

# CARDIOMIOPATIA DIABÉTICA: DO LEITO À BANCADA, UMA PERSPECTIVA FUTURA DE CURA

Simone Garcia Macambira\*  
Pâmela Santana Daltro\*\*  
Milena Botelho Pereira Soares\*\*\*  
Alice Costa Kiperstok\*\*\*\*

O Diabetes Mellitus (DM), tipo 2, acomete cerca de 90% dos pacientes com diabetes, resultando da combinação de resistência à insulina e deficiência relativa na sua produção. O ônus sócio-econômico da doença está principalmente associado aos comprometimentos debilitantes conseqüentes do diabetes, em especial às doenças cardiovasculares. A doença cardiovascular é responsável por até 80% das mortes em indivíduos com DM2. De fato, o risco relativo de morte por eventos cardiovasculares em diabéticos, é três vezes maior do que o da população em geral. Estes vários fatores de risco cardiovasculares incluem hipertensão arterial sistêmica (HAS), doença arterial coronariana (DAC), obesidade, resistência à insulina e anormalidades nos lipídios e lipoproteínas plasmáticas. Entretanto, pacientes com DM1 ou 2 têm sido diagnosticados com disfunção diastólica e hipertrofia do ventrículo esquerdo na ausência de DAC e HAS, ou insuficiência cardíaca de outra etiologia, caracterizando a cardiomiopatia diabética (CD), que envolve uma agressão direta ao miocárdio. A CD é uma doença de progressão lenta, que em fases tardias pode evoluir para a disfunção sistólica. A fisiopatologia da CD não está ainda totalmente elucidada, bem como o diagnóstico desta entidade clínica por vezes não é preciso e o tratamento clínico ainda não é satisfatório. Neste cenário, os modelos experimentais têm papel relevante para elucidação destas questões. Esta revisão, apresenta os principais aspectos clínicos e fisiopatológicos da CD e os modelos experimentais utilizados no esclarecimento da patogênese e busca de uma terapia eficaz para CD.

**Palavras-chave:** Cardiomiopatia diabética. Diabetes mellitus. Modelo experimental.

Diabetes mellitus (DM), type 2, affects about 90% of patients with diabetes, resulting from the combination of insulin resistance and relative deficiency in their production. The socio-economic burden of disease is primarily associated with debilitating impairments resulting from diabetes, especially cardiovascular diseases. Cardiovascular disease accounts for up to 80% of deaths in individuals with DM2. In fact, the relative risk of death from cardiovascular events in diabetic patients is three times higher than the general population. These various cardiovascular risk factors include high blood pressure (HBP), coronary artery disease (CAD), obesity, insulin resistance and abnormalities in lipids and lipoproteins. However, patients with type 1 or type 2 DM have been diagnosed with diastolic dysfunction and left ventricular hypertrophy in the absence of CAD and HBP, heart failure or other cause, characterizing diabetic cardiomyopathy (DC) that involves a direct assault to the myocardium. The CD is a slowly progressive disease that in later stages can progress to systolic dysfunction. The pathophysiology of CD is not yet fully elucidated, and the diagnosis of this clinical entity is sometimes not necessary and clinical treatment is not yet satisfactory. In this scenario, the experimental models have an important role to elucidate these issues. This review presents the main clinical aspects and pathophysiology of CD and experimental models used in clarification of the pathogenesis and the search for an effective therapy for CD.

**Keywords:** Diabetic cardiomyopathy. Diabetes mellitus. Experimental model.

\*Doutora em Ciências Biológicas (Biofísica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro; Pesquisadora do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (Fiocruz/BA); Professora da Universidade Federal do Rio de Janeiro e Faculdade Maria Milza. E-mail: simone@bahia.fiocruz.br

\*\*Graduada em Biomedicina (FAMAM/BA); Mestranda em Biotecnologia (UEFS/BA). E-mail: ps.daltro@yahoo.com.br

\*\*\*Doutora em Ciências Biológicas (Biofísica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro; Pesquisadora da Fundação Oswaldo Cruz (BA); Coordenadora do Centro de Biotecnologia e Terapia Celular do Hospital São Rafael (BA); E-mail: milena@bahia.fiocruz.br

\*\*\*\*Mestre em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa (Fundação Oswaldo Cruz/BA). E-mail: kiperstok@gmail.com

## INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é um distúrbio que consiste na resposta secretória defeituosa ou deficiente de insulina, manifestando-se pela utilização inadequada de glicose pelos tecidos com conseqüente hiperglicemia (KANNEL et al., 1974). Há dois tipos de DM de etiologias distintas, mas com algumas manifestações clínicas em comum.

Na DM1, ocorre uma destruição em série das células  $\beta$  do pâncreas que sintetizam a insulina, se desenvolvendo particularmente em adolescentes e jovens, usualmente por processos auto-imune de etiologia genética ou provenientes da exposição a alguns vírus, o que leva ao aumento abrupto na taxa de glicose no sangue, podendo o indivíduo identificar a instalação do quadro de diabetes tipo 1 a partir do início dos sintomas (GROSS et al., 2002; GREGORY, 2003).

Na DM2, a maior incidência se dá após os 40 anos, tendo os defeitos metabólicos decorrentes da resistência dos receptores das células alvo de insulina, atrelada a obesidade, com conseqüente sobrecarga do pâncreas, e ao sedentarismo (WHO, 1999; GREGORY, 2003; SALLES, 2006).

A prevalência mundial da DM vem tomando proporções epidêmicas, no ano de 1995 foram 135 milhões de pessoas acometidas, em 2002 esse número cresceu para 173 milhões e para o ano de 2030 prevê-se que haverá 300 milhões de acometidos. Além disso, pesquisas colocam o Brasil em sexto lugar (11,3 milhões) entre os países com os maiores números de casos de diabetes estimados para 2030 (KING et al., 1998; WILD et al., 2004).

O ônus sócio-econômico da doença está principalmente associado aos comprometimentos conseqüentes do diabetes, em especial às doenças cardiovasculares. A estimativa do cálculo para o custo anual dos portadores de DM será de US\$ 156 bilhões para o ano de 2010, e US\$ 192 bilhões para o ano de 2020 (ADA, 2003). Além do impacto sócio-econômico trazido pelo tratamento da diabetes, a este problema soma-se custos impagáveis como a ansiedade, dor e discriminação que afetam aspectos que não se quantificam para a vida do doente e para os familiares que o acompanham (SAKATA, 2007).

Desprezando-se as características etiológicas, fisiopatológicas e epidemiológicas da DM, a doença cardiovascular é responsável por até 80% das mortes em indivíduos com DM2, sendo apontada como uma das principais causas de morbidade e mortalidade entre os pacientes diabéticos, agravada pela insuficiência cardíaca (IC), que é um dos fatores de maior risco para elevada morbidade destes pacientes (BELL, 2003). De fato, o risco relativo de morte por eventos cardiovasculares em diabéticos, é três vezes maior do que o da população em geral. A DM2 associa-se a

vários fatores de risco cardiovasculares, incluindo hipertensão arterial sistêmica (HAS), doença arterial coronariana (DAC), obesidade, resistência à insulina e anormalidades nos lipídios e lipoproteínas plasmáticas. A estreita associação entre diabetes e estas comorbidades podem causar disfunção diastólica, tornando difícil atribuir a insuficiência cardíaca (IC) apenas à condição diabética (BELL, 1995). Entretanto, pacientes com DM tipo 1 ou 2 têm sido diagnosticados com disfunção diastólica e hipertrofia do ventrículo esquerdo (HVE) na ausência de DAC e HAS, ou IC de outra etiologia (FRANCIS, 2001; BERTONI et al., 2003; BOYER et al., 2004).

## CARDIOMIOPATIA DIABÉTICA

Há quase quarenta anos descreveu-se um relato clínico que indivíduos diabéticos sofrem de uma lesão miocárdica não relacionada à DAC ou HAS, denominada cardiomiopatia diabética (CD). Nestes pacientes, além dos sinais de disfunção cardiovascular e insuficiência cardíaca congestiva, foram observados fibrose e remodelamento cardíaco (RUBLER et al., 1972).

Nas últimas décadas, tem se acumulado resultados de estudos experimentais, epidemiológicos e clínicos, indicando que as alterações metabólicas do DM podem, de fato, acarretar alterações estruturais e funcionais diretamente no miocárdio cardíaco independente de DAC ou HAS (FANG et al., 2004). A prevalência é extremamente elevada, atingindo cerca de 40 a 60% dos pacientes diabéticos (POIRIER et al., 2001). A manifestação clínica da CD habitualmente caracteriza-se por dispnéia, devido à congestão pulmonar decorrente da disfunção diastólica do ventrículo esquerdo. Além da disfunção diastólica, a CD é caracterizada por hipertrofia de ventrículo esquerdo (HVE) e concomitante dilatação atrial. Tardamente, na evolução no quadro, o comprometimento cardíaco pode ser agravado pela ação sinérgica da hipertensão e isquemia, contribuindo para o desenvolvimento da disfunção sistólica (HAYAT et al., 2004; KHAVANDI et al., 2009). Este comprometimento da função sistólica é devido à redução da complacência e da contratilidade cardíaca. A redução da complacência em diabéticos parece ser decorrente da hipertrofia celular, fibrose, deposição de glicogênio no subendocárdio e de colágeno (CHATHAM e FORDER, 1997), além da glicação de outras proteínas intersticiais associada à hiperglicemia (AVENDANO et al., 1999).

Os sinais e sintomas de IC de etiologia diabética, assim como a forma clínica de miocardiopatia dilatada com IC global, não são comuns na cardiomiopatia diabética (OKOSHI et al., 2007). A manifestação CD habitualmente caracteriza-se por dispnéia devido à

congestão pulmonar decorrente da disfunção diastólica.

O diagnóstico definitivo de CD é difícil de ser estabelecido, principalmente porque os sinais, sintomas e achados de exames diagnósticos são inespecíficos. Além disso, o quadro clínico e laboratorial que levou a suspeita de CD, pode ser decorrente de comorbidades muito prevalentes entre os diabéticos (OKOSHI et al., 2007). No entanto, a presença de fibrose miocárdica ou deposição de colágeno pode ser bastante característica da CD. A detecção da disfunção cardíaca por técnicas de imagens e a exclusão de outras causas para esta disfunção são cruciais no diagnóstico da CD. Portanto, atualmente, o diagnóstico da CD repousa em técnicas de imagem não invasivas que possam demonstrar estas anormalidades, tais como o ecocardiograma. Este é o exame mais indicado, considerando custo e benefício, na avaliação estrutural e funcional do coração de pacientes com DM. A HVE pode ser observada em até um terço dos pacientes com DM tipo 2, independentemente dos valores da pressão arterial ou do uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina (STRUTHERS e MORRIS, 2002).

O teste ergométrico (TE) ganha especial utilidade no manejo de portadores de ICC de etiologias diversas quando realizado simultaneamente com a análise dos gases expirados, na ergoespirometria. Em portadores de qualquer tipo de cardiomiopatia, o TE é utilizado para determinação da vulnerabilidade e avaliação do comportamento de arritmias desencadeadas pelo esforço (FONTAINE, 1992).

Até o momento, não há uma terapia específica para o tratamento da CD, tanto no que tange a IC decorrente da DM quanto às arritmias (Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2002). Terapias visando à prevenção e progressão da CD, tendo como alvo a deposição de colágeno no miocárdio e o metabolismo alterado dos cardiomiócitos, estão nos estágios iniciais de desenvolvimento clínico (ANEJA et al., 2008).

De acordo com as diretrizes vigentes da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2002), para o controle da DM e de suas co-morbidades, é de fundamental importância o controle do peso corporal, a alimentação saudável, o controle da glicemia e a atividade física regular, além do monitoramento rigoroso de doenças associadas, principalmente hipertensão arterial, doença arterial coronariana e dislipidemia. Como na grande maioria dos pacientes com CD, principalmente na fase inicial, a IC é decorrente de disfunção diastólica isolada, habitualmente o tratamento consiste em reduzir os sintomas de congestão pulmonar e/ou periférica (diuréticos), controlar a frequência ventricular em doentes com fibrilação atrial (betabloqueadores, digital ou antagonistas de cálcio) e tratar rigorosamente as co-

morbidades como hipertensão arterial sistêmica e doença coronariana - betabloqueadores, IECA, BRA ou antagonistas de cálcio (OKOSHI et al., 2007). Outra classe de fármacos retomada para o tratamento dos pacientes diabéticos com comprometimento cardíaco são os bloqueadores de receptor de aldosterona (KHAVANDI et al, 2009). Entre estes, destaca-se o Losartan, que utilizado em pacientes com disfunção diastólica e hipertensão, aumentou a tolerância ao exercício (WARNER et al, 1999).

Embora os doentes com DM tenham maior prevalência de dislipidemia, hipertensão arterial, e obesidade, esses fatores isoladamente não justificam o aumento da mortalidade, sendo o DM aceito hoje como um importante fator de risco independente para o desenvolvimento da IC (KANDEL et al., 1974).

## FISIOPATOLOGIA DA CARDIOMIOPATIA DIABÉTICA

Diversos mecanismos são propostos a fim de elucidar a patogênese da CD, revelando a natureza multifatorial desta doença. Estes mecanismos incluem disautonomia, alterações metabólicas, hiperglicemia, alterações estruturais em diferentes proteínas, fibrose, distúrbios na homeostase, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e alterações no sistema renina-angiotensina (BOUDINA e ABEL, 2007; KHAVANDI et al, 2009). Neste cenário, não apenas os estudos clínicos têm contribuição relevante, mas as pesquisas pré-clínicas ganham destaque crescente através do uso de modelos experimentais.

O músculo cardíaco tem uma alta demanda energética. Sob condições fisiológicas, o coração utiliza múltiplos substratos como fonte energética, incluindo ácidos graxos, carboidratos, aminoácidos e cetonas. Entre os substratos, os ácidos graxos são as principais fontes primárias de energia durante a perfusão aeróbica a cargas de trabalho normais, dependendo da glicólise e oxidação do piruvato durante os períodos de isquemia e aumento de trabalho. Em um coração adulto sadio, aproximadamente 70% do ATP gerado é proveniente da oxidação de ácidos graxos, enquanto que a glicose, principal carboidrato utilizado pelo coração, e o lactato seriam responsáveis por aproximadamente 30% da energia provida ao músculo cardíaco (NESTO, 2005; AN e RODRIGUES, 2006). A alteração predominante que ocorre no metabolismo cardíaco no DM é a supressão da utilização de glicose e a utilização excessiva de ácidos graxos associada ao estoque intracelular de lipídios (DING; RODRIGUES, 2006).

No DM2, o comprometimento da utilização da glicose devido à resistência à insulina e a maior disponibilidade de AGL, alteram o perfil de uso de

substrato energético do miocárdio. O DM, a obesidade, a resistência à insulina e a diminuição da tolerância à glicose, estão associados com aumento de lipídios no interior dos cardiomiócitos e é independente das concentrações circulantes de triglicérides (McGAVOCK, 2007). Esta lipotoxicidade do miocárdio pode contribuir para a morte celular e, assim, a disfunção cardíaca (WENDE, 2009).

O coração diabético depende quase que completamente da oxidação de ácidos graxos, reduzindo a utilização da glicose e do lactato (BOUDINA e ABEL, 2007). Este desvio de substrato energético do miocárdio é essencial para a adaptação do coração à sobrecarga, mas também apresenta consequências deletérias. Os ácidos graxos são considerados substratos energéticos ineficientes, o aumento da sua utilização pelo coração diabético é freqüentemente acompanhado por um aumento no consumo de oxigênio pelo miocárdio e redução da eficiência cardíaca em modelo animal (MAZUMDER et al., 2004; HOW et al., 2006) e em pacientes com diabetes tipo 1 (PETERSON et al., 2008) e 2 (PETERSON et al., 2004).

Níveis séricos elevados de lipídios podem também contribuir para a elevação do nível celular de ácidos graxos, acarretando um aumento na expressão das proteínas envolvidas na sua oxidação através da ativação do fator de transcrição PPAR $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ ). O PPAR- $\alpha$  antagoniza a ação da insulina, reduzindo a entrada de glicose na célula e inibindo a glicólise e oxidação mitocondrial do piruvato, favorecendo a oxidação dos ácidos graxos (LOPASCHUK et al., 2007). Quando a entrada de ácidos graxos na mitocôndria se torna maior do que a sua oxidação, há o acúmulo de acetil-CoA, que é utilizado na síntese de diacilglicerol (DAG) e ceramida. O DAG é um ativador de PKC, que participa da resistência à insulina e a ceramida pode iniciar apoptose e disfunção cardíaca (YOUNG et al., 2002).

O aumento da absorção e metabolismo de ácidos graxos não acarreta apenas um acúmulo dos seus intermediários e triglicérides, como também aumenta a demanda de oxigênio e geração de espécies reativas de oxigênio, danificando o coração (AN e RODRIGUES, 2006). Além disto, o aumento sérico de lipídeos, insulina e glicose induzem alterações na ativação de fatores de transcrição celular dos cardiomiócitos que resultam em modificações na expressão gênica e na utilização miocárdica de substratos, crescimento miocárdico, disfunção endotelial e aumento da rigidez miocárdica (OKOSHI et al., 2007).

A hiperglicemia promove efeitos danosos ao coração por uma série de mecanismos. Dentre estes, destaca-se a manutenção da captação da glicose no coração diabético em níveis próximos ao coração

normal apesar da redução na expressão do transportador de glicose (STANLEY et al., 1997). Como a glicose que entra no cardiomiócito não é totalmente degradada, seus metabólitos se acumulam (YOUNG et al., 2002) devido a redução da glicólise e da oxidação do piruvato. Conseqüentemente, a glicose é desviada para a via da hexosamina, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e formação de produtos de glicosilação avançada (AGEs) (DOBRIN e LEBECHE, 2010). O aumento de ROS acarreta uma inflamação no miocárdio e disfunção endotelial através da PARP [Poli (ADP-ribose) polimerase] (HAYAT et al., 2004). Esta enzima inibe o gliceraldeído 3-fostato desidrogenase (GAPDH), o que leva ao acúmulo de intermediários glicolíticos, o que acarreta lesão tecidual via formação de AGEs e ativação de PKC (DU et al., 2003).

Os AGEs acumulam-se nos tecidos expostos à hiperglicemia e parecem contribuir para as modificações morfológicas que ocorrem no coração diabético. O acúmulo de matriz extracelular modificada pelos AGEs resulta em uma perda da elasticidade de parede celular e poderia interferir na função (NESTO, 2005). Os AGEs também parecem inativar proteínas transportadoras de Ca<sup>2+</sup>, interferindo no trânsito intracelular desse íon no cardiomiócito (BIDASEE et al., 2004). Outro mecanismo pelo qual a hiperglicemia pode alterar a função dessas proteínas transportadoras é através da atividade aumentada da PKC, levando à sua fosforilação (BRAZ et al., 2004). A redução da atividade dessas proteínas envolvidas no transporte intracelular do cálcio pode levar ao comprometimento das funções sistólica e diastólica. Há evidências que os AGEs também contribuem, através das ligações estáveis entre as proteínas de colágeno, para o aumento da espessura do miocárdio e das artérias, disfunção endotelial e formação de placa de ateroma. Em termos funcionais correlaciona-se o tempo de relaxamento isovolumétrico e o diâmetro do ventrículo esquerdo durante a diástole aos níveis séricos de AGEs (BERG et al, 1999). A exacerbação do estresse oxidativo celular pelos AGEs, alteração estrutural das proteínas de colágeno e a formação de fibrose são responsáveis pelo comprometimento da função cardíaca (ARONSON, 2003; UUSITUPA et al, 1990)

Outro distúrbio associada ao desenvolvimento da CD e, também, às alterações metabólicas é relacionado à homeostase do cálcio. Alterações no ciclo de cálcio intracelular induzem alterações diretas na contratilidade cardíaca. As anormalidades do ciclo de cálcio estão associadas a mudanças nas vias intracelulares, visto que nenhuma alteração foi detectada nos canais de cálcio tipo L voltagem dependente do sarcolema responsável pelo influxo de cálcio que leva a liberação de cálcio armazenado retículo sarcoplasmático (CESARIO et al, 2006). Os distúrbios estão relacionados ao comprometimento da expressão e funcionamento dos receptores de

rianodina, bem como da bomba de cálcio ATPase do retículo (CHOI et al, 2002; ZHAO et al., 2006). Os receptores de rianodina estão associados à liberação do cálcio do retículo, mas quando hiperfosforilados alteram este fluxo, levando a depleção dos estoques de cálcio e elevação dos níveis citoplasmáticos deste íon. Esta condição é agravada pela redução da hipocontratilidade do miocárdio. O aumento da estimulação  $\beta$ -adrenérgica e diminuição dos níveis de proteínas fosfatases PP1 e PP2 verificadas na CD são responsáveis pelo mau funcionamento dos receptores de rianodina. A redução da remoção do cálcio citoplasmático pela bomba de cálcio ATPase do retículo sarcoplasmático aumenta o tempo de relaxamento do músculo cardíaco, reduz o estoque de cálcio e, conseqüentemente, diminui a liberação deste íon nas sístoles subseqüentes, levando a um estado de hipocontratilidade. Além destes eventos, há evidências de que filamentos contráteis obtidos por biopsia do miocárdio de pacientes diabéticos apresentam menor sensibilidade ao cálcio (JWEIED et al, 2005).

O sistema renina-angiotensina-aldosterona desempenha importante papel patogênico na cardiomiopatia diabética. A angiotensina II exerce seus efeitos sobre o coração através dos receptores de angiotensina tipo1 - AT1 (DOSTAL et al, 1992). A ativação de AT1 promove um efeito inotrópico positivo pelo aumento do cálcio citoplasmático e o crescimento celular a ativação das proteínas cinases MAP reguladoras através da proteína Gq (OPIE, 2004). Os mecanismos básicos responsáveis pelo distúrbio cardíaco devido à ação deste sistema ainda não estão elucidados, mas uma das hipóteses é que a ativação de receptores AT1 levaria ao aumento da atividade da NADPH oxidase, elevando os níveis de ROS levando ao estresse oxidativo da célula cardíaca (PRIVRATSKY et al., 2003). Tanto em investigações clínicas quanto experimentais foi demonstrado que o bloqueio da formação de angiotensina ou da ativação dos receptores AT1 desempenha papel cardioprotetor em situação de DM (RAIMONDI et al, 2004; FIORDALISO et al, 2006; Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators, 2000). O uso de antagonistas de aldosterona também está associada à redução da mortalidade devido a complicações cardiovasculares em pacientes diabéticos, especialmente em pacientes com níveis séricos elevados de marcadores para síntese de colágeno (ZANNAD et al, 2000). Tanto a aldosterona quanto a angiotensina estão relacionados ao controle da renovação da matriz extracelular, portanto a exacerbação deste sistema leva a maior deposição de colágeno, proliferação de fibroblastos e desenvolvimento de fibrose, contribuindo para hipertrofia cardíaca e progressão do quadro para disfunção diastólica (McEWAN et al, 1998; KHAVANDI et al, 2009).

O estresse oxidativo é outro mecanismo

envolvido no desenvolvimento da CD. Além da geração de ROS pela ativação da enzima NADPH oxidase mencionada acima, uma grande parte desta produção é realizada pelas mitocôndrias, sendo a disfunção mitocondrial um dos mecanismos responsáveis pelo acúmulo de ROS e, conseqüentemente, pela lesão cardíaca SERPILLON et al, 2009). Através de estudos experimentais e clínicos, atribuí-se a ROS diferentes vias para a disfunção cardíaca, tais como a formação de espécies de nitrotirosina por reação com óxido nítrico (FRUSTACI et al, 2000) e ativação do fator de transcrição NF $\kappa$ B que modula a transcrição de genes de diferentes proteínas cardíacas, tais como a miosina de cadeia pesada (ARAGNO et al, 2006). Na CD há uma incompatibilidade entre o suprimento e a demanda de energia acentuada em situações de disfunção mitocondrial, tais como na redução da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria subsarcolemal. O comprometimento do funcionamento das mitocôndrias também afeta a homeostase de cálcio, visto que esta organela controla não apenas a concentração de cálcio intramitocondrial, mas interage com as demais organelas intracelulares que regulam os níveis de cálcio no citosol e, conseqüentemente, modula suas vias de sinalização (MURGIA et al, 2009).

Outro mecanismo pelo qual o DM pode comprometer o coração é através da neuropatia autonômica cardíaca (NAC). A NAC está associada a um aumento do tônus simpático que pode alterar o metabolismo do miocárdio e gerar desacoplamento mitocondrial (DRAKE-HOLLAND et al., 2001), em último caso acarretando as alterações funcionais características da CD (POP-BUSUI et al., 2004). A anormalidade na expressão de dos receptores  $\beta$ 1 e as alterações nos níveis de catecolaminas são processos decorrentes da NAC. O aumento na expressão dos receptores  $\beta$ 1 resulta em apoptose, fibrose, hipertrofia e comprometimento da função cardíaca (BISOGNANO et al, 2000)

## MODELOS EXPERIMENTAIS DE CARDIOMIOPATIA DIABÉTICA

Modelos experimentais de diabetes tipo 1 e tipo 2 apresentam manifestações cardíacas semelhantes. Ambos são caracterizados pelo aumento da oxidação de ácidos graxos e redução da utilização de glicose, alterações no fluxo de cálcio, comprometimento mitocondrial e aumento de tecido conjuntivo no coração. Entretanto, o aumento na produção de ROS pela mitocôndria e o desacoplamento mitocondrial induzido por ácidos graxos ocorrem em modelo de DM2, mas não são observados em modelos de DM1 (BOUDINA e ABEL, 2007; BUGGER e ABEL, 2008). A nível estrutural, os modelos de DM1 apresentam

aumento da apoptose no miocárdio e dilatação, enquanto os de DM2 tendem à hipertrofia (POORNIMA et al., 2006). A partir disto, conclusões tiradas de ambos os modelos têm sido relacionadas e utilizadas na compreensão da fisiopatologia da CD e busca de novas estratégias terapêuticas (BUGGER e ABEL, 2009).

Um dos modelos de DM1 mais utilizados é o quimicamente induzido pela estreptozotocina (STZ). O tratamento com a STZ é tóxico para as células  $\beta$ , acarretando necrose e conseqüente deficiência na produção de insulina (CHOI et al., 2003). Roedores tratados com múltiplas e baixas doses de STZ desenvolvem hiperglicemia, dislipidemia, e redução progressiva dos níveis de insulina (ISLAS-ANDRADE et al., 2000). Estudos de CD em modelo induzido por STZ relatam disfunção diastólica e sistólica, cuja gravidade aumenta com a duração do DM. São observadas a redução na fração de encurtamento (NIELSEN et al., 2002; SUAREZ et al., 2004), aumento da pressão diastólica (KAJSTURA et al., 2001) e alteração do fluxo da mitral (LACOMBE et al., 2007). O metabolismo do miocárdio também está alterado em animais com diabetes induzida por STZ, com aumento da oxidação de ácidos graxos e redução da glicólise e fosforilação oxidativa (DEPRE et al., 2000; FINCK et al., 2002), acarretando um maior consumo de O<sub>2</sub> e redução da eficiência energética (HOW et al., 2006). Além disso, ocorre estresse oxidativo, aumento de apoptose (SINGH et al., 2008) e alteração no transporte intracelular de cálcio (SUAREZ et al., 2004).

Apesar do modelo da STZ ser amplamente utilizado no estudo da DM, a maioria do conhecimento a cerca dos mecanismos da CD foi obtido a partir de animais geneticamente modificados através da deleção ou a superexpressão de genes específicos que desenvolvem obesidade, resistência à insulina e/ou diabetes, mimetizando mecanismos fisiopatológicos comumente observados na CD (BUGGER e ABEL, 2009). Um desses modelos é o camundongo OVE26, que superexpressa a proteína calmodulina nas células  $\beta$  pancreáticas, acarretando uma DM1 precoce e grave por mecanismos não muito elucidados. Camundongos OVE26 apresentam um aumento dos níveis séricos de glicose e triglicérides e redução da insulina (LIANG et al., 2002). Nesse modelo, a contratilidade de cardiomiócitos isolados está comprometida, mas seus efeitos no coração não são tão significativos (LIANG et al., 2002; SONG et al., 2007). Também são observadas alterações ultra-estruturais nas mitocôndrias, aumento da produção de superóxido, acarretando estresse oxidativo (SHEN et al., 2004) e alteração no trânsito intracelular dos íons de cálcio (YE et al., 2004).

Outro modelo de DM1 com animal geneticamente modificado é o camundongo Akita. Uma mutação dominante no gene insulina 2 impede o dobramento correto da proteína, acarretando estresse do retículo endoplasmático e conseqüente apoptose

das células  $\beta$  (RON, 2002). O camundongo Akita apresenta hiperglicemia e hipertrigliceridemia (BUGGER et al., 2008) e por sua utilização ser relativamente recente há poucos trabalhos relacionados à sua CD. Em estudo de Lu e colaboradores (2007), foi observada uma redução de quase 50% da fração de encurtamento em corações de camundongos diabéticos. Esse achado não foi reproduzido em outro trabalho, no qual foi descrito uma pequena redução na contratilidade de corações isolados. Neste mesmo estudo, observou-se aumento da oxidação de ácidos graxos e redução da oxidação da glicose, porém, sem sinais de desacoplamento mitocondrial e sem comprometimento da eficiência cardíaca (BUGGER et al., 2008).

Camundongos geneticamente modificados são utilizados também como modelos de DM2. É o caso dos camundongos com mutação no gene da leptina ou do seu receptor, ob/ob e db/db, respectivamente. Nestes modelos, o DM2 se desenvolve devido à ausência da ação da leptina no hipotálamo, resultando em hiperfagia, obesidade e resistência à insulina (SRINIVASAN e RAMARAO, 2007). Um quadro severo de hiperinsulinemia e DM2 se desenvolve mais precocemente nos camundongos db/db, quando comparados aos ob/ob e, nos dois modelos, uma dislipidemia é observada na maioria dos estudos (BUCHANAN et al., 2005). A hiperglicemia é observada em graus variados nesses animais (POORNIMA et al., 2006).

A CD em camundongos ob/ob é caracterizada por hipertrofia, disfunção diastólica e pouca ou nenhuma disfunção sistólica (BAROUCH et al., 2003; CHRISTOFFERSEN et al., 2003). A contratilidade está pouco ou não está comprometida em corações isolados (BAROUCH et al., 2003; MAZUMDER et al., 2004; BUCHANAN et al., 2005) e está normal ou aumentada in vivo (BUCHANAN et al., 2005). O desvio de substrato também é observado no coração desses animais, com aumento de oxidação de ácidos graxos e redução da utilização da glicose. Além disso, o miocárdio desenvolve resistência à insulina. Tais alterações resultam no aumento de consumo de oxigênio e conseqüente na redução da eficiência cardíaca (BUCHANAN et al., 2005; MAZUMDER et al., 2004). Estresse oxidativo e alterações no trânsito intracelular de cálcio parecem também contribuir para a CD em animais ob/ob (LI et al., 2006).

As alterações na contratilidade são mais pronunciadas no modelo db/db, provavelmente devido ao desenvolvimento mais precoce da hiperglicemia (BUGGER e ABEL, 2009). Yue e colaboradores (2006) acompanharam, por ressonância magnética, o desenvolvimento da CD nesses animais, descrevendo alterações estruturais e remodelamento do VE. Inicialmente, observaram uma hipertrofia caracterizada por aumento da massa e espessamento das paredes

do VE, seguida por dilatação progressiva e disfunção contrátil. A hipertrofia cardíaca desenvolvida pelos camundongos ob/ob e db/db é independente dos níveis de leptina e da sua ação, sugerindo que a hiperleptinemia não é necessária para essa manifestação no DM2 (POORNIMA et al., 2006). Associado, ou não, à hipertrofia, a disfunção diastólica é um achado comum em camundongos diabéticos db/db (SEMENIUK et al., 2002; STUCKEY et al., 2008). O comprometimento da contratilidade cardíaca em animais db/db também foi comprovada por ecocardiografia e em corações isolados (BELKE et al., 2004; CARLEY et al., 2004; PEREIRA et al., 2006). Este parece estar associado a alterações no fluxo de cálcio intracelular (BELKE et al., 2004; PEREIRA et al., 2006). Além disso, a ativação do sistema nervoso parassimpático em detrimento do simpático no modelo db/db é indicativo de neuropatia autonômica cardíaca (GONCALVES et al., 2009).

Ratos Zucker obesos também apresentam mutação no gene do receptor da leptina, desenvolvendo hiperfagia. Eles apresentam obesidade e aumento dos níveis de triglicérides, ácidos graxos, leptina e insulina, mas são euglicêmicos (COORT et al., 2004). O cruzamento seletivo dos ratos que apresentavam hiperglicemia deu origem à outra linhagem, o rato Zucker obeso e diabético, com as mesmas características citadas, acrescentando os níveis elevados de glicose no soro (WANG et al., 2005). Ambos os modelos apresentam hipertrofia e aumento do conteúdo lipídico no miocárdio (LEE et al., 2001; LUIKEN et al., 2001). A disfunção contrátil e o desvio de substrato energético, por sua vez, são mais evidentes em ratos Zucker obesos e diabéticos (SHARMA et al., 2004; GOLFMAN et al., 2005; WANG et al., 2005).

Camundongos ob/ob, db/db e ratos Zucker parecem não desenvolver aterosclerose, de forma que permitem a avaliação dos efeitos da obesidade, resistência à insulina e DM2, independente da DAC (RUSSELL e PROCTOR, 2006; HSUEH et al., 2007).

A interpretação dos resultados deve levar em conta a etiologia da obesidade e diabetes no modelo utilizado. A severidade desses fatores, bem como a susceptibilidade à CD, pode variar de acordo com o componente genético da linhagem utilizada. Além disso, a toxicidade de drogas utilizadas na indução do DM ou efeitos derivados da mutação genética utilizada devem ser considerados (BUGGER e ABEL, 2009). A STZ pode apresentar toxicidade extrapancreática. No caso do coração, por exemplo, a droga pode induzir disfunção contrátil diretamente através de estresse oxidativo (WOLD & REN, 2004). A leptina também exerce efeitos diretos na função cardíaca. Assim, a deficiência dessa adiponectina (modelo ob/ob) ou a resistência à mesma (modelo db/db) podem confundir os resultados da CD (BUGGER e ABEL, 2009). Além disso, a leptina parece ter efeitos significativos nas

células do sistema imune e alterações na resposta inata e adquirida já foram descritas em camundongos ob/ob (OTERO et al., 2006), o que comprometeria mais ainda a interpretação dos resultados.

Independente dos efeitos desconhecidos da mutação, modelos de DM2 baseado em mutação monogênica não apresentam a base multifatorial da doença. Linhagens de camundongos e ratos suscetíveis à obesidade e diabetes por indução com dieta combinam os aspectos genéticos e ambientais típicos do DM2, representando modelos experimentais de grande interesse (PETRO et al., 2004; OUWENS et al., 2007). Ratos Wistar alimentados com ração rica em gordura por 7 semanas desenvolvem esteatose, degeneração mitocondrial e disfunção contrátil no miocárdio (OUWENS et al., 2005; OUWENS et al., 2007).

Camundongos C57Bl/6 alimentados com dieta hipergordurosa mimetizam bem a condição do DM2 em humanos, desenvolvendo obesidade central, hiperglicemia, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, dislipidemia, intolerância à glicose e resistência à insulina (COLLINS et al., 2004; GALLOU-KABANI et al., 2007). As manifestações cardíacas desse modelo de DM2 ainda não foram bem estudadas. Estudos indicam um desvio de substrato metabólico já no início da dieta rica em gordura, precedendo, inclusive a obesidade e o diabetes (WRIGHT et al., 2009). Alguns trabalhos avaliam o efeito da dieta hipergordurosa após a indução de sobrecarga de pressão (CHESS et al., 2008; DUDA et al., 2008), entretanto, eles não avaliam a função cardíaca associada apenas à dieta. O estudo funcional do coração de animais com obesidade e DM2 semelhante à condição humana é, portanto, de grande relevância.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de se passarem mais de 40 anos da descrição da CD em pacientes diabéticos sem manifestação de hipertensão arterial ou doença arterial coronariana, este tema ainda gera muita controvérsia. Estudos clínicos, epidemiológicos e pré-clínicos, confirmam que esta se trata de uma entidade clínica distinta, que representa uma das principais causas de morbimortalidade nos pacientes com DM. A fisiopatologia ainda não está totalmente elucidada, e os achados na literatura revelam sua natureza multifatorial que englobam fibrose, perda de cardiomiócitos, disautonomia, alterações metabólicas, hiperglicemia, alterações estruturais, distúrbios na homeostase, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e alterações no sistema renina-angiotensina. Estas alterações estão associadas à disfunção diastólica que em estágios mais avançados pode ser acompanhada por disfunção

sistólica e estabelecimento da falência cardíaca. Não há ainda uma terapia específica para a CD, recomendando-se o uso de fármacos utilizados no manejo de pacientes portadores de cardiopatia de etiologia diversa, além do controle dos fatores de risco e modificação do estilo de vida. Neste contexto de muitos questionamentos acerca da DM, os modelos experimentais ganham relevância crescente, juntamente como os ensaios clínicos sobre CD, como ferramentas na elucidação dos mecanismos patogênicos da CD e de condutas terapêuticas eficazes para o tratamento destes pacientes diabéticos cardiopatas.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Economic costs of diabetes in the U. S. in 2002. **Diabetes Care**, v. 26, n. 3, p. 917-932, 2003.

AN, D.; RODRIGUES, B. Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 291, n.4, p. 1489-1506, Oct. 2006.

ANEJA, A. Diabetic Cardiomyopathy: Insights into Pathogenesis, Diagnostic Challenges, and Therapeutic Options. **The American Journal of Medicine**, v. 121, p. 748-757. 2008.

ARAGNO, M.; MASTROCOLA, R.; MEDANA, C.; CATALANO, M. G.; VERCELLINATTO, I.; DANNI, O. et al. Oxidative stress-dependent impairment of cardiac-specific transcription factors in experimental diabetes. **Endocrinology**, v. 147, n. 12, p. 5967-74. 2006.

ARONSON, D. Cross-linking of glycated collagen in the pathogenesis of arterial and myocardial stiffening of aging and diabetes. **J Hypertens**, v. 21, p. 3-12, 2003.

AVENDANO, G. F. et al. Effects of glucose intolerance on myocardial function and collagen-linked glycation. **Diabetes**, v. 48, n. 7, p. 1443-7, 1999.

BAROUCH, L. A. *et al.* Disruption of leptin signaling contributes to cardiac hypertrophy independently of body weight in mice. **Circulation**, v. 108, n. 6, p. 754-9, 2003.

BELL, D. S. Diabetic cardiomyopathy. A unique entity or a complication of coronary artery disease? **Diabetes Care**, v. 18, p. 708-714, 1995.

BELL, D. S. Diabetic cardiomyopathy. **Diabetes Care**, v.

26, n. 10, p. 2949-51, 2003.

BELKE, D. D.; SWANSON, E. A.; DILLMANN, W. H. Decreased sarcoplasmic reticulum activity and contractility in diabetic db/db mouse heart. **Diabetes**, v. 53, n. 12, p. 3201-8, 2004.

BERG, T. J.; SNORGAARD, O.; FABER, J. et al. Serum levels of advanced glycation end products are associated with left ventricular diastolic function in patients with type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v. 22, p. 118-1190, 1999.

BERTONI, A. G.; TSAI, A.; KASPER, E. K.; BRANCATI, F. L. Diabetes and idiopathic cardiomyopathy. **Diabetes Care**, v. 26, p. 2791-2795, 2003.

BIDASEE, K. R.; ZHANG, Y.; SHAO, C. H. et al. Diabetes increases formation of advanced glycation end products on Sarco(endo) plasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase. **Diabetes**, v. 53, n. 2, p. 463-473, 2004.

BISOGNANO, J. D.; WEINBERGER, H. D.; BOHLMAYER, T. J. et al. Myocardial directed overexpression of the human beta(1)-adrenergic receptor in transgenic mice. **J Mol Cell Cardiol**, v. 32, p. 817-830, 2000.

BOUDINA, S.; ABEL, E. D. Diabetic cardiomyopathy revisited. **Circulation**, v. 115, n. 25, p. 3213-23, 2007.

BOYER, J. K.; THANIGARAJ, S.; SCHECHTMAN, K. B.; PEREZ, J. E. Prevalence of ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic, normotensive diabetic mellitus. **Am J Cardiol**, v. 93, p. 870-875, 2004.

BRAZ, J. C.; GREGORY, K.; PATHAK, A. et al. PKC-alpha regulates cardiac contractility and propensity toward heart failure. **Nature Medicine**, v. 10, n. 3, p. 248-254, Mar. 2004.

BUCHANAN, J.; MAZUMDER, P. K.; HU, P.; CHAKRABARTI, G.; ROBERTS, M. W.; YUN, U. J. et al. Reduced cardiac efficiency and altered substrate metabolism precedes the onset of hyperglycemia and contractile dysfunction in two mouse models of insulin resistance and obesity. **Endocrinology**, v. 146, n. 12, p. 5341-9, 2005.

BUGGER, H. *et al.* Type 1 diabetic akita mouse hearts are insulin sensitive but manifest structurally abnormal mitochondria that remain coupled despite increased uncoupling protein 3. **Diabetes**, v. 57, n. 11, p. 2924-32, 2008.

- BUGGER, H.; ABEL, E. D. Rodent models of diabetic cardiomyopathy. **Dis Model Mech**, v. 2, n. 9–10, p. 454–66, 2009.
- CARLEY, A. N. *et al.* Treatment of type 2 diabetic db/db mice with a novel PPAR $\gamma$  agonist improves cardiac metabolism but not contractile function. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 286, n. 3, p. E449–55, 2004.
- CESSARIO, D. A.; BRAR, R.; SHIVKUMAR, K. Alterations in Ion Channel Physiology in Diabetic Cardiomyopathy. **Endocrinol Metab Clin N Am**, v. 35, p. 601–610, 2006.
- CHATHAM, J. C.; FORDER, J. R. Relationship between cardiac function and substrate oxidation in hearts of diabetic rats. **Am J Physiol**, v. 273, n. 1 Pt 2, p. H52–8, 1997.
- CHESS, D. J. *et al.* Effects of a high saturated fat diet on cardiac hypertrophy and dysfunction in response to pressure overload. **Journal of Cardiac Failure**, v. 14, n. 1, p. 82–8, 2008.
- CHOI, K. M.; ZHONG, Y.; HOIT, B. D. *et al.* Defective intracellular Ca(2+) signaling contributes to cardiomyopathy in Type 1 diabetic rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 283, p. 1398–408, 2002.
- CHOI, J. B. *et al.* Little evidence of transdifferentiation of bone marrow-derived cells into pancreatic beta cells. **Diabetologia**, v. 46, n. 10, p. 1366–74, 2003.
- CHRISTOFFERSEN, C. *et al.* Cardiac lipid accumulation associated with diastolic dysfunction in obese mice. **Endocrinology**, v. 144, n. 8, p. 3483–90, 2003.
- COLLINS, S. *et al.* Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. **Physiol Behav**, v. 81, n. 2, p. 243–8, 2004.
- COORT, S. L. *et al.* Enhanced sarcolemmal FAT/CD36 content and triacylglycerol storage in cardiac myocytes from obese Zucker rats. **Diabetes**, v. 53, n. 7, p. 1655–63, 2004.
- DEPRE, C. *et al.* Streptozotocin-induced changes in cardiac gene expression in the absence of severe contractile dysfunction. **J Mol Cell Cardiol**, v. 32, n. 6, p. 985–96, 2000.
- DING, A.; RODRIGUES, B. Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 291, p. 1489–506, 2006.
- DOBRIN, J. S.; LEBECHE, D. Diabetic cardiomyopathy: signaling defects and therapeutic approaches. **Expert Rev. Cardiovasc. Ther**, v. 8, n. 3, p. 373–391, 2010.
- DOSTAL, D. E.; ROTHBLUM, K. N.; CHERNIN, M. I.; COOPER, G. R.; BAKER, K. M. Intracardiac detection of angiotensinogen and renin: a localized renin-angiotensin system in neonatal rat heart. **Am. J. Physiol**, v. 263, p. 838–850, 1992.
- DRAKE-HOLLAND, A. J. *et al.* Chronic catecholamine depletion switches myocardium from carbohydrate to lipid utilisation. **Cardiovasc Drugs Ther**, v. 15, n. 2, p. 111–7, 2001.
- DU, X.; MATSUMURA, T.; EDELSTEIN, D. *et al.* Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 7, p. 1049–1057, Oct. 2003.
- DUDA, M. K. *et al.* Low-carbohydrate/high-fat diet attenuates pressure overload-induced ventricular remodeling and dysfunction. **Journal of Cardiac Failure**, v. 14, n. 4, p. 327–35, 2008.
- FANG, Z. Y.; PRINS, J. B.; MARWICK, T. H. Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications. **Endocr Rev**, v. 25, p. 543–567, 2004.
- FEIN, F. S. Diabetic cardiomyopathy. **Diabetes Care**, v. 13, p. 1169–1179, 1990.
- FINCK, B. N. *et al.* The cardiac phenotype induced by PPAR $\alpha$  overexpression mimics that caused by diabetes mellitus. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 109, n. 1, p. 121–30, 2002.
- FIORDALISO, F.; CUCCOVILLO, I.; BIANCHI, R. *et al.* Cardiovascular oxidative stress is reduced by an ACE inhibitor in a rat model of streptozotocin-induced diabetes. **Life Sciences**, v. 79, n. 2, p. 121–129, Jun. 2006.
- FONTAINE, J. M. Evaluation of patients with complex ventricular arrhythmias: current noninvasive and invasive methods. **Am Heart J**, n. 123, p. 1123–9, 1992.
- FRANCIS, G. S. Diabetic cardiomyopathy: fact or

fiction? **Heart**, v. 85, p. 247–248, 2001.

FRUSTACI, A.; KAJSTURA, J.; CHIMENTI, C.; JAKONIUK, I.; LERI, A.; MASERI, A. et al. Myocardial cell death in human diabetes. **Circ Res**, v. 87, n. 12, p. 1123–32, 2000.

GALLOU-KABANI, C. et al. C57BL/6J and A/J mice fed a high-fat diet delineate components of metabolic syndrome. **Obesity** (Silver Spring), v. 15, n. 8, p. 1996–2005, 2007.

GOLFMAN, L. S. et al. Activation of PPARgamma enhances myocardial glucose oxidation and improves contractile function in isolated working hearts of ZDF rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 289, n. 2, p. E328–36, 2005.

GONCALVES, A. C. et al. Diabetic hypertensive leptin receptor-deficient db/db mice develop cardioregulatory autonomic dysfunction. **Hypertension**, v. 53, n. 2, p. 387–92, 2009.

GREGORY, R. Avanços terapêuticos do diabetes tipos 1 e 2. Grã Bretanha. **Rev Med UPDATE**, n. 3, p. 8–14, 2003.

GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHEL, A. J.; AZEVEDO, M. J. Diabetes melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v. 46, n. 1, p. 16–26. Fev. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abem/v46n1/a04v46n1.pdf>. Acesso em: 28 de maio de 2011.

HAYAT, S. A.; PATEL, B.; KHATTAR, R. S.; MALIK, R. A. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms, diagnosis and treatment. **Clin Sci**, v. 107, p. 539–57, 2004.

HEART OUTCOMES PREVENTION EVALUATION. Study Investigators Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. **Lancet**, v. 355, n. 9200, p. 253–259, Jan. 2000.

HOW, O. J.; AASUM, E.; SEVERSON, D. L.; CHAN, W. Y.; ESSOP, M. F.; LARSEN, T. S. Increased myocardial oxygen consumption reduces cardiac efficiency in diabetic mice. **Diabetes**, v. 55, n. 2, p. 466–73, 2006.

HSUEH, W.; ABEL, E. D.; BRESLOW, J. L.; MAEDA, N.; DAVIS, R. C.; FISHER, E. A. et al. Recipes for creating animal models of diabetic cardiovascular disease. **Circ Res**, v. 100, n. 10, p. 1415–27, 2007.

ISLAS-ANDRADE, S. et al. Streptozotocin and alloxan in experimental diabetes: Comparison of the two models in rats. **Acta Histochemica**, v. 33, n. 3, p. 201–208, 2000.

JWEIED, E. E.; MCKINNEY, R. D.; WALKER, L. A. et al. Depressed cardiac myofilament function in human diabetes mellitus. **American Journal of Physiology - Heart & Circulatory Physiology**, v. 289, n. 6, p. 2478–2483, Dec. 2005.

KAJSTURA, J. et al. IGF-1 overexpression inhibits the development of diabetic cardiomyopathy and angiotensin II-mediated oxidative stress. **Diabetes**, v. 50, n. 6, p. 1414–24, 2001.

KANNEL, W. B.; HJORTLAND, M.; CASTELLI, W. P. Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham study. **Am J Cardiol**, v. 34, p. 9–34, 1974.

KHAVANDI, K. et al. Diabetic cardiomyopathy--a distinct disease? **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v. 23, n. 3, p. 347–60, 2009.

KING, H.; AUBERT, R. E.; HERMAN, W. H.: Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. **Diabetes Care**, v. 21, p. 1414–1431, 1998. Disponível em: <http://care.diabetesjournals.org/content/21/9/1414.full.pdf+html>. Acesso em: 12 de junho de 2011.

LACOMBE, V. A. et al. Mechanisms of impaired calcium handling underlying subclinical diastolic dysfunction in diabetes. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 293, n. 5, p. R1787–97, 2007.

LEE, Y. et al. Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 8, p. 5629–35, 2001.

LI, S. Y. et al. Cardiac contractile dysfunction in Lep/Lep obesity is accompanied by NADPH oxidase activation, oxidative modification of sarco(endo)plasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase and myosin heavy chain isozyyme switch. **Diabetologia**, v. 49, n. 6, p. 1434–46, 2006.

LIANG, Q. et al. Overexpression of metallothionein reduces diabetic cardiomyopathy. **Diabetes**, v. 51, n. 1, p. 174–81, 2002.

LOPASCHUK, G. D.; FOLMES, C. D.; STANLEY, W. C. Cardiac energy metabolism in obesity. **Circulation Research**, v. 101, n. 4, p. 335–47, 2007.

LU, Z. et al. Decreased L-Type Ca<sup>2+</sup> Current in Cardiac

- Myocytes of Type 1 Diabetic Akita Mice Due to Reduced Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling. **Diabetes**, v. 56, n. 11, p. 2780-2789, 2007.
- LUIKEN, J. J. *et al.* Increased rates of fatty acid uptake and plasmalemmal fatty acid transporters in obese Zucker rats. **J Biol Chem**, v. 276, n. 44, p. 40567-73, 2001.
- MAZUMDER, P. K.; O'NEILL, B. T.; ROBERTS, M. W.; BUCHANAN, J.; YUN, U. J.; COOKSEY, R. C. *et al.* Impaired cardiac efficiency and increased fatty acid oxidation in insulin-resistant ob/ob mouse hearts. **Diabetes**, v. 53, n. 9, p. 2366-74, 2004.
- McEWAN, P. E.; GRAY, G. A.; SHERRY, L. *et al.* Differential effects of angiotensin II on cardiac cell proliferation and intramyocardial perivascular fibrosis in vivo. **Circulation**, v. 98, n. 24, p. 2765-2773. Dec. 1998.
- McGAVOCK, J. M.; LINGVAY, I.; ZIB, I.; TILLERY, T.; SALAS, N.; UNGER, R. *et al.* Cardiac steatosis in diabetes mellitus: a 1H-magnetic resonance spectroscopy study. **Circulation**, v. 116, n. 10, p. 1170-5, 2007.
- MURGIA, M.; GIORGI, C.; PINTON, P.; RIZZUTO, R. Controlling metabolism and cell death: at the heart of mitochondrial calcium signalling. **J. Mol. Cell. Cardiol.** v. 46, n. 6, p. 781-788, 2009.
- NESTO, R. W. **Diabetes and heart diseases**. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Co., 2005. p. 1355-66.
- NIELSEN, L. B.; BARTELS, E. D.; BOLLANO, E. **Overexpression of apolipoprotein B in the heart impedes cardiac triglyceride accumulation and development of cardiac dysfunction in diabetic mice.** **J Biol Chem**, v. 277, n. 30, p. 27014-20, 2002.
- OKOSHI, K. *et al.*, Miocardiopatia diabética. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 51, n. 2, 2007.
- OPIE, L. H.; SACK, M. M. Signal systems: coordinating life and death. In: OPIE, L. H. **Heart Physiology: From cell to circulation**. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- OTERO, M. *et al.* Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. **Rheumatology** (Oxford), v. 45, n. 8, p. 944-50, 2006.
- Ouwens, D. M. *et al.* Cardiac dysfunction induced by high-fat diet is associated with altered myocardial insulin signalling in rats. **Diabetologia**, v. 48, n. 6, p. 1229-37, 2005.
- Ouwens, D. M. *et al.* Cardiac contractile dysfunction in insulin-resistant rats fed a high-fat diet is associated with elevated CD36-mediated fatty acid uptake and esterification. **Diabetologia**, v. 50, n. 9, p. 1938-48, 2007.
- PEREIRA, L. *et al.* Mechanisms of [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> transient decrease in cardiomyopathy of db/db type 2 diabetic mice. **Diabetes**, v. 55, n. 3, p. 608-15, 2006.
- PETERSON, L. R.; HERRERO, P.; SCHECHTMAN, K. B.; RACETTE, S. B.; WAGGONER, A. D.; KISRIEVA-WARE, Z. *et al.* Effect of obesity and insulin resistance on myocardial substrate metabolism and efficiency in young women. **Circulation**, v. 109, n. 18, p. 2191-6, 2004.
- PETERSON, L. R.; HERRERO, P.; MCGILL, J.; SCHECHTMAN, K. B.; KISRIEVA-WARE, Z.; LESNIAK, D. *et al.* Fatty acids and insulin modulate myocardial substrate metabolism in humans with type 1 diabetes. **Diabetes**, v. 57, n. 1, p. 32-40, 2008.
- PETRO, A. E. *et al.* Fat, carbohydrate, and calories in the development of diabetes and obesity in the C57BL/6J mouse. **Metabolism**, v. 53, n. 4, p. 454-7, 2004.
- PIESKE, B. A.; WACHTER, R. B. Impact of diabetes and hypertension on the heart. **Current Opinion in Cardiology**, v. 23, n. 4, p. 340-349. July. 2008.
- POIRIER, P.; BOGATY, P.; GARNEAU, C. *et al.* Diastolic dysfunction in normotensive men with well-controlled type 2 diabetes: importance of maneuvers in echocardiographic screening for preclinical diabetic cardiomyopathy. **Diabetes Care**, v. 24, n. 1, p. 5-10, Jan. 2001.
- POORNIMA, I. G.; PARIKH, P.; SHANNON, R. P. Diabetic cardiomyopathy: the search for a unifying hypothesis. **Circ Res**, v. 98, p. 596-605, 2006.
- POP-BUSUI, R. *et al.* Sympathetic dysfunction in type 1 diabetes: association with impaired myocardial blood flow reserve and diastolic dysfunction. **J Am Coll Cardiol**, v. 44, n. 12, p. 2368-74, 2004.
- PRIVRATSKY, J. R.; WOLD, L. E.; SOWERS, J. R.; REN, M. T. Q. AT1 Blockade Prevents Glucose-Induced Cardiac Dysfunction in Ventricular Myocytes Role of the

- AT1 Receptor and NADPH Oxidase. **Hypertension**, v. 42, p. 206-212, 2003.
- RAIMONDI, L.; DE PAOLI, P.; MANNUCCI, E. et al. Restoration of cardiomyocyte functional properties by angiotensin II receptor blockade in diabetic rats. **Diabetes**, v. 53, n. 7, p. 1927–1933, Jul. 2004.
- REGAN, T. J.; LYONS, M. M.; AHMED, S. S.; LEVINSON, G. E.; OLDEWURTEL, H. A.; AHMAD, M. R. et al. Evidence for cardiomyopathy in familial diabetes mellitus. **J Clin Invest**, v. 60, n. 4, p. 884–99, 1977.
- RON, D. Proteotoxicity in the endoplasmic reticulum: lessons from the Akita diabetic mouse. **J Clin Invest**, v. 109, n. 4, p. 443-5, 2002.
- RUBLER, S.; DLUGASH, J.; YUCEOGLU, Y. Z. et al. New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis. **American Journal of Cardiology**, v. 30, n. 6, p. 595–602, Nov, 1972.
- RUSSELL, J. C.; PROCTOR, S. D. Small animal models of cardiovascular disease: tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia, and atherosclerosis. **Cardiovasc Pathol**, v. 15, n. 6, p. 318-30, 2006.
- SAKATA, S. **Diabetes mellitus entre os idosos no município de São Paulo: uma visão longitudinal**. 2007. Universidade São Paulo, São Paulo.
- SALLES, L. F. **A prevalência de sinais iridológicos nos indivíduos com diabetes mellitus**. 2006. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SEMENIUK, L. M.; KRYSKI, A. J.; SEVERSON, D. L. Echocardiographic assessment of cardiac function in diabetic db/db and transgenic db/db-hGLUT4 mice. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 283, n. 3, p. H976-82, 2002.
- SERPILLON, S.; FLOYD, B. C.; GUPTA, R. S.; GEORGE, S.; KOZICKY, M.; NEITO, V. et al. Superoxide production by NAD(P)H oxidase and mitochondria is increased in genetically obese and hyperglycemic rat heart and aorta before the development of cardiac dysfunction. The role of glucose-6-phosphate dehydrogenase-derived NADPH. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 297, n. 1, p. 153–62, 2009.
- SHARMA, S. et al. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart. **FASEB J**, v. 18, n. 14, p. 1692-700, 2004.
- SHEN, X. et al. Cardiac mitochondrial damage and biogenesis in a chronic model of type 1 diabetes. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 287, n. 5, p. E896-905, 2004.
- SINGH, V. P. et al. Intracellular angiotensin II production in diabetic rats is correlated with cardiomyocyte apoptosis, oxidative stress, and cardiac fibrosis. **Diabetes**, v. 57, n. 12, p. 3297-306, 2008.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o diagnóstico e tratamento da insuficiência cardíaca. **Arq Bras Cardiol**, v. 79, p. 1-30, 2002.
- SONG, Y. et al. Diabetic Cardiomyopathy in OVE26 Mice Shows Mitochondrial ROS Production and Divergence Between In Vivo and In Vitro Contractility. **Rev Diabet Stud**, v. 4, n. 3, p. 159-68, 2007.
- SRINIVASAN, K.; RAMARAO, P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. **Indian J Med Res**, v. 125, n. 3, p. 451-72, 2007.
- STANLEY, W. C.; LOPASCHUK, G. D.; McCORMACK, J. G. Regulation of energy substrate metabolism in the diabetic heart. **Cardiovasc. Res**, v. 34, p. 25–33, 1997.
- STUCKEY, D. J. et al. Novel MRI method to detect altered left ventricular ejection and filling patterns in rodent models of disease. **Magn Reson Med**, v. 60, n. 3, p. 582-7, 2008.
- STRUTHERS, A. D.; MORRIS, A. D. Screening for and treating left ventricular abnormalities in diabetes mellitus: a new way of reducing cardiac deaths. **Lancet**, v. 2, 2002.
- SUAREZ, J. et al. In vivo adenoviral transfer of sorcin reverses cardiac contractile abnormalities of diabetic cardiomyopathy. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 286, n. 1, p. 68-75, 2004.
- UUSITUPA, M. I.; MUSTONEN, J. N.; AIRAKSINEN, K. E. Diabetic heart muscle disease. **Ann Med**, v. 22, p. 377-386, 1990.
- WANG, P. et al. Impact of altered substrate utilization on cardiac function in isolated hearts from Zucker diabetic fatty rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 288, n. 5, p. H2102-10, 2005.
- WARNER, J. G. Jr.; METZGER, D. C.; KITZMAN, D. W.

- et al. Losartan improves exercise tolerance in patients with diastolic dysfunction and a hypertensive response to exercise. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 33, n. 6, p. 1567–1572. May. 1999.
- WENDE, A. R.; ABEL, E. D. Lipotoxicity in the heart. **Biochim Biophys Acta**, 2009.
- WILD, S. et al. Global Prevalence of Diabetes. **Diabetes care**, v. 27, n. 5, p. 1047–1053. MAY, 2004. Disponível em: <http://www.who.int/diabetes/facts/en/diabcare0504.pdf>. Acesso em: 12 de julho de 2011.
- WOLD, L. E.; REN, J. Streptozotocin directly impairs cardiac contractile function in isolated ventricular myocytes via a p38 map kinase-dependent oxidative stress mechanism. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 318, n. 4, p. 1066-71, 2004.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications**: Reports of a WHO consultation. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, 1999.
- WRIGHT, J. J. et al. Mechanisms for increased myocardial fatty acid utilization following short-term high-fat feeding. **Cardiovasc Res**, v. 82, n. 2, p. 351-60, 2009.
- YE, G. et al. Catalase protects cardiomyocyte function in models of type 1 and type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 53, n. 5, p. 1336-43, 2004.
- YOUNG, M. E.; MCNULTY, P.; TAEGTMEYER, H. Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes: Part II: potential mechanisms. **Circulation**, v. 105, n. 15, p. 1861-70, 2002.
- YUE, P. et al. Magnetic resonance imaging of progressive cardiomyopathic changes in the *db/db* mouse. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 292, n. 5, p. H2106-2118, 2006.
- ZANNAD, F.; ALLA, F.; DOUSSET, B.; PEREZ, A.; PITT, B. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). **Circulation**, v. 102, p. 2700–2706. 2000.
- ZHAO, X. Y.; HU, S. J.; LI, J.; MOU, Y.; CHEN, B. P.; XIA, Q. Decreased cardiac sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> - ATPase activity contributes to cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. **J Physiol Biochem**, v. 62, p. 1–8, 2006.