - MG).

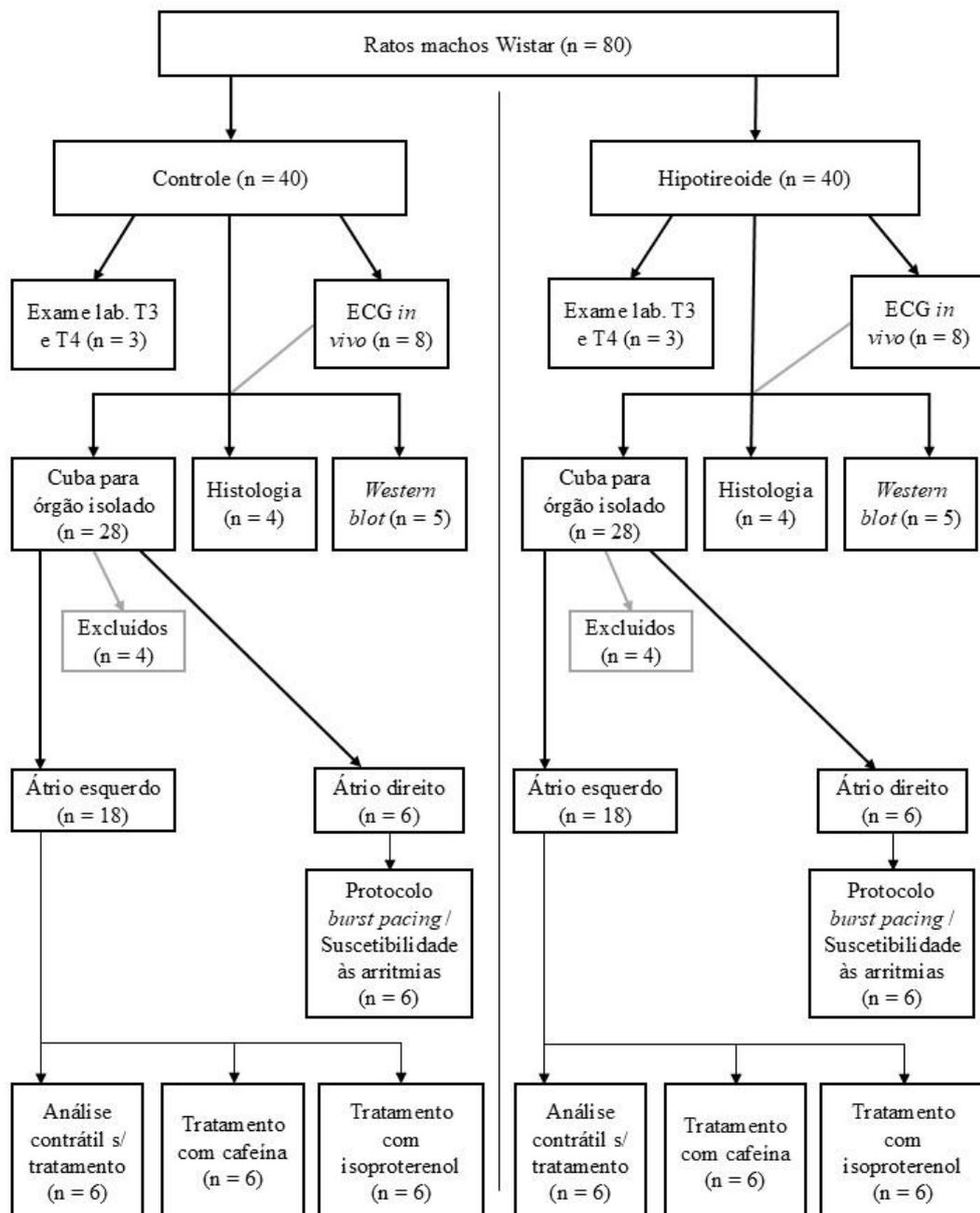


Fig. 7 - Fluxograma do protocolo experimental e distribuição dos animais utilizados no estudo. O grupo controle (n= 40) foi pareado com o grupo hipotireoide (n= 40) por idade e massa corporal. Após exame de concentração de T3 e T4 (n= 3/grupo) e confirmação do modelo, foi realizado o ECG *in vivo* (n= 8/grupo). Em

seguida, os animais sobreviventes (n=37/grupo) foram eutanasiados para secção dos átrios, distribuídos para: experimentos na cuba de órgão isolado (n= 28), histologia (n= 4) e análise da expressão de conexinas (*western blot*) (n= 5). Durante os experimentos na cuba, 4 animais de cada grupo foram perdidos devido a falhas na execução técnica ou na digitalização dos dados.

O tamanho da amostra para cada experimento foi calculado para garantir que fosse utilizado um número mínimo de animais, suficiente para obter resultados estatisticamente válidos. Para a realização do ECG *in vivo*, foram utilizados 8 animais de cada grupo, escolhidos aleatoriamente. Após os experimentos de ECG, os animais foram novamente utilizados nos demais experimentos. Assim, 37 animais de cada grupo foram distribuídos da seguinte forma: 28 para experimentos na cuba para órgão isolado, 4 para histologia e 5 para análise de expressão de conexinas. Durante os experimentos na cuba, 4 animais do grupo Hipo foram perdidos devido a falhas na execução técnica ou na digitalização dos dados. Dessa forma, 4 animais do grupo controle também foram excluídos do estudo para manter o pareamento, restando 24 animais de cada grupo. Estes foram distribuídos em: 6 para análise contrátil, 6 para tratamento com cafeína, 6 para tratamento com isoproterenol e 6 para análise de suscetibilidade às arritmias. O protocolo experimental e a distribuição dos animais em cada experimento estão representados na Figura 7.

4.3 Medições de ECG *in vivo*

Os animais (n= 8/grupo) foram anestesiados com quetamina (80mg/kg, i.p.) e xilazina (10mg/kg, i.p), em seguida, as medidas de ECG de superfície foram conduzidas usando eletrodos subdérmicos colocados no arranjo de derivações DII, conectado a um cardioscópio e todos os sinais foram amplificados e digitalizados a 25kHz (PowerLab 4/35 ADInstruments, EUA). As leituras foram feitas a 50 mm/s e os dados foram analisados no LabChart 8 (ADInstruments, EUA). Para análise dos intervalos o LabChart 8 utiliza a medição nos seguintes momentos: o intervalo PR, foi medido do início da onda P até o início do QRS; o complexo QRS foi medido do início da onda Q ao final da onda S; o intervalo QT, foi medido desde o início do complexo QRS até o final da onda T; e o intervalo QT corrigido, considera a duração do intervalo QT ajustado à frequência cardíaca (Samesima *et al.*, 2022).

4.4 Contratilidade do miocárdio em átrio isolado

Após decapitação por guilhotina, os átrios direito e esquerdo foram retirados e montados em cuba para órgão isolado (6 mL, $29 \pm 0,1$ °C), onde permaneceram em solução oxigenada de Tyrode (mM: 137 NaCl; 5,4 KCl; 1,8 CaCl₂; 0,33 NaH₂PO₄; 25 HEPES; 22 glicose; 0,5 MgCl₂; pH 7.4 ajustada com NaOH). A força de contração foi determinada em átrio esquerdo isolado de ratos (n= 6/grupo). Os átrios foram estirados a uma tensão de repouso de 5 mN (0,5 gf) e submetidos a uma estimulação de campo de 1 Hz, 100 V e 0,5 ms (STIMULATOR SD9 GRASS da Astro-Med, Inc). Após um período de estabilização de 30 minutos, foram gravados o tempo de 30 minutos para realização dos experimentos. Foram avaliadas, em ambos os grupos: duração da sístole, duração da diástole, duração total do ciclo de contração, derivada máxima da contração (+dT/dt) e do relaxamento (-dT/dt). A força foi registrada isometricamente (transdutor GRASS FT03), e os sinais do transdutor, enviados a um amplificador (GRASS P11T), sendo, em seguida, digitalizados (DATAQ DI710, WINDAQ PRO) e armazenados em computador para processamento "off-line".

4.5 Carga de cálcio do retículo sarcoplasmático

No átrio esquerdo (n= 6/grupo), foram observadas as contrações de nível estável e pós-repouso após uma pausa de 10 segundos na estimulação, durante o tratamento com cafeína de 10 mM (0,01 mol/L). As medições foram feitas na última contração antes da pausa e na primeira contração após o intervalo de descanso, com o objetivo de avaliar, a partir da diferença entre esses dois picos, a amplitude do *overshoot* nos grupos controle e hipotireoide. Esse parâmetro é indicativo da carga de Ca²⁺ do retículo sarcoplasmático (RS) (Barbosa *et al.*, 2020).

A cafeína aumenta a sensibilidade dos canais de rianodina (RyR2) devido à hiperfosforilação, o que eleva a probabilidade de abertura desses canais para liberação de Ca²⁺ no citosol (Trafford *et al.*, 2000). Experimentos recentes correlacionam os efeitos da cafeína com a homeostase do Ca²⁺, avaliando se há disfunção contrátil associada a alguma patologia (Balasubramaniam *et al.*, 2005). A diferença na amplitude do *overshoot* entre os grupos controle e hipotireoide, registrada neste estudo, pode indicar se há algum comprometimento no manejo do Ca²⁺ intracelular em condição de hipotireoidismo. A diferença na amplitude do *overshoot* foi registrada isometricamente (transdutor GRASS FT03), e os sinais do transdutor, enviados a um amplificador (GRASS P11T), sendo, em seguida, digitalizados (DATAQ DI710, WINDAQ PRO) e armazenados em computador para processamento "off-line".

4.6 Avaliação da resposta inotrópica atrial ao isoproterenol

Foi adicionado isoproterenol na concentração de 1×10^{-6} mol/L (1 μ M) sobre o átrio esquerdo (n= 6/grupo) de ambos os grupos. Após um período de estabilização pós-fármaco, foram gravados 10 minutos para análise dos efeitos. Os dados obtidos foram registrados isometricamente utilizando o transdutor GRASS FT03. Os sinais gerados pelo transdutor foram enviados a um amplificador (GRASS P11T), digitalizados (DATAQ DI710, WINDAQ PRO) e armazenados em computador para processamento "off-line".

O isoproterenol é um agonista sintético dos receptores β -adrenérgicos e, quando administrado para fins de estudos cardiovasculares, induz aumento da frequência cardíaca (efeito cronotrópico positivo), aumento da velocidade de condução dos impulsos elétricos (efeito dromotrópico positivo) e aumento da força de contração (efeito inotrópico positivo) (Pan *et al.*, 2022). Neste estudo, o isoproterenol foi utilizado para avaliar o efeito inotrópico em ambos os grupos e observar se havia diferenças na resposta entre eles.

4.7 Protocolo *burst pacing* para indução de arritmias

A suscetibilidade às arritmias foi verificada em átrio direito isolado dos ratos (n= 6/grupo). Para induzir arritmias, cada átrio foi submetido ao protocolo *burst pacing*, um programa de estimulação elétrica programada (30 Hz por 5 s) no limiar de estimulação por três vezes com intervalos de três minutos entre os estímulos (Skibsbye *et al.*, 2018). A susceptibilidade às arritmias foi definida de acordo com a incidência de eventos atriais e sua respectiva duração (Curtis & Walker, 1988). Quando uma arritmia iniciava, o protocolo de estimulação era interrompido até que a arritmia se revertesse espontaneamente. Os episódios individuais de arritmia atrial foram classificados de acordo com os estudos de Ghebleh Zadeh *et al.* (2019) e Samesima *et al.* (2022).

4.8 Exame histológico

Para as análises histopatológicas, os corações (n= 4/grupo) foram removidos e canulados em um sistema de perfusão aórtica para serem limpos em uma solução contendo cloreto de potássio (3 M). Esta técnica preserva a estrutura tecidual de forma mais eficaz, uma vez que simula o funcionamento do sistema circulatório ao levar soluções químicas, através dos vasos sanguíneos, que perfundem o tecido. O processo facilita a obtenção do material e resulta em boas preparações histológicas (Santos *et al.*, 2021). Após essa etapa, os átrios foram

retirados, fixados em paraformaldeído a 4% por 16 horas, seguidos de desidratação em etanol, diafanização em xileno e inclusão em parafina. Os tecidos foram então seccionados com uma espessura de 5 µm, fixados em lâminas de vidro e corados com hematoxilina e eosina (H&E).

As análises foram conduzidas usando uma grade pré-definida com 1.000 pontos de interseção por rato, a partir de 20 quadros, e empregando uma ferramenta de contagem de células para realizar as medições. Para as alterações estruturais de acoplamento celular e áreas de degeneração tecidual, as análises foram feitas com objetiva de 20x. Ao total, foram analisadas 3 lâminas por animal, totalizando 12 fatias de tecido por grupo. As análises foram realizadas utilizando o software Image J (NIH, Bethesda, MD, EUA).

A diferenciação das células mononucleares e os núcleos dos miócitos foi realizada na objetiva de 40x e atendeu aos seguintes critérios: tamanho do núcleo (maior nos miócitos e mais achatado e oval nas células mononucleares); densidade da coloração (a cromatina no núcleo dos miócitos é menos pigmentada que as células mononucleares); posição do núcleo (centralizado nos miócitos e mais periférico nas células mononucleares) e distribuição no tecido (os miócitos estão organizados em fibras musculares, enquanto as células mononucleares se distribuem mais dispersos, geralmente entre as fibras) (Pinto *et al.*, 2012).

4.9 Expressão das proteínas

A expressão das proteínas relacionada às junções comunicantes dos cardiomiócitos atriais (Cx43) foi analisada quanto à densidade de expressão. Para isso, os tecidos (n= 5/grupo) foram homogeneizados em tampão de lise gelado (em mM: 100 NaCl, 50 trisbase, 5 EDTA.2 H₂O e 1 MgCl₂, pH 8,0) sendo 0,3% de triton X100, 1% de nonidet P40, 0,5% de desoxicolato de sódio, 20 mM NaF com protease (# P8340, Sigma-Aldrich) com coquetéis inibidores de fosfatases (# P0044, Sigma-Aldrich), com quantificação posterior de proteínas pelo método Lowry (Lowry *et al.*, 1951).

Após eletroforese, as proteínas foram transferidas para membrana de PVDF (ThermoFisher®, USA), bloqueadas (BSA a 4%) e incubadas com anticorpos primários em ambiente de 4 a 8°C, (anti-conexina-43 1:1000, #CS-3512 RB, Cell signaling; anti-alfa-tubulina 1:1000, #CS-2144 RB, Cell signaling). Após a incubação com os anticorpos primários, as membranas foram lavadas com TBS-T (Tris-buffered saline Tween 20) e incubadas por 2 horas com anticorpo secundário (1:2000, #CS-7074, Anti-rabbit IgG, HRP-linked, Cell signaling) diluídos em TBS-T. O complexo imune foi detectado utilizando o equipamento iBright Imaging Systems (ThermoFisher SCIENTIFIC, EUA). A análise densitométrica foi realizada e os

resultados foram obtidos pela razão entre as densidades ópticas das proteínas-alvo e dos controles de carga.

4.10 Análise estatística

Todos os dados foram expressos como médias \pm desvio padrão. As comparações estatísticas foram realizadas utilizando o GraphPad Prism 8 (San Diego, CA, EUA). A normalidade e igualdade de variância foram testadas pelo teste de Shapiro-Wilk e teste de Levene, respectivamente, e os resultados indicaram que os pressupostos para a realização de testes paramétricos foram atendidos. A significância estatística entre dois grupos foi determinada utilizando um teste t de Student não pareado. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Concentrações séricas de T3 total e T4 livre

A concentração hormonal de T4 livre ($1,37 \pm 0,06$ ng/dL vs. $0,47 \pm 0,06$ ng/dL; $p = 0,0001$) e T3 total ($41,67 \pm 2,89$ ng/dL vs. $29,67 \pm 1,53$ ng/dL; $p = 0,0076$) foram menores no grupo hipotireoide em comparação com o grupo controle (Fig. 8). Os resultados dessa avaliação indicam que a indução do modelo experimental por MMI 0,02% durante 28 dias foi eficaz e suprimiu a função tireoidiana, permitindo, então, que a investigação dos efeitos da redução dos HT nos átrios desses animais pudesse ser realizada.

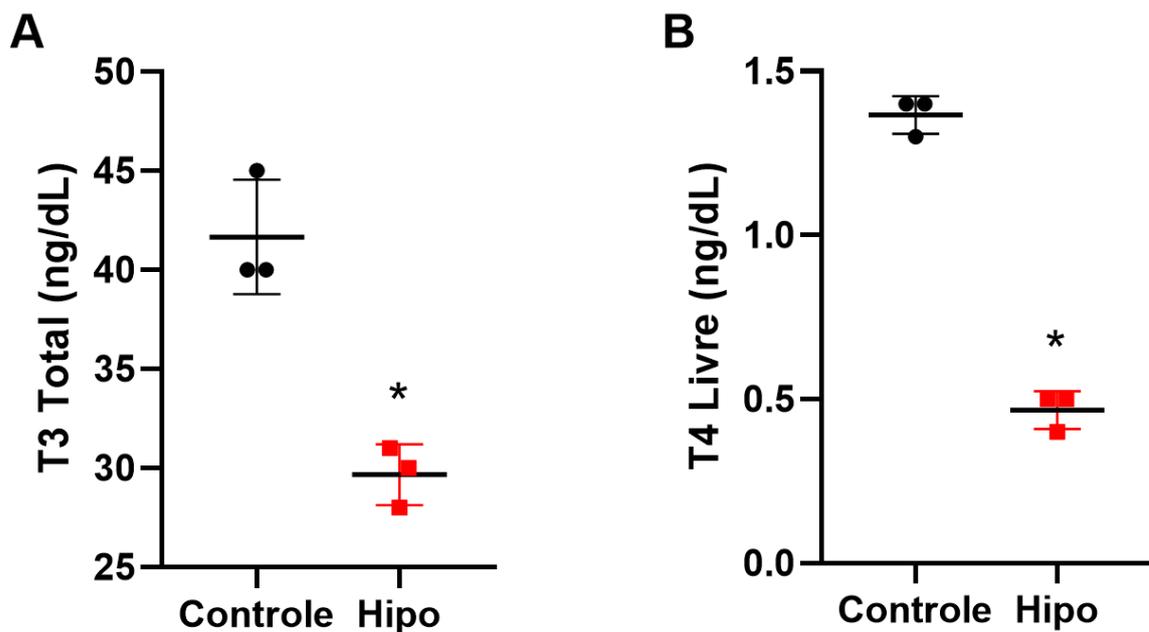


Fig. 8 - Concentrações reduzidas de T3 total e T4 livre no grupo hipotireoide confirmam a eficácia do modelo experimental. (A) Concentração de T3 total (ng/dL); (B) Concentração de T4 livre (ng/dL). Os dados são representados como médias \pm DP. * $p < 0,05$. $n = 3$ animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

5.2 Registro e análise do ECG *in vivo*

O hipotireoidismo causou alterações consideráveis na frequência cardíaca e na condução elétrica atrial. Observou-se uma diminuição na frequência cardíaca (Fig. 9A, 9B) no grupo hipotireoide ($263,71 \pm 29,38$ bpm) em comparação ao grupo controle ($307,98 \pm 21,06$ bpm; $p = 0,0043$). Além disso, as Figuras 9C e D mostram que os ratos com hipotireoidismo tiveram um aumento na duração da onda P ($20,52 \pm 2,91$ vs. $33,93 \pm 9,44$ ms; $p = 0,0046$) e do

intervalo PR ($50,82 \pm 4,01$ vs. $56,89 \pm 6,15$ ms; $p = 0,0377$) em relação aos ratos controle. Esses resultados indicam a presença de um BAV no grupo hipotireoide.

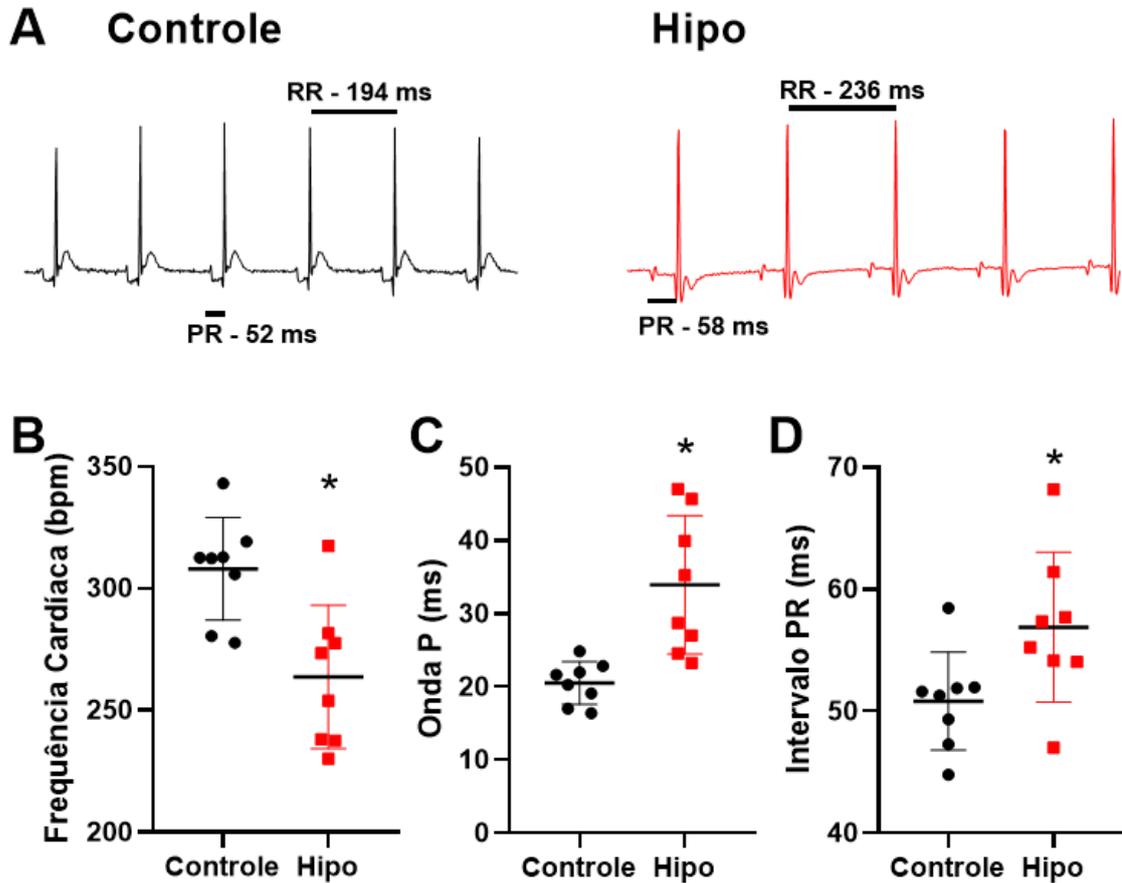


Fig. 9 - Alterações eletrofisiológicas atriais causadas pelo hipotireoidismo sugerem impacto na condução entre átrios e ventrículos. (A) Eletrocardiografia; (B) Frequência cardíaca; (C) Duração da onda P; (D) Duração do intervalo PR. Os dados são representados como médias \pm DP. * $p < 0,05$. $n = 8$ animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

Além das alterações atriais, foi observado que o hipotireoidismo também causou eventos ventriculares, embora esses achados sejam suplementares ao objetivo principal deste estudo. A duração do complexo QRS (Fig. 10A) foi a única variável sem diferença entre os grupos ($p = 0,3294$). O intervalo QT (Fig. 10B) foi aumentado no grupo hipotireoide ($125,70 \pm 32,73$ ms) em relação ao controle ($59,94 \pm 7,36$ ms; $p = 0,0006$), mesmo quando corrigido pela frequência cardíaca (Fig. 10C; $59,78 \pm 7,24$ ms vs. $118,66 \pm 31,58$; $p = 0,0010$). A duração da onda T (Fig. 10D) também foi prolongada nos ratos hipotireoides ($48,52 \pm 2,81$ vs. $78,61 \pm 25,56$ ms; $p = 0,0125$).

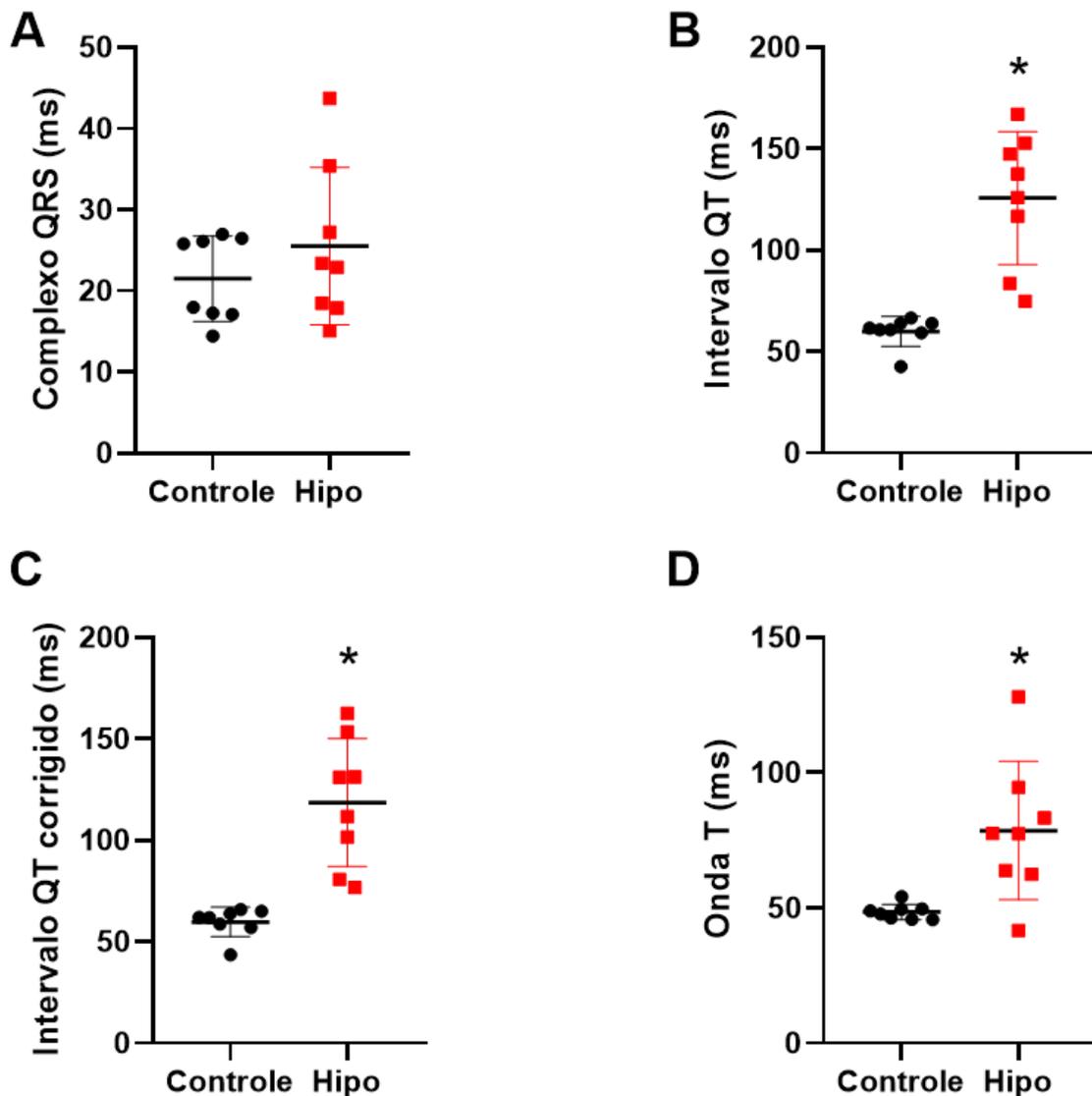


Fig. 10 - Hipotireoidismo causou alterações eletrofisiológicas ventriculares. (A) Duração do complexo QRS; (B) Duração do intervalo QT; (C) Duração do intervalo QT corrigido; (D) Duração da onda T. Os dados são representados como médias \pm DP. * $p < 0,05$. $n = 8$ animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

5.3 Avaliação funcional da contratilidade atrial

A força de contração foi avaliada em átrio esquerdo dos ratos controle e hipotireoide, com a técnica de cuba para órgão isolado. A Figura 11A apresenta os traçados representativos, nos quais não foram observadas diferenças significativas na amplitude de pico entre os grupos ($p = 0,239$). No entanto, é perceptível um prolongamento na duração do evento contrátil nos átrios dos animais com hipotireoidismo ($0,175 \pm 0,036$ vs. $0,314 \pm 0,107$ s; $p = 0,023$).

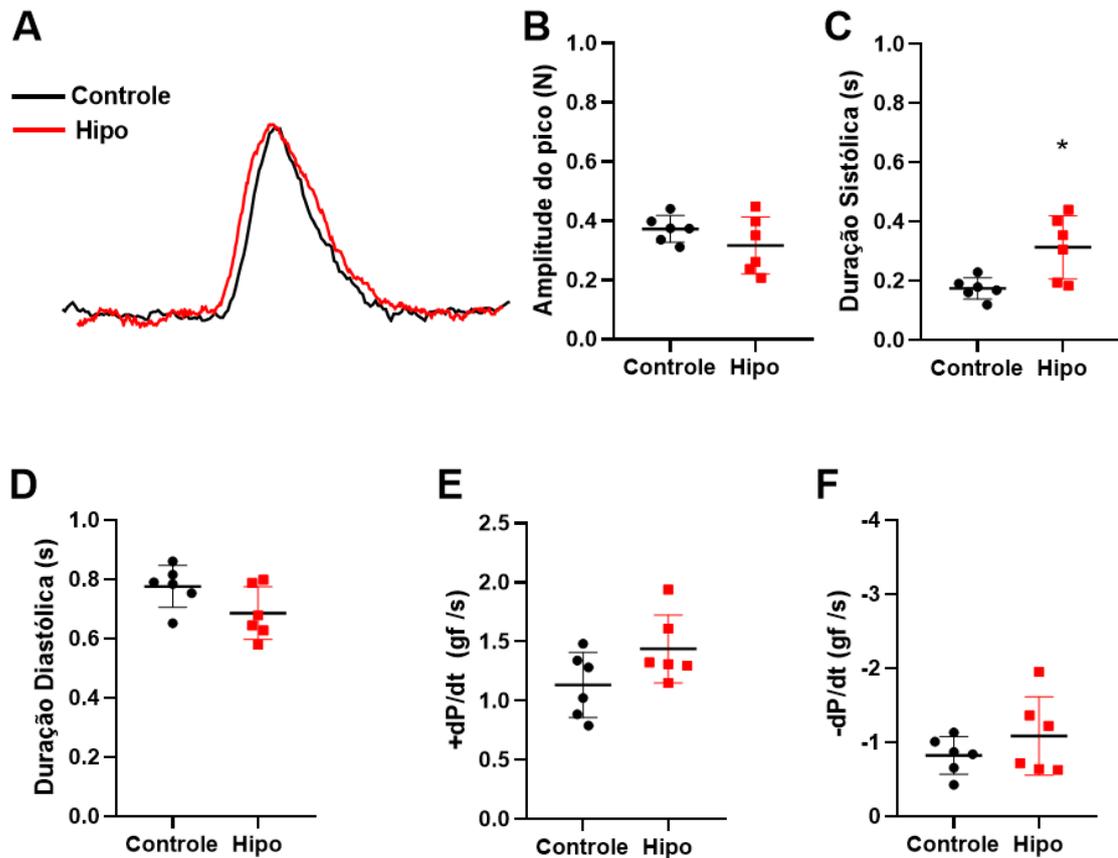


Fig. 11 - Análise da força contrátil dos átrios isolados indicou prolongamento da duração sistólica em animais com hipotireoidismo. (A) Traçados representativos da força de contração ao longo do tempo nos grupos controle (linha preta) e hipotireoide (linha vermelha); (B) Amplitude do pico da contração; (C) Duração sistólica; (D) Duração diastólica; (E) Máximo dT/dt (+dT/dt); (F) Mínimo dT/dt (-dT/dt). Os dados são representados como médias ± DP. *p < 0,05. n = 6 animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

A análise da amplitude de pico (Fig. 11B) não mostrou diferença entre os grupos ($0,373 \pm 0,045$ vs. $0,318 \pm 0,096$ N; $p = 0,239$). Em contrapartida, a duração sistólica (Fig. 11C) foi maior nos ratos do grupo hipotireoide ($0,314 \pm 0,107$ s) em relação ao controle ($0,175 \pm 0,036$ s), refletindo um prolongamento da contração atrial ($p = 0,023$). Já a duração diastólica (Fig. 11D) apresentou valores médios de $0,776 \pm 0,071$ s no grupo controle e $0,686 \pm 0,089$ s no grupo hipotireoide, não havendo diferença estatística ($p = 0,082$).

Os valores máximos de dT/dt, indicativos da força contrátil máxima (Fig. 11E), foram de $1,134 \pm 0,274$ gf/s no grupo controle e $1,438 \pm 0,287$ gf/s no grupo hipotireoide ($p = 0,091$). Por sua vez, o mínimo dT/dt, que reflete a velocidade de relaxamento contrátil (Fig. 11F), teve valores médios de $-0,821 \pm 0,252$ gf/s no grupo controle e $-1,085 \pm 0,529$ gf/s no grupo hipotireoide ($p = 0,306$). Esses achados mostram que, no estado hipotireoide, a duração sistólica é prolongada, enquanto os demais parâmetros mecânicos não apresentam alterações.

5.4 Indução de arritmias atriais pelo protocolo *burst pacing*

A Figura 12A mostra os traçados representativos atriais utilizando o protocolo de *burst pacing* para indução de arritmias nos átrios de ratos dos grupos controle e hipotireoide. No grupo controle, após o pulso inicial, observou-se um episódio de fibrilação sustentada e relativamente regular, mas com um tempo de duração consideravelmente curto. Em contraste, no grupo hipotireoide, o mesmo protocolo resultou inicialmente em fibrilação por um tempo muito maior em comparação ao controle e evoluiu para batimentos irregulares, indicando uma alteração na estabilidade elétrica dos átrios sob a condição de hipotireoidismo.

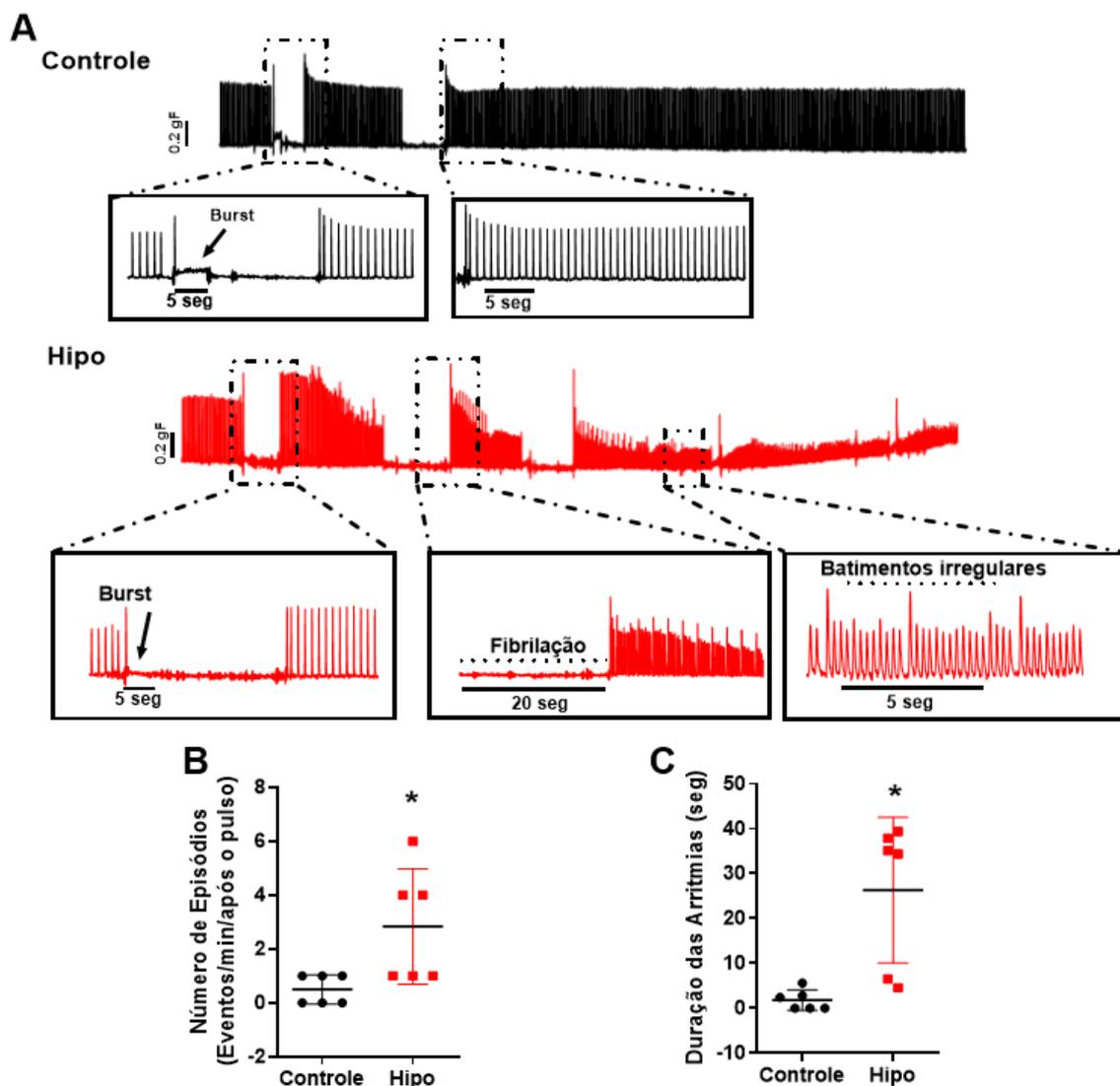


Fig. 12 - Respostas ao protocolo *burst pacing* em átrios isolados de ratos indicam que o hipotireoidismo está associado a maior suscetibilidade a arritmias e instabilidade elétrica. (A) Traçados representativos das respostas ao protocolo em ambos os grupos; (B) Número de episódios por minuto após o pulso; (C) Duração das arritmias. Os dados são representados como médias \pm DP. * $p < 0,05$. $n = 6$ animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

O número de episódios por minuto após o pulso (Fig. 12B) foi maior no grupo hipotireoide ($2,83 \pm 2,14$) em comparação ao controle ($0,5 \pm 0,55$; $p = 0,027$). De forma semelhante, a duração das arritmias (Fig. 12C) também foi consideravelmente superior no grupo hipotireoide ($26,31 \pm 16,20$ seg) em relação ao grupo controle ($1,80 \pm 2,26$ seg; $p = 0,004$). Esses achados complementam os dados obtidos no ECG *in vivo*, que observam o aumento da suscetibilidade às arritmias e a instabilidade elétrica atrial induzidas pelo hipotireoidismo.

5.5 Efeitos do tratamento com cafeína e isoproterenol na contração atrial

A fim de investigar indiretamente se o Ca^{2+} armazenado no RS e sua liberação no citosol, especialmente pelos canais de RyR2, estão alterados e podem ter contribuído para os episódios de arritmia e/ou para o aumento da duração sistólica atrial, foi administrada cafeína (10 mM) em átrios isolados de ratos. Após estabilização, foi realizada uma pausa de 10 segundos nos estímulos, onde foi observada a diferença entre a última contração antes da pausa e a primeira contração após intervalo (Fig. 13A). A análise dos dados quantitativos (Fig. 13B) não revelou diferença entre os grupos, que apresentou médias do *overshoot* de $0,031 \pm 0,010$ gf no grupo controle e $0,036 \pm 0,020$ gf no grupo hipotireoide ($p = 0,652$).

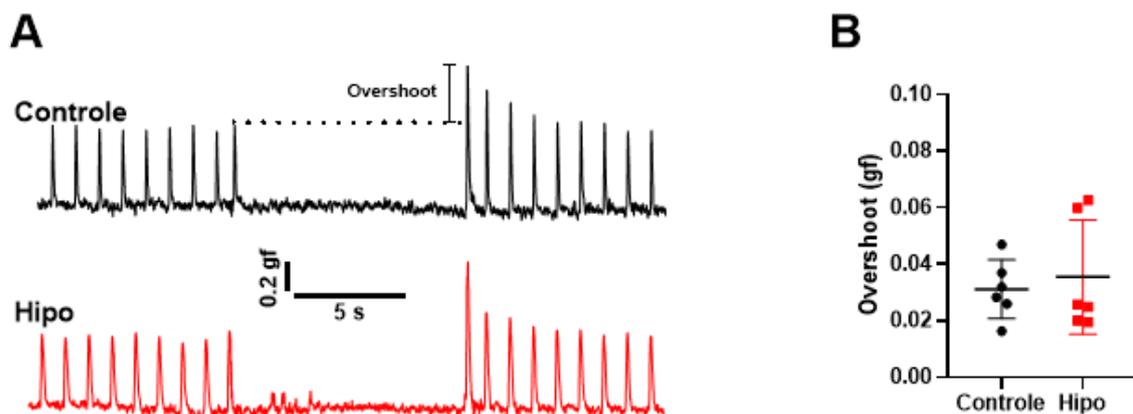


Fig. 13 - Comparação do *overshoot* em resposta à cafeína (10 mM) não demonstrou diferença na carga de Ca^{2+} entre grupos controle e hipotireoide. (A) Traçados representativos do *overshoot* em ambos os grupos; **(B)** Comparação quantitativa das médias de *overshoot* entre os grupos. Os dados são representados como médias \pm DP. $n = 6$ animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

A investigação prosseguiu com a administração de isoproterenol ($1 \mu\text{M}$), agonista adrenérgico que aumenta a força de contração cardíaca. Os dados da Figura 14A indicam que o tratamento com isoproterenol promoveu um aumento expressivo na amplitude de pico (% de

aumento) em ambos os grupos. No grupo controle, a média da amplitude de pico (Fig. 13B) aumentou para $198,4 \pm 74,8\%$, enquanto no grupo com hipotireoidismo foi de $220,7 \pm 64,9\%$, não havendo diferença de resposta entre os grupos ($p = 0,090$).

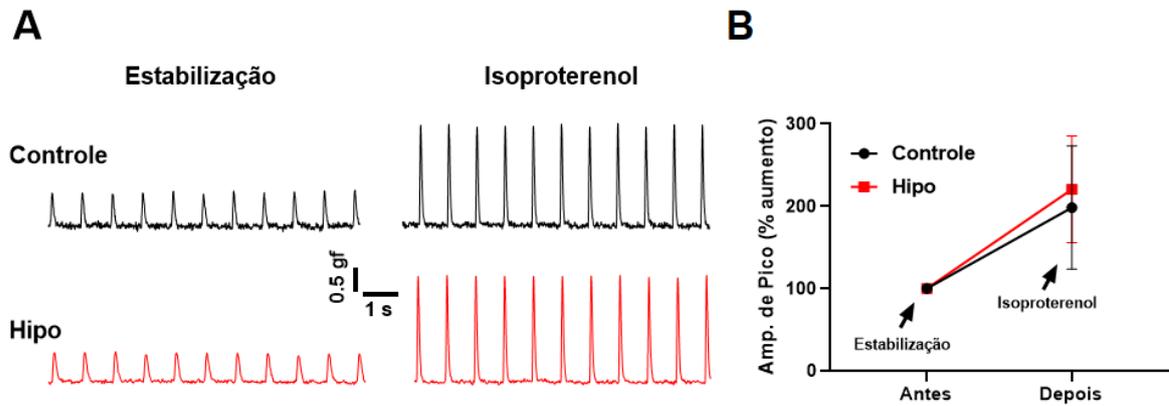


Fig. 14 - A administração de isoproterenol aumentou significativamente a amplitude de pico em ambos os grupos. (A) Traçados representativos mostrando a estabilização inicial e o aumento do pico após o tratamento com isoproterenol nos grupos; (B) Comparação quantitativa da amplitude de pico antes e depois do isoproterenol. Os dados são representados como médias \pm DP. $n = 6$ animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

5.6 Análise histológica e infiltrado inflamatório em átrios

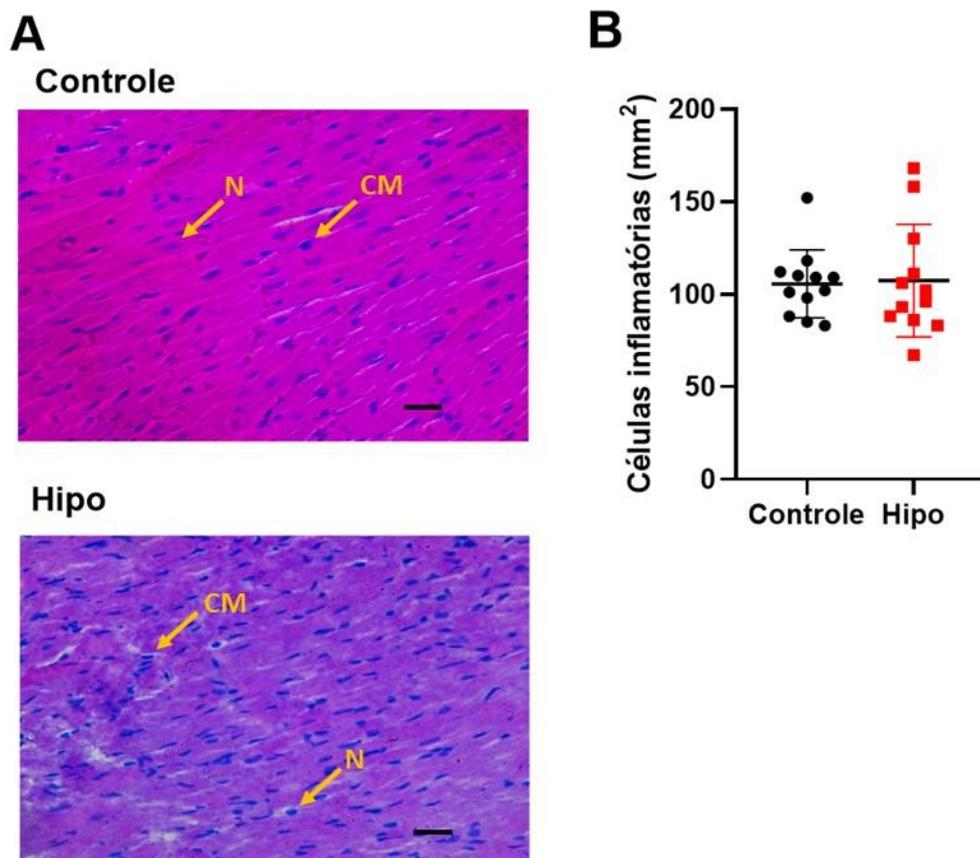


Fig. 15 - Hipotireoidismo não altera infiltrado inflamatório em átrios. (A) Imagens histológicas representativas com hematoxilina-eosina (H&E) (barra da escala 31,25 μ M, objetiva 40x) e diferenciação entre os núcleos do miócito (N) e as células mononucleares (CM); (B) Contagem do número de células inflamatórias (mm²) nos grupos controle e hipotireoide (Hipo). Os dados são representados como médias \pm DP. Cada ponto indica fatias de tecidos com um n= 4 animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

A Figura 15A mostra o exame microscópico das seções coradas por H&E na objetiva de 40x, onde é possível identificar células mononucleares no tecido atrial. A análise estatística (Fig. 15B) não mostrou diferença quantitativa no infiltrado de células inflamatórias entre o grupo controle (105,58 \pm 18,41 mm²) e o grupo hipotireoide (107,33 \pm 30,43 mm²). No total, foram investigadas 3 fatias de tecido por animal (n= 4/grupo) e cada ponto no gráfico representa uma fatia.

Ao avaliar o tecido com a objetiva de 20x, observa-se que os tecidos atriais dos animais com hipotireoidismo apresentaram danos focais e difusos na estrutura miocárdica. Como mostrado na Figura 16 (à direita), os átrios com hipotireoidismo exibiram lesões na estrutura miocárdica atrial, tanto de forma focal quanto difusa. As fibras musculares cardíacas afetadas apresentaram descontinuidade, degeneração, espaçamento amplo e vacuolização no miocárdio.

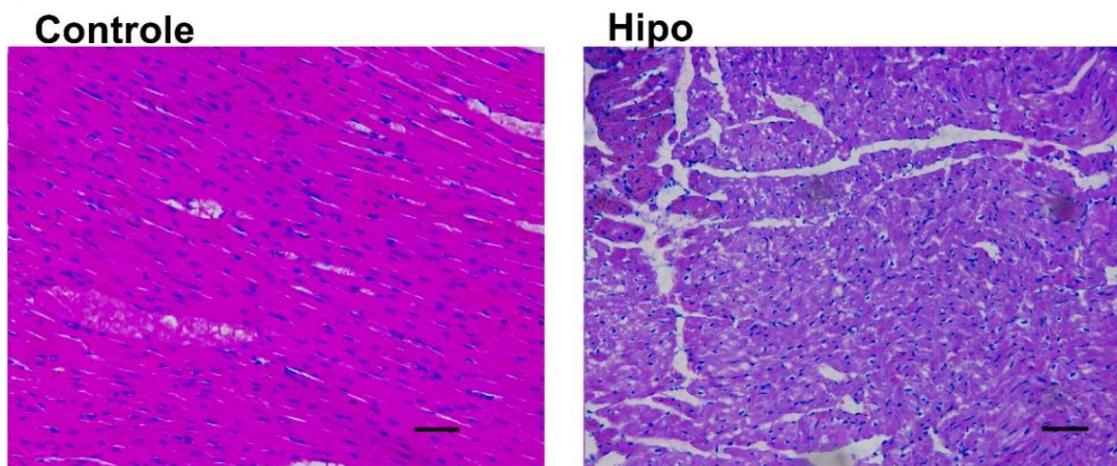


Fig. 16 - Alterações histológicas do miocárdio induzidas pelo hipotireoidismo em átrios. Imagens histológicas representativas coradas com hematoxilina-eosina (H&E) (barra de escala 78,13 μ m, objetiva 20x) do grupo controle (esquerda), exibindo fibras musculares cardíacas estriadas dispostas longitudinalmente e conectadas por núcleos vesiculares ovoides centrais, visíveis no endomísio fino entre as fibras. À direita, no grupo hipotireoide (Hipo), observa-se descontinuidade, degeneração, espaçamento alargado e vacuolização no miocárdio.

5.7 Expressão de conexina 43 no átrio de animais com hipotireoidismo

A análise da expressão da Cx43 nos átrios (Fig. 17) revelou uma redução significativa nos animais com hipotireoidismo (0,850 \pm 0,119 vs. 0,348 \pm 0,047 a.u.; $p < 0,0001$). A Cx43 é a principal proteína formadora de junções gap no tecido cardíaco, sendo essencial para a

condução elétrica e a sincronização da atividade contrátil. A diminuição da Cx43 nos animais hipotireoides sugere um potencial comprometimento da comunicação celular, o que pode estar associado a alterações na propagação do impulso elétrico e maior predisposição a distúrbios do ritmo cardíaco.

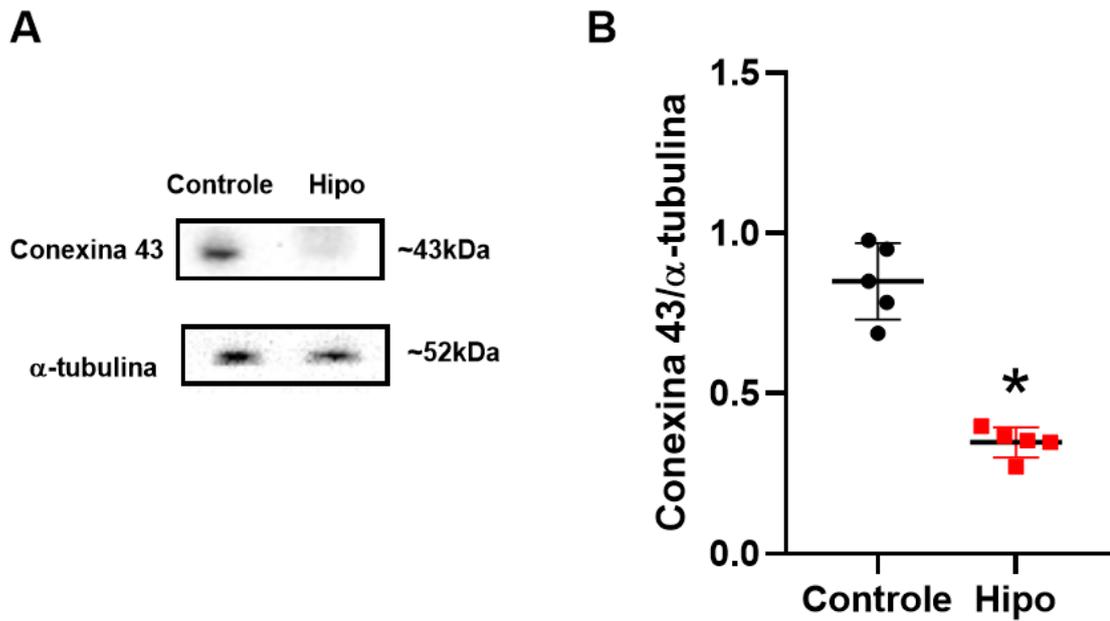


Fig. 17 - Hipotireoidismo reduz a expressão de Cx43 nos átrios. (A) Imagens representativas de *Western Blot* para Cx43 nos átrios dos grupos controle e hipotireoidismo; (B) Quantificação da expressão de Cx43 (densitometria) nos grupos analisados. Os dados são representados como médias \pm DP. n= 5 animais/grupo. Teste t de Student (não pareado).

6 DISCUSSÃO

Este estudo revelou que o hipotireoidismo experimental em ratos induz alterações eletrofisiológicas e morfológicas significativas nos átrios, com destaque à redução da expressão de Cx43. Essa alteração contribuiu para remodelamento estrutural do tecido atrial, lentificação da condução elétrica e maior predisposição a arritmias. Os dados do ECG evidenciaram bradicardia, prolongamento da onda P e do intervalo PR, refletindo atraso na despolarização atrial e na condução atrioventricular. O protocolo *burst pacing* confirmou a maior vulnerabilidade dos átrios hipotireoides às arritmias, sugerindo instabilidade elétrica e presença de substratos alterados.

A relevância dos HT para a eletrofisiologia cardíaca é amplamente reconhecida na literatura. Eles regulam a expressão de canais iônicos e proteínas estruturais, modulando a excitabilidade elétrica e a contratilidade cardíaca (Jonklaas *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2019). No hipotireoidismo, observa-se redução nas correntes de K^+ e Ca^{2+} ventriculares, aumentando a heterogeneidade da repolarização e a dispersão refratária, o que favorece a ocorrência de arritmias (Grais & Sowers, 2014). Estudos recentes indicam que o hipotireoidismo pode modular genes relacionados à homeostase de Ca^{2+} e sinalização celular, exacerbando alterações cardíacas (Yamakawa *et al.*, 2021).

No presente estudo, além da bradicardia, o prolongamento da onda P e do intervalo PR sugere lentificação da despolarização atrial e da condução atrioventricular. Essas alterações podem estar relacionadas ao prolongamento do PA e à redução das correntes repolarizantes, mecanismos associados ao aumento do período refratário cardíaco (Lillo *et al.*, 2023). Esses achados corroboram estudos clínicos que relatam maior incidência de bradicardia, prolongamento da onda P e intervalo PR em pacientes com hipotireoidismo manifesto e/ou subclínico, favorecendo a ocorrência de BAV em diferentes graus (Tayal *et al.*, 2019).

Além disso, o intervalo QT e a duração da onda T aumentados, no nosso estudo, refletem alterações na repolarização ventricular, possivelmente relacionadas à modulação inadequada dos canais de K^+ e Ca^{2+} (Grais & Sowers, 2014). Embora as alterações ventriculares observadas no ECG sejam secundárias no presente estudo, esses dados reforçam o impacto sistêmico do hipotireoidismo no coração, destacando a complexidade das interações entre os HT e a função cardíaca.

O protocolo *burst pacing*, utilizado neste estudo para induzir arritmias no átrio direito, revelou maior predisposição às arritmias atriais nos ratos hipotireoides, evidenciando instabilidade elétrica no tecido. O aumento da frequência e a duração dos episódios

arritmogênicos indicam alterações nos substratos eletrofisiológicos, como zonas de condução heterogênea e maior fibrose atrial (Souza *et al.*, 2022). Em modelo clínico, Vasipoulou *et al.* (2024) associaram o hipotireoidismo a um maior risco de mortalidade em pacientes com FA, reforçando a relevância dessas alterações. Zhang *et al.* (2013) demonstraram que a duração da FA induzida é prolongada em ratos hipotireoides, quando comparada com a FA induzida em ratos hipertireoides, sugerindo diferentes mecanismos subjacentes para o aumento da vulnerabilidade arritmogênica. A associação direta do hipotireoidismo com a FA ainda é debatida na literatura. Enquanto a relação dessas arritmias com o hipertireoidismo é amplamente reconhecida, devido aos efeitos dos altos níveis de HT no aumento da resistência vascular, da contratilidade cardíaca e da frequência cardíaca. Este estudo buscou ampliar a compreensão sobre os mecanismos que contribuem para essas alterações no hipotireoidismo.

A análise contrátil do átrio esquerdo isolado indicou prolongamento da duração sistólica nos ratos hipotireoides, sem alterações significativas na amplitude contrátil, sugerindo desacoplamento eletromecânico. Esses resultados levantaram duas hipóteses principais: o prolongamento da sístole pode estar relacionado ao manejo inadequado do cálcio intracelular ou a alterações estruturais no tecido (Barbosa *et al.*, 2020).

A análise do *overshoot* de Ca^{2+} induzido por cafeína e a resposta ao isoproterenol foram as estratégias experimentais utilizadas para avaliar a homeostase do Ca^{2+} intracelular neste estudo. É provável que o prolongamento da sístole pode estar mais relacionado a alterações estruturais no tecido do que à disfunção do manejo de Ca^{2+} , já que não foram observadas diferenças no *overshoot* de Ca^{2+} induzido por cafeína nem na resposta ao isoproterenol entre os grupos. Ou seja, os mecanismos clássicos de liberação e recaptura do Ca^{2+} pelo RS, bem como a resposta à estimulação contrátil beta-adrenérgica pelo isoproterenol, parecem estar preservados. Logo, a hipótese mais plausível para justificar a lentificação da sístole e a instabilidade elétrica observadas pode ser atribuída a alterações morfológicas, envolvendo a redução da expressão de proteínas relacionadas às junções comunicantes, o desacoplamento celular, o remodelamento estrutural do tecido atrial e a alteração do infiltrado inflamatório.

A investigação sobre a influência dos macrófagos residentes na instabilidade elétrica considerou sua expressão e distribuição no tecido atrial. Esses macrófagos, que compõem um infiltrado inflamatório em diversos tecidos, assumem funções específicas de acordo com o contexto tecidual. No coração, assume um papel de facilitador da condução elétrica através do nó AV (Hulsman *et al.*, 2017). Algumas condições clínicas reduzem a expressão dessas células, o que pode facilitar a ocorrência de arritmias (Monnerat *et al.*, 2016). No entanto, neste estudo,

não foram observadas diferenças entre os grupos, indicando que a instabilidade elétrica observada não está associada a redução do infiltrado inflamatório.

Vale ressaltar que Monnerat *et al.* (2016) sugerem que em condições específicas, como inflamações causadas pelo diabetes mellitus tipo I, os macrófagos residentes podem secretar interleucina 1 β (IL-1 β), aumentando o estresse oxidativo e favorecendo a instabilidade elétrica, com a consequente indução de arritmias ventriculares graves. Embora o fenótipo desses macrófagos não tenha sido analisado no presente estudo, seria interessante investigar se, de maneira similar ao diabetes, o hipotireoidismo também desencadeia um efeito inflamatório sobre essas células.

A análise morfológica evidenciou remodelamento estrutural do tecido atrial, com aumento do espaçamento da matriz extracelular, no grupo hipotireoide. Esses vacúolos observados podem sugerir a presença de áreas fibróticas, visto que geralmente são preenchidos por tecido conjuntivo. Essa condição contribui para a lentificação da condução elétrica, uma vez que a fibrose age como barreira à propagação do impulso elétrico (Sohns & Marrouche, 2020). A fibrose atrial é um mecanismo-chave no remodelamento estrutural, caracterizado pelo aumento da deposição de colágeno e pela desorganização do tecido cardíaco (Ma, Chen & Ma, 2021). Apesar dessa hipótese, nosso estudo não confirma a presença de áreas fibróticas, pois são necessárias técnicas de coloração adicionais para detecção de tecido conjuntivo, como a técnica tricrômica de Manson.

Por fim, observou-se uma expressão reduzida de Cx43 neste estudo, sugerindo um comprometimento nas junções comunicantes, o que dificulta a sincronização elétrica entre os cardiomiócitos e aumenta a vulnerabilidade para reentrada elétrica. O desacoplamento celular, caracterizado pela perda de conectividade funcional entre os cardiomiócitos, pode estar associado à redução na expressão ou funcionalidade das conexinas (Wang *et al.*, 2022).

A conexina desempenha um papel fundamental na propagação dos PA, garantindo a sincronização da atividade elétrica e, conseqüentemente, da contração miocárdica (Wang *et al.*, 2022). Por conta disso, a redução na expressão de Cx43 pode justificar a condução elétrica mais lenta e menos coordenada e a prologação da duração sistólica.

Os HT se ligam a TR e participam da transcrição gênica e síntese de proteínas no tecido cardíaco (Bianco *et al.*, 2002). A redução dos níveis de HT poderia comprometer a síntese de diversas proteínas estruturais, como as conexinas, prejudicando o acoplamento celular e favorecendo o surgimento de áreas fibróticas. Embora a redução da expressão de Cx43 seja observada em nosso modelo de hipotireoidismo, estudos prévios relatam achados controversos. Bacova *et al.* (2023) e Sykora *et al.* (2019) relataram diminuição de Cx43 em ratos com

hipertireoidismo e aumento em ratos com hipotireoidismo. Enquanto Zhang *et al.* (2013) não observaram alterações na expressão da Cx43 nem em condição de hipotireoidismo, nem em hipertireoidismo. Essa contradição na literatura sugere que mecanismos distintos podem modular a expressão de conexinas em condições tireoidianas diferentes.

Ainda no estudo de Zhang *et al.* (2013), foi observado que o aumento do colágeno intersticial é mais pronunciado em modelos experimentais com animais hipotireoides, em comparação com os hipertireoides, o que caracteriza as particularidades das arritmias atriais induzidas pelo hipotireoidismo, incluindo a condução mais lenta e heterogênea.

O desacoplamento celular associado à redução da expressão de Cx43 e a lentificação da condução elétrica criam um substrato altamente vulnerável para o desenvolvimento de FA. A presença de múltiplos focos de reentrada elétrica favorece a manutenção de circuitos de excitação aberrantes, o que, por sua vez, potencializa a incidência dessas arritmias nos animais, tornando o átrio mais suscetível a episódios sustentados de FA (Ma, Chen & Ma, 2021). Além disso, a lentificação da contração observada pode ser consequência da desorganização estrutural do tecido, afetando a transmissão de forças entre as células e comprometendo a função adequada da contração atrial (Bai *et al.*, 2024).

Assim, observa-se que os achados deste estudo são consistentes com relatos prévios que indicam que o hipotireoidismo pode aumentar a suscetibilidade à FA, apesar de sua relação clínica ainda ser menos reconhecida em comparação ao hipertireoidismo. Embora a análise detalhada da fibrose e da co-localização das conexinas ainda esteja em progresso, os resultados sugerem que essas alterações na expressão de Cx43 desempenham um papel crucial no desenvolvimento das disfunções observadas.

Este estudo reforça ainda a relevância do hipotireoidismo como um fator de risco cardiovascular significativo, destacando o papel da remodelação estrutural e do desacoplamento celular, mediado pela redução de Cx43. Esses achados ampliam a compreensão sobre a integração dos mecanismos eletrofisiológicos, morfológicos e mecânicos envolvidos, indicando a necessidade de monitoramento rigoroso da função cardíaca em pacientes com disfunções tireoidianas, com atenção especial ao risco aumentado de FA, especialmente naqueles com sinais de bradicardia ou predisposição a arritmias.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam que o hipotireoidismo afeta significativamente a estabilidade elétrica e a função dromotrópica do tecido atrial, aumentando a suscetibilidade a arritmias, particularmente a FA. Entre as alterações observadas, destacam-se o remodelamento estrutural acompanhado de desacoplamento celular e uma redução da expressão da Cx43, principal proteína envolvida na condução elétrica entre os cardiomiócitos. Essa alteração na expressão de Cx43 indica um enfraquecimento das junções-gap, desorganizando a propagação do impulso elétrico, comprovado pela lentificação da frequência cardíaca e prolongamento da onda P e do intervalo PR, além de uma maior duração sistólica. Esses achados reforçam que a interação entre mecanismos elétricos e estruturais desempenha um papel central na predisposição às arritmias. Dessa forma, destaca-se a necessidade de intervenções precoces para prevenir complicações cardiovasculares em pacientes com hipotireoidismo.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Explorar de forma mais aprofundada as alterações eletrofisiológicas e estruturais dos átrios, considerando a distribuição espacial das junções-gap e a detecção de tecido conjuntivo nas regiões de vacúolos. Além disso, investigar a dinâmica dos PA celulares atriais e, se necessário, medir a contribuição de diferentes correntes iônicas para a suscetibilidade às arritmias. Também é relevante examinar se houve ativação inflamatória dos macrófagos residentes, contribuindo assim para as disfunções elétricas observadas.

REFERÊNCIAS

- Aires, M. de M. (2018). *Fisiologia* (5ª ed.). Guanabara Koogan.
- Andalaft, Rogerio Braga. 2022. “The Electrocardiogram in the Pediatric Population in the 21st Century. How to Keep Evolving after 135 Years of the Method Discovery History”. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia* 119 (5): 791–92.
<https://doi.org/10.36660/abc.20220715>.
- Armstrong, M., Asuka, E., & Fingeret, A. (2023). *Physiology, Thyroid Function*. StatPearls. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing. Disponível em
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537039/>
- Babić Leko, M., Gunjača, I., Pleić, N., & Zemunik, T. (2021). Environmental factors affecting thyroid-stimulating hormone and thyroid hormone levels. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6521.
<https://doi.org/10.3390/ijms22126521>
- Bacova, B. S., Anđelova, K., Sykora, M., Benova T, E., Kurahara, L. H., Slezak, J., & Tribulova, N. (2023). Distinct cardiac connexin-43 expression in hypertrophied and atrophied myocardium may impact the vulnerability of the heart to malignant arrhythmias: A pilot study. *Physiological Research*, 72(S1), S37-S45.
<https://doi.org/10.33549/physiolres.935025>
- Bai, Y., Li, R., Hao, J.-F., Chen, L.-W., Liu, S.-T., Zhang, X.-L., Lip, G. Y. H., Yang, J.-K., Zou, Y.-X., & Wang, H. (2024). Accumulated β -catenin is associated with human atrial fibrosis and atrial fibrillation. *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 734.
<https://doi.org/10.1186/s12967-024-05558-0>
- Barbosa, Andrezza M., José F. Sarmiento-Neto, José E. R. Menezes Filho, Itamar C. G. Jesus, Diego S. Souza, Valério M. N. Vasconcelos, Fagner D. L. Gomes, et al. 2020. “Redox-Active Drug, MnTE-2-PyP5+, Prevents and Treats Cardiac Arrhythmias Preserving Heart Contractile Function”. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020 (1): 4850697.
<https://doi.org/10.1155/2020/4850697>.
- Barrett, Barman, Boitano, Brooks (2014). *Fisiologia Médica de Ganong* (24ª ed.). Porto Alegre: AMGH editora.
- Baumgartner, H., Falk, V., Bax, J. J., De Bonis, M., Hamm, C., Holm, P. J., Iung, B., Lancellotti, P., Lansac, E., Rodriguez Muñoz, D., Rosenhek, R., Sjögren, J., Tornos Mas, P., Vahanian, A., Walther, T., Wendler, O., Windecker, S., & Zamorano, J. L. (2017). 2017 ESC/EACTS guidelines for the management of valvular heart disease. *European Heart Journal*, 38(36), 2739-2791.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx391>
- Bianco, A. C. (2024). Emerging therapies in hypothyroidism. *Annual Review of Medicine*, 75, 307-319.
<https://doi.org/10.1146/annurev-med-060622-101007>
- Bianco, A. C., Salvatore, D., Gereben, B., Berry, M. J., & Larsen, P. R. (2002). Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine Reviews*, 23(1), 38-89.
<https://doi.org/10.1210/edrv.23.1.0455>
- Blackwell, D. J., Schmeckpeper, J., & Knollmann, B. C. (2022). Animal models to study cardiac arrhythmias. *Circulation Research*, 130(12), 1847-1865.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.122.320258>
- Brasil. *Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia em Animais*. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013.
- Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (2015). *Fisiologia médica* (2ª ed.). Elsevier Editora Ltda.

song

- Cintra, F. D., & Figueiredo, M. J. O. (2021). Fibrilação atrial (Parte 1): Fisiopatologia, fatores de risco e bases terapêuticas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 116(1), 129–139. <https://doi.org/10.36660/abc.20200485>
- Chiovato, L., Magri, F., & Carlé, A. (2019). Hypothyroidism in context: Where we've been and where we're going. *Advances in Therapy*, 36(Suppl 2), 47-58. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01080-8>
- Curtis MJ, Walker MJ. Quantification of Arrhythmias Using Scoring Systems: an Examination of Seven Scores in an In Vivo Model of Regional Myocardial Ischaemia. *Cardiovasc Res*. 1988;22(9):656-65. <https://doi.org/10.1093/cvr/22.9.656>
- Dai, G., Levy, O., & Carrasco, N. (1996). Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature*, 379(6564), 458-460. <https://doi.org/10.1038/379458a0>
- Decrock, E., M. Vinken, E. De Vuyst, D. V. Krysko, K. D'Herde, T. Vanhaecke, P. Vandenabeele, V. Rogiers, e L. Leybaert. 2009. "Connexin-Related Signaling in Cell Death: To Live or Let Die?" *Cell Death & Differentiation* 16 (4): 524–36. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.196>.
- Deo, R., & Albert, C. M. (2012). Epidemiology and genetics of sudden cardiac death. *Circulation*, 125(5), 620-637. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.023838>
- Desai, D. S., & Hajouli, S. (2023). Arrhythmias. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558923/>
- Elnakish, M. T., Ahmed, A. A. E., Mohler, P. J., & Janssen, P. M. L. (2015). Role of oxidative stress in thyroid hormone-induced cardiomyocyte hypertrophy and associated cardiac dysfunction: An undisclosed story. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 854265. <https://doi.org/10.1155/2015/854265>
- Feldt-Rasmussen, U., Efraimidis, G., Bliddal, S., & Klose, M. (2024). Consequências do subtratamento do hipotireoidismo. *Endocrine*, 84(2), 301-308. <https://doi.org/10.1007/s12020-023-03460-1>
- Feng, X., Jiang, Y., Meltzer, P., & Yen, P. M. (2000). Thyroid hormone regulation of hepatic genes in vivo detected by complementary DNA microarray. *Molecular Endocrinology*, 14(6), 947-955. <https://doi.org/10.1210/mend.14.7.0470>
- Fernandez-Ruocco, J., Gallego, M., Rodriguez-de-Yurre, A., Zayas-Arrabal, J., Echeazarra, L., Alquiza, A., Fernández-López, V., Rodríguez-Robledo, J. M., Brito, O., Schleier, Y., Sepulveda, M., Oshiyama, N. F., Vila-Petroff, M., Bassani, R. A., Medei, E. H., & Casis, O. (2019). High thyrotropin is critical for cardiac electrical remodeling and arrhythmia vulnerability in hypothyroidism. *Thyroid*, 29(7), 934–945. <https://doi.org/10.1089/thy.2018.0709>
- Filgueiras-Rama, David, Alba Ramos-Prada, e Matthijs J. M. Cluitmans. 2023. "Arrhythmogenic Vulnerability of Reentrant Pathways in Post-Infarct Ventricular Tachycardia Assessed by Advanced Computational Modelling". *Europace: European Pacing, Arrhythmias, and Cardiac Electrophysiology: Journal of the Working Groups on Cardiac Pacing, Arrhythmias, and Cardiac Cellular Electrophysiology of the European Society of Cardiology* 25 (9): euad258. <https://doi.org/10.1093/europace/euad258>.
- Fishman, G. I., Chugh, S. S., DiMarco, J. P., Albert, C. M., Anderson, M. E., Bonow, R. O., Buxton, A. E., Chen, P.-S., Estes, M., Jouven, X., Kwong, R., Lathrop, D. A.,

- Mascette, A. M., Nerbonne, J. M., O'Rourke, B., Page, R. L., Roden, D. M., Rosenbaum, D. S., Sotoodehnia, N., Trayanova, N. A., & Zheng, Z.-J. (2010). Sudden cardiac death prediction and prevention: Report from a National Heart, Lung, and Blood Institute and Heart Rhythm Society Workshop. *Circulation*, 122(22), 2335-2348.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.976092>
- Garcia, E. A. C. (2015). *Biofísica* (2^a ed.). Sarvier.
- GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. (2020). Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, 396(10258), 1204-1222.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30925-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9)
- Ghebleh Zadeh, Nahid, Gholamhassan Vaezi, Azam Bakhtiarian, Zahra Mousavi, Abdolhossein Shiravi, e Vahid Nikoui. 2019. “The Potassium Channel Blocker, Dalfampridine Diminishes Ouabain-Induced Arrhythmia in Isolated Rat Atria”. *Archives of Physiology and Biochemistry* 125 (1): 25–29.
<https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1430158>.
- Grais, I. M., & Sowers, J. R. (2014). Thyroid and the heart. *American Journal of Medicine*, 127(8), 691-698.
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2014.03.009>
- Hernandez-Padilla, Jose Manuel. "Arritmias cardíacas." *SOPORTE VITAL BÁSICO Y AVANZADO*, editado por Verónica V. Márquez-Hernández, Laura Helena Antequera Raynal, Lorena Gutiérrez Puertas, e Jose Manuel Hernandez-Padilla, 93-100. Almería: Universidad de Almería, 2016.
- Homsanit, M., S. Sriussadaporn, S. Vannasaeng, T. Peerapatdit, W. Nitiyanant, e A. Vichayanrat. 2001. “Efficacy of Single Daily Dosage of Methimazole vs. Propylthiouracil in the Induction of Euthyroidism”. *Clinical Endocrinology* 54 (3): 385–90. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2001.01239.x>.
- Huang. 2024. “(PDF) Cardiac voltage-gated ion channels in safety pharmacology: Review of the landscape leading to the CiPA initiative”. *ResearchGate*, outubro.
<https://doi.org/10.1016/j.vascn.2017.04.002>.
- Hulsmans, M., Clauss, S., Xiao, L., Aguirre, A. D., King, K. R., Hanley, A., Hucker, W. J., Wülfers, E. M., Seemann, G., Courties, G., Iwamoto, Y., Sun, Y., Savol, A. J., Sager, H. B., Lavine, K. J., Fishbein, G. A., Capen, D. E., Da Silva, N., Miquerol, L., Wakimoto, H., Seidman, C. E., Seidman, J. G., Sadreyev, R. I., Naxerova, K., Mitchell, R. N., Brown, D., Libby, P., Weissleder, R., Swirski, F. K., Kohl, P., Vinegoni, C., Milan, D. J., Ellinor, P. T., & Nahrendorf, M. (2017). Macrophages facilitate electrical conduction in the heart. *Cell*, 169(3), 510-522.e20.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.03.050>
- Joglar, J. A., Chung, M. K., Armbruster, A. L., Benjamin, E. J., Chyou, J. Y., Cronin, E. M., Deswal, A., ... & Van Wagoner, D. R. (2023). 2023 ACC/AHA/ACCP/HRS guideline for the diagnosis and management of atrial fibrillation: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association joint committee on clinical practice guidelines. *Circulation*, 149(1), e1-e62.
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001193>
- Jonklaas, J., Bianco, A. C., Bauer, A. J., Burman, K. D., Cappola, A. R., Celi, F. S., Cooper, D. S., Kim, B. W., Peeters, R. P., Rosenthal, M. S., & Sawka, A. M. (2014). Guidelines for the treatment of hypothyroidism: Prepared by the American Thyroid Association Task Force on Thyroid Hormone Replacement. *Thyroid*, 24(12), 1670-1751.
<https://doi.org/10.1089/thy.2014.0028>

- Jonklaas, J., Bianco, A. C., Cappola, A. R., Celi, F. S., Fliers, E., Heuer, H., McAninch, E. A., Moeller, L. C., Nygaard, B., Sawka, A. M., Watt, T., & Dayan, C. M. (2021). Evidence-based use of levothyroxine/liothyronine combinations in treating hypothyroidism: A consensus document. *Thyroid*, 31(2), 156–182.
<https://doi.org/10.1089/thy.2020.0720>
- Kotadia, I. D., Williams, S. E., & O'Neill, M. (2020). Supraventricular tachycardia: An overview of diagnosis and management. *Clinical Medicine (London)*, 20(1), 43–47.
<https://doi.org/10.7861/clinmed.cme.20.1.3>
- Li, J., Liu, Z., Zhao, H., Yun, F., Liang, Z., Wang, D., Zhao, X., Zhang, J., Cang, H., Zou, Y., & Li, Y. (2019). Alterations in atrial ion channels and tissue structure promote atrial fibrillation in hypothyroid rats. *Endocrine*, 65(2), 338–347.
<https://doi.org/10.1007/s12020-019-01968-z>
- Lillo, M. A., Muñoz, M., Rhana, P., Gaul-Muller, K., Quan, J., Shirokova, N., Xie, L.-H., Santana, L. F., Fraidenraich, D., & Contreras, J. E. (2023). Remodeled connexin 43 hemichannels alter cardiac excitability and promote arrhythmias. *Journal of General Physiology*, 155(7), e202213150.
<https://doi.org/10.1085/jgp.202213150>
- Lindholm, J., & Laurberg, P. (2011). Hypothyroidism and thyroid substitution: Historical aspects. *Journal of Thyroid Research*, 2011, 809341.
<https://doi.org/10.4061/2011/809341>
- Liu, S., Lan, Y., Zhao, Y., Zhang, Q., Lin, T., Lin, K., Guo, J., & Yan, Y. (2022). Expression of connexin 43 protein in cardiomyocytes of heart failure mouse model. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9, 1028558.
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1028558>
- Lopes, Renato D., Pedro G. M. de Barros e Silva, Conrado Roberto Hoffmann Filho, Margaret Assad Cavalcante, Claudia Madeira Miranda, Rodrigo Barbosa Esper, Gustavo Glotz de Lima, et al. 2023. “The First Brazilian Cardiovascular Registry of Atrial Fibrillation: Primary Results of the RECALL Study”. *American Heart Journal* 264 (outubro):97–105.
<https://doi.org/10.1016/j.ahj.2023.06.007>
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Ma, J., Chen, Q., & Ma, S. (2021). Left atrial fibrosis in atrial fibrillation: Mechanisms, clinical evaluation and management. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 25(6), 2764–2775. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16350>
- Mancini, A., Di Segni, C., Raimondo, S., Olivieri, G., Silvestrini, A., Meucci, E., & Currò, D. (2016). Thyroid hormones, oxidative stress, and inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2016, 6757154.
<https://doi.org/10.1155/2016/6757154>
- Marrakchi, S., Kanoun, F., Idriss, S., Kammoun, I., & Kachboura, S. (2015). Arrhythmia and thyroid dysfunction. *Herz*, 40(Suppl 2), 101–109.
<https://doi.org/10.1007/s00059-014-4123-0>
- Mendoza, A., & Hollenberg, A. N. (2017). New insights into thyroid hormone action. *Pharmacological Therapy*, 173, 135–145.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.012>
- Monnerat, G., Alarcón, M. L., Vasconcellos, L. R., Hochman-Mendez, C., Brasil, G., Bassani, R. A., Casis, O., Malan, D., Travassos, L. H., Sepúlveda, M., Burgos, J. I., Vila-Petroff, M., Dutra, F. F., Bozza, M. T., Paiva, C. N., Carvalho, A. B., Bonomo, A., Fleischmann, B. K., Campos de Carvalho, A. C., & Medei, E. (2016). Macrophage-

- dependent IL-1 β production induces cardiac arrhythmias in diabetic mice. *Nature Communications*, 7, 13344.
<https://doi.org/10.1038/ncomms13344>
- Montalvo, D., Pérez-Treviño, P., Madrazo-Aguirre, K., González-Mondellini, F. A., Miranda-Roblero, H. O., Ramonfau-Gracia, D., Jacobo-Antonio, M., Mayorga-Luna, M., Gómez-Viquez, N. L., García, N., & Altamirano, J. (2018). Underlying mechanism of the contractile dysfunction in atrophied ventricular myocytes from a murine model of hypothyroidism. *Cell Calcium*, 72, 26-38.
<https://doi.org/10.1016/j.ceca.2018.01.005>
- Morin, D. P., Bernard, M. L., Madias, C., Rogers, P. A., Thihalolipavan, S., & Estes, N. A. M. (2016). The state of the art: Atrial fibrillation epidemiology, prevention, and treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, 91(12), 1778-1810.
<https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.08.022>
- Pan, Y., Gao, J., Gu, R., Song, W., Li, H., Wang, J., Gu, Y., Chen, H., & Zhang, H. (2022). Effect of injection of different doses of isoproterenol on the hearts of mice. *BMC Cardiovascular Disorders*, 22(1), 409.
<https://doi.org/10.1186/s12872-022-02852-x>
- Paschou, S. A., Bletsas, E., Stampoulouglou, P. K., Tsigkou, V., Valatsou, A., Stefanaki, K., Kazakou, P., Spartalis, M., Spartalis, E., Oikonomou, E., & Siasos, G. (2022). Thyroid disorders and cardiovascular manifestations: An update. *Endocrine*, 75(3), 672–683.
<https://doi.org/10.1007/s12020-022-02982-4>
- Peterson, S. J., McAninch, E. A., & Bianco, A. C. (2016). Is a normal TSH synonymous with "euthyroidism" in levothyroxine monotherapy? *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(12), 4964–4973.
<https://doi.org/10.1210/jc.2016-2660>
- Pinto, A. R., Paolicelli, R., Salimova, E., Gospocic, J., Slonimsky, E., Bilbao-Cortes, D., Godwin, J. W., & Rosenthal, N. A. (2012). An abundant tissue macrophage population in the adult murine heart with a distinct alternatively-activated macrophage profile. *PLoS ONE*, 7(5), e36814.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036814>
- Rahm, A.-K., Lugenbiel, P., Schweizer, P. A., Katus, H. A., & Thomas, D. (2018). Role of ion channels in heart failure and channelopathies. *Biophysical Reviews*, 10(4), 1097–1106.
<https://doi.org/10.1007/s12551-018-0442-3>
- Ross, D. S. (2021). Treating hypothyroidism is not always easy: When to treat subclinical hypothyroidism, TSH goals in the elderly, and alternatives to levothyroxine monotherapy. *Journal of Internal Medicine*, 291(2), 128-140.
<https://doi.org/10.1111/joim.13410>
- Saglietto, A., De Ponti, R., Di Biase, L., Matta, M., Gaita, F., Romero, J., De Ferrari, G. M., & Anselmino, M. (2020). Impact of atrial fibrillation catheter ablation on mortality, stroke, and heart failure hospitalizations: A meta-analysis. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 31(5), 1040-1047.
<https://doi.org/10.1111/jce.14429>
- Samesima, Nelson, Epotamenides Good God, Jose Claudio Lupi Kruse, Marcelo Garcia Leal, Claudio Pinho, Francisco Faustino de A. C. França, João Pimenta, et al. 2022. "Brazilian Society of Cardiology Guidelines on the Analysis and Issuance of Electrocardiographic Reports – 2022". *Arq. Bras. Cardiol.* 119 (4): 638–80.
<https://doi.org/10.36660/abc.20220623>
- Santos, K. R. P. *et al.* Manual de Técnica Histológica de Rotina e Colorações. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, p. 01, 2021.

- Skibsbye, Lasse, Anne K. Bengaard, A. M. Uldum-Nielsen, Kim Boddum, Torsten Christ, e Thomas Jespersen. 2018. "Inhibition of Small Conductance Calcium-Activated Potassium (SK) Channels Prevents Arrhythmias in Rat Atria During β -Adrenergic and Muscarinic Receptor Activation". *Frontiers in Physiology* 9 (junho):510. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00510>.
- Sohns, C., & Marrouche, N. F. (2020). Atrial fibrillation and cardiac fibrosis. *European Heart Journal*, 41(10), 1123–1131. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz786>
- Song, Z., Ko, C. Y., Nivala, M., Weiss, J. N., & Qu, Z. (2015). Calcium-voltage coupling in the genesis of early and delayed afterdepolarizations in cardiac myocytes. *Biophysical Journal*, 108(8), 1908–1921. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.03.011>
- Souza, D. S., Marques, L. P., Costa, A. D., Cruz, J. S., Rhana, P., Santos-Miranda, A., Joviano-Santos, J. V., Durço, A. O., Vasconcelos, C. M. L., & Roman-Campos, D. (2022). Experimental hypothyroidism induces cardiac arrhythmias and ranolazine reverts and prevents the phenotype. *Life Sciences*, 308, 120945. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120945>
- Sugita, Junichi, e Katsuhito Fujiu. 2019. "Emerging Function of Cardiac Macrophages Ushers in a New Era for the Electrophysiology of the Heart". *Circulation Reports* 1 (12): 558–63. <https://doi.org/10.1253/circrep.CR-19-0103>.
- Sykora, M., Bacova, B. S., Benova, T. E., Barancik, M., Zurmanova, J., Rauchova, H., Weismann, P., Pavelka, S., Kurahara, L. H., Slezak, J., Soukup, T., & Tribulova, N. (2019). Cardiac Cx43 and ECM responses to altered thyroid status are blunted in spontaneously hypertensive versus normotensive rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3758. <https://doi.org/10.3390/ijms20153758>
- Takawale, A., Aguilar, M., Bouchrit, Y., & Hiram, R. (2022). Mechanisms and management of thyroid disease and atrial fibrillation: Impact of atrial electrical remodeling and cardiac fibrosis. *Cells*, 11(24), 4047. <https://doi.org/10.3390/cells11244047>
- Tan, Shuang, Long Chen, Likun Jin, e Xiaomin Fu. 2021. "The efficiency and safety of methimazole and propylthiouracil in hyperthyroidism". *Medicine* 100 (30): e26707. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000026707>.
- Tayal, B., Graff, C., Selmer, C., Kragholm, K. H., Kihlstrom, M., Nielsen, J. B., Olsen, A.-M. S., Pietersen, A. H., Holst, A. G., Søgaard, P., Christiansen, C. B., Faber, J., Gislason, G. H., Torp-Pedersen, C., & Hansen, S. M. (2019). Thyroid dysfunction and electrocardiographic changes in subjects without arrhythmias: A cross-sectional study of primary healthcare subjects from Copenhagen. *BMJ Open*, 9(6), e023854. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-023854>
- Taylor, R., Al-Mrabeh, A., Zhyzhneuskaya, S., Peters, C., Barnes, A. C., Aribisala, B. S., Hollingsworth, K. G., Mathers, J. C., Sattar, N., & Lean, M. E. J. (2018). Remission of human type 2 diabetes requires decrease in liver and pancreas fat content but is dependent upon capacity for β cell recovery. *Cell Metabolism*, 28(4), 547-556.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.07.003>
- Thayakaran, R., Adderley, N. J., Sainsbury, C., Torlinska, B., Boelaert, K., Šumilo, D., Malcolm, P., Thomas, G. N., Toulis, K. A., & Nirantharakumar, K. (2019). Thyroid replacement therapy, thyroid-stimulating hormone concentrations, and long-term health outcomes in patients with hypothyroidism: A longitudinal study. *BMJ*, 366,

14892.
<https://doi.org/10.1136/bmj.14892>
- Tisdale, J. E., Chung, M. K., Campbell, K. B., Hammadah, M., Joglar, J. A., Leclerc, J., & Rajagopalan, B. (2020). Drug-induced arrhythmias: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 142(15), e218-e236.
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000905>
- Trafford, A. W., G. C. Sibbring, M. E. Díaz, e D. A. Eisner. 2000. “The Effects of Low Concentrations of Caffeine on Spontaneous Ca Release in Isolated Rat Ventricular Myocytes”. *Cell Calcium* 28 (4): 269–76.
<https://doi.org/10.1054/ceca.2000.0156>.
- Udovicic, M., Herrera Pena, R., Patham, B., Tabatabai, L., & Kansara, A. (2017). Hypothyroidism and the heart. *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal*, 13(2), 55-59.
<https://doi.org/10.14797/mdcj-13-2-55>
- Van-Uytfanghe, K., Ehrenkranz, J., Halsall, D., Hoff, K., Loh, T. P., Spencer, C. A., & Köhrle, J. (2023). Thyroid stimulating hormone and thyroid hormones (triiodothyronine and thyroxine): An American Thyroid Association-commissioned review of current clinical and laboratory status. *Thyroid*, 33(9), 1013-1028.
<https://doi.org/10.1089/thy.2023.0169>
- Varró, A., Tomek, J., Nagy, N., Virág, L., Passini, E., Rodriguez, B., & Baczkó, I. (2020). Cardiac transmembrane ion channels and action potentials: Cellular physiology and arrhythmogenic behavior. *Physiological Reviews*, 101(3), 1083-1176.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2019>
- Vasilopoulou, A., Patsiou, V., Bekiaridou, A., Papazoglou, A. S., Moysidis, D. V., Spaho, M., Zergioti, M., Kostakakis, D., Kyriakideli, M.-E., Lampropoulou, C.-I., Kartas, A., Samaras, A., Baroutidou, A., Tzikas, A., Ziakas, A., & Giannakoulas, G. (2024). Prognostic implications of thyroid disease in patients with atrial fibrillation. *Heart Vessels*, 39, 185–193.
<https://doi.org/10.1007/s00380-023-02341-x>
- Walsh, J. P., Ward, L. C., Burke, V., Bhagat, C. I., Shiels, L., Henley, D., *et al.* (2006). Small changes in thyroxine dosage do not produce measurable changes in hypothyroid symptoms, well-being, or quality of life: Results of a double-blind, randomized clinical trial. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(7), 2624–2630.
<https://doi.org/10.1210/jc.2006-0099>
- Wang, B., Gan, L., Deng, Y., Zhu, S., Li, G., Ide Nasser, M., Liu, N., & Zhu, P. (2022). Cardiovascular disease and exercise: From molecular mechanisms to clinical applications. *Journal of Clinical Medicine*, 11(24), 7511.
<https://doi.org/10.3390/jcm11247511>
- Weidmann, S. (1956). *Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser*. Hans Huber.
- Wilson, S. A., Stem, L. A., & Bruehlman, R. D. (2021). Hypothyroidism: Diagnosis and treatment. *American Family Physician*, 103(10), 605-613.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2019>
- Yamakawa, H., Kato, T. S., Yoshimura Noh, J., Yuasa, S., Kawamura, A., Fukuda, K., & Aizawa, Y. (2021). Thyroid hormone plays an important role in cardiac function: From bench to bedside. *Frontiers in Physiology*, 12, 606931.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2021.606931>
- Yu, L., Li, Z., Yang, R., Pan, G., Cheng, Q., He, Y., Liu, Y., Liu, F., Ma, M., Yang, T., Wang, Y., Su, J., Zheng, Y., Gao, S., Xu, Q., Li, L., & Yu, C. (2022). Impaired sensitivity to thyroid hormones is associated with elevated blood glucose in coronary heart disease.

Frontiers in Endocrinology (Lausanne), 13, 895843.

<https://doi.org/10.3389/fendo.2022.895843>

- Zhang, Y., Dedkov, E. I., Teplitsky, D., Weltman, N. Y., Pol, C. J., Rajagopalan, V., Lee, B., & Gerdes, A. M. (2013). Both hypothyroidism and hyperthyroidism increase atrial fibrillation inducibility in rats. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, 6(5), 952-959. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.113.000502>
- Zhang, Y., Qiu, C., Davis, P. J., Jhaveri, M., Prystowsky, E. N., Kowey, P., & Weintraub, W. S. (2013). Predictors of progression of recently diagnosed atrial fibrillation in REgistry on Cardiac Rhythm DisORDers Assessing the Control of Atrial Fibrillation (RecordAF)-United States cohort. *American Journal of Cardiology*, 112(1), 79-84. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2013.02.056>

APÊNDICE A - MATERIAL PARA DIVULGAÇÃO NA FORMA DE INFOGRÁFICO PARA PUBLICAÇÃO DO TIPO CARROSSEL, VOLTADO PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA NAS MÍDIAS SOCIAIS DO PROCFIS



PROCFIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Título do trabalho:

SE LIGA NA PESQUISA

REDUÇÃO DA CONEXINA 43 E AUMENTO DA SUSCETIBILIDADE A ARRITMIAS ATRIAIS EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO EXPERIMENTAL

Discente: Emanuel Barbosa dos Santos
Orientador: Prof. Dr. Diego Santos de Souza
Laboratório de Biofísica do Coração – LBC

<http://www.ufs.br/procfis>

INTRODUÇÃO



O **hipotireoidismo** é o 2º distúrbio endócrino mais prevalente no mundo

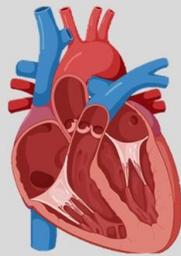
Ocorre quando há diminuição da produção dos hormônios da tireoide (**T3 e T4**)

Esses hormônios participam de processos fisiológicos em diversos órgãos do corpo

<http://www.ufs.br/procfis>

INTRODUÇÃO

VOCÊ SABIA QUE O HIPOTIREOIDISMO PODE AFETAR O CORAÇÃO?



Bradicardia

Contratibilidade cardíaca prejudicada

Maior suscetibilidade a arritmias

<http://www.ufs.br/procfis>

OBJETIVO

Investigar alterações eletrofisiológicas e morfológicas em átrios direito e esquerdo de ratos com hipotireoidismo experimental.

MÉTODOS

Comparando animais saudáveis e animais com hipotireoidismo, foi realizado:

- ✓ **Eletrocardiograma**
- ✓ **Análise contrátil atrial**
- ✓ **Análise de suscetibilidade a arritmias**
- ✓ **Exame histológico**
- ✓ **Análise de expressão da conexina 43**



<http://www.ufs.br/procfis>

RESULTADOS

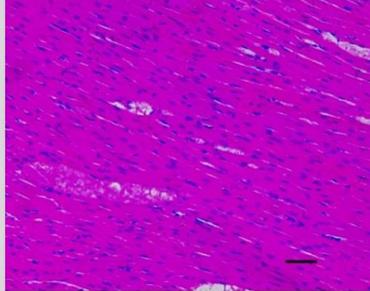
Nosso estudo mostrou que o **hipotireoidismo** causa:

- 1  Mais chances de arritmias atriais
- 2  Alteração na estrutura do tecido cardíaco
- 3  Redução da proteína conexina 43

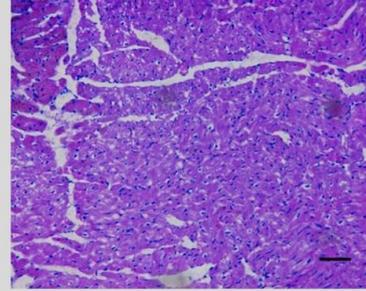
<http://www.ufs.br/procfis>

RESULTADOS

Controle



Hipo



O tecido atrial dos animais com hipotireoidismo (à direita) apresentou **descontinuidade, degeneração, espaçamento alargado e vacuolização**. Provavelmente, devido a **redução da expressão das conexinas 43**, proteínas responsáveis pelo acoplamento e comunicação celular no coração. Essas alterações estruturais afetam significativamente a estabilidade elétrica, aumentando a suscetibilidade a arritmias.

<http://www.ufs.br/procfis>



PROCFIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

CONCLUSÃO

Esses achados sugerem que a interação entre os mecanismos elétricos e estruturais desempenha um papel central na predisposição às arritmias. Destacamos a necessidade de intervenções precoces para prevenir complicações cardiovasculares em pacientes com hipotireoidismo.

<http://www.ufs.br/procfis>

ANEXO A - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO CEPA



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação eletrofisiológica e morfológica dos átrios direito e esquerdo em um modelo de hipotireoidismo em ratos**" registrada no sistema CEUA com o nº **8074180424**, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Diego Santos de Souza** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe em reunião realizada no dia **03/07/2024**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 09/2024 Término: 09/2026
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogênicos
Nº de animais	70
Peso/Idade	150 a 250 g / 6 a 9 semanas
Sexo	Machos
Origem	Laboratório de Biofísica do Coração

Documento assinado digitalmente
 **JOSEMAR SENA BATISTA**
 Data: 05/07/2024 17:38:07-0300
 Verifique em <https://validar.ig.gov.br>

Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA
 Coordenador do CEPA/UFS

Cidade Universitária "Prof. Aloísio de Campos"
 Jardim Rosa Elze - São Cristóvão - SE
 49100-000
 Fones: 3212 6661/6606