

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

JORGE HENRIQUE AZOUBEL DAS DORES

**CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS DO ENVELHECIMENTO NO SISTEMA
CARDIOVASCULAR DE CAMUNDONGOS C57/BL6**

SEROPÉDICA
2024

JORGE HENRIQUE AZOUBEL DAS DORES

**CHARACTERIZATION OF THE EFFECTS OF AGING ON THE
CARDIOVASCULAR SYSTEM OF C57/BL6 MICE**

**CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS DO ENVELHECIMENTO
NO SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CAMUNDONGOS
C57/BL6**

Dissertação submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no
Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em
Ciências Fisiológicas, área de concentração em
Fisiologia.

Orientação:
Prof. Dr. Fernando de Azevedo Cruz Seara

**SEROPÉDICA
JANEIRO, 2024**

Universidade Federal Rural do Rio De Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com os dados fornecidos pelo autor

A695c Azoubel das Dores, Jorge Henrique, 1973-
CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS DO ENVELHECIMENTO NO
SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CAMUNDONGOS C57/BL6 / Jorge
Henrique Azoubel das Dores. - Rio de Janeiro, 2024.
60 f.

 Orientador: FERNANDO DE AZEVEDO CRUZ SEARA.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, MESTRADO MULTICÊNTRICO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS/PPGMCF , 2024.

 1. Sistema Cardiovascular. 2. Envelhecimento. 3.
Reatividade Vascular. 4. Eletrofisiologia. I. DE
AZEVEDO CRUZ SEARA, FERNANDO , 17/01/1989-, orient.
II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
MESTRADO MULTICÊNTRICO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS/PPGMCF
III. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)

This study was financed in part by the Rio de Janeiro Research Foundation (FAPERJ)

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq)

This study was financed in part by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS



TERMO Nº 103/2024 - DeptCF (12.28.01.00.00.00.48)

Nº do Protocolo: 23083.010759/2024-17

Seropédica-RJ, 01 de março de 2024.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

JORGE HENRIQUE DAS DORES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Fisiológicas**, no Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, área de Concentração em Fisiologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 07/02/2024

Prof. Dr. Fernando de Azevedo Cruz Seara (Orientador – UFRRJ)

(Orientador)

Prof. Dra. Raiana Andrade Quintanilha Barbosa (Membro Externo – Instituto Nacional de Cardiologia – Ministério da Saúde)

Prof Dr. Wellington da Silva Côrtes (Membro Interno – UFRRJ)

Documento não acessível publicamente

(Assinado digitalmente em 01/03/2024 15:53)

WELLINGTON DA SILVA CORTES

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptCF (12.28.01.00.00.00.48)

Matrícula: ###69#0

(Assinado digitalmente em 01/03/2024 14:14)

RAIANA ANDRADE QUINTANILHA BARBOSA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.457-##

(Assinado digitalmente em 01/03/2024 14:13)

FERNANDO DE AZEVEDO CRUZ SEARA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.497-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **103**, ano: **2024**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **01/03/2024** e o código de verificação: **dde3c0bbf0**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu Senhor Deus, que me guiou, sustentou e suportou, antes e durante toda a jornada. Toda honra e toda glória cabem somente a Ele.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que acreditou que eu poderia chegar até aqui, sem eu mesmo acreditar em mim mesmo.

Agradeço ao meu orientador, por ter tido paciência e boa vontade, e me nortear para me esforçar ao máximo. E embora eu tenha visto não ser o mais apto, o mais rápido, nem o mais inteligente, ele não desistiu de mim.

RESUMO

Com a queda na taxa de natalidade e aumento da expectativa de vida, a população global está envelhecendo. O envelhecimento é um fenômeno biológico ubíquo e caracterizado pela deterioração dos mecanismos fisiológicos de regulação da homeostase. Por isso, o envelhecimento é o fator de risco dominante para o desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas, incluindo aquelas que afetam o sistema cardiovascular. No entanto, os mecanismos subjacentes ao envelhecimento cardiovascular ainda são pouco compreendidos. Neste contexto, o objetivo deste projeto é avaliar as propriedades eletrofisiológicas do coração *in vivo* e a função vascular *ex vivo* em camundongos envelhecidos e adultos. Para isso, foram utilizados camundongos C57Bl/6 adultos (4-6 meses de idade) e envelhecidos (22-24 meses de idade). As propriedades eletrofisiológicas basais e sob condições de estresse, induzidas por dobutamina e cafeína, foram avaliadas por eletrocardiografia e ecocardiograma. Após a eutanásia, a função vascular foi avaliada em um modelo *ex vivo*, através da reatividade vascular em anéis de aorta. Amostras biológicas de coração e aorta foram coletadas para mensurar a expressão gênica de marcadores de senescência celular. Todos os dados foram analisados estatisticamente utilizando o teste T de Student, e os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Este estudo tem o potencial de fornecer uma compreensão valiosa sobre os mecanismos moleculares e celulares subjacentes ao envelhecimento cardiovascular, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para doenças cardiovasculares relacionadas à idade.

Palavras-chave: envelhecimento; propriedades eletrofisiológicas; senescência celular; reatividade vascular; expressão gênica.

ABSTRACT

With the decline in birth rate and increase in life expectancy, the global population is aging. Aging is a ubiquitous biological phenomenon characterized by the deterioration of physiological mechanisms of homeostasis regulation. Therefore, aging is the dominant risk factor for the development of chronic-degenerative diseases, including those that affect the cardiovascular system. However, the mechanisms related to cardiovascular aging are still poorly understood. Thus, the objective of this project is to evaluate the electrophysiological properties of the heart in vivo and vascular function ex vivo in aged and adult mice. For this, adult (4-6 months old) and aged (22-24 months old) C57Bl/6 mice will be used. Basal electrophysiological properties and under stress with dobutamine and caffeine will be evaluated by electrocardiography. After euthanasia, vascular function will be evaluated in an ex vivo model, through vascular reactivity in aorta rings. Biological samples of heart and aorta will be collected to measure the gene expression of cellular senescence markers. All data will be compared by Student's T-test and the results will be considered significant when $p < 0.05$. This study has the potential to provide valuable insight into the molecular and cellular mechanisms underlying cardiovascular aging, contributing to the development of therapeutic strategies for age-related cardiovascular diseases.

Key-words: aging; electrophysiological properties; cellular senescence; vascular reactivity; gene expression.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: A evolução do gasto público da União, na área de saúde, para o período de 2008-2017. (R\$ bilhões constantes de 2017).	20
Tabela 2: Taxas de crescimento da despesa em saúde.	20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Envelhecimento no Brasil. A expectativa de vida dos brasileiros segue aumentando. No final do século 19, a estimativa de vida era de 34 anos. Nos anos 2000, essa média deu um salto, com uma pessoa no país vivendo até os 70 anos. Já a projeção feita pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística para 2060 é de que pessoas no Brasil possam viver em média até os 81 anos. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE.

14

Figura 2: Comparação dos intervalos RR, PR, QRS, QT e QTc entre indivíduos jovens e envelhecidos. Os dados são apresentados como média \pm DP. * $P < 0,05$ indica diferença significativa entre os dois grupos; ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ indicam níveis crescentes de significância estatística. Fonte: Resultados do eletrocardiograma basal

37

Figura 3: Resultado do ECG- estresse indicando que não houve diferença significativa entre os grupos jovem e envelhecido. onde no eixo y 0: ausência de eventos; 1: batimentos ventriculares prematuros ou extra-sístoles; 2: bigeminismo; 3: taquicardia ventricular; 4: fibrilação ventricular. fonte: resultado ecg-estresse.

38

Figura 4: Comparação da fração de ejeção, volume sistólico final, fração de encurtamento, volume diastólico final, débito sistólico e razão da onda E/A entre indivíduos jovens e envelhecidos. Os dados são apresentados como média \pm DP. * $P < 0,05$ indica diferença significativa entre os dois grupos; ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ indicam níveis crescentes de significância estatística. Fonte: Resultados da Ecocardiografia.

40

Figura 5: Apesar do papel crucial da P21 na regulação do ciclo celular (Harper et al., 1993) e da MMP2 na remodelação da matriz extracelular (Wang et al., 2018), não foram observadas diferenças significativas na expressão desses genes entre os dois grupos. Isso pode ser atribuído a mecanismos compensatórios que atuam para preservar a função cardíaca apesar das mudanças fisiológicas associadas ao envelhecimento (Smith et al., 2008). Fonte: Comparação da expressão gênica dos marcadores de senescência cardíaca P21 e MMP2 entre grupos jovens e envelhecidos.

43

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

±	Mais ou menos.
a. C.	antes de Cristo.
ABRINQ	Fundação Abrinq pelos Direitos da Criança e do Adolescente
ACh	Acetilcolina
ATM	Do inglês, ataxia-telangiectasia, mutado
ATR	Do inglês, ataxia-telangiectasia e Rad3.
BH4	Tetrahidrobiopterina.
CDKN1A	Gene inibidor de quinase dependente de ciclina 1A
cDNA	DNA complementar.
CGIAE	Coordenação Geral de Informações e Análises Epidemiológicas.
cGMP	Guanosina monofosfato cíclico.
CID-10	Décima Revisão da Classificação Internacional de Doenças e de Problemas Relacionados à Saúde.
COVID-19	Infecção respiratória causada pelo novo coronavírus SARS-CoV-2.
d. C.	depois de Cristo.
Dasis	Diretoria de Apoio Administrativo ao Sistema de Saúde.
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Brasil.
DII	Doença inflamatória intestinal.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
ECG-basal	Eletrocardiografia basal.
eNOS	Óxido Nítrico sintase endotelial.
FE	Fração de ejeção.
FeSS	Fenótipo de secreção associado à senescência.

GAPDH	Gliceraldeído fosfato desidrogenase.
HMD	Human Mortality Database.
Hz	Hertz, unidade de frequência medida em ciclos por segundo.
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
il-1 β	Interleucina-1 beta.
IL-6	Interleucina 6.
IL-8	Interleucina 8.
kHz	Unidade de frequência de mil Hertz.
l/min	litro por minuto.
mg/kg	miligrama por quilograma.
MHz	Megahertz, unidade de frequência de 1 milhão de hertz.
MMP's	Metaloproteinases.
MMP2	Gene metaloproteinase 2.
mRNA	RNA mensageiro.
MS	Ministério da Saúde.
N experimental	Número de amostras experimentais
ng	Nanograma, a bilionésima parte do grama.
nM	Nanômetro, é a bilionésima parte de um metro.
NO	Óxido Nítrico.
OMS	Organização Mundial da Saúde.
p <	Valor padrão menor que.
P21	Proteína conhecida por seu papel na regulação do ciclo celular
pH	Potencial Hidrogeniônico.
PR	Intervalo de tempo entre o início da despolarização atrial e o início da despolarização ventricular.
qPCR	Do inglês Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real.

SAHF	Do inglês focos de heterocromatina associados à senescência.
SASP	Do inglês fenótipo secretor associado à senescência.
SIM	Sistema de Informação de Mortalidade.
Sinasc	Sistema de Informação sobre Nascidos Vivos.
SNP	Nitroprussiato de sódio.
STN	Secretaria do Tesouro Nacional.
SUS	Sistema Único de Saúde brasileiro criado pela Constituição Federal de 1988.
SVS	Secretaria de Vigilância e Saúde.
TBM	Taxa bruta de mortalidade
TBN	Taxa bruta de natalidade
β -gal	Beta-galactosidase.
$\mu\text{g/kg}$	micrograma por quilograma.
μM	Micrómetro, é a milionésima parte de um metro.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	14
1.1 - Aspectos demográficos do envelhecimento e impactos na saúde pública.	14
1.2 - Disfunções cardiovasculares no envelhecimento.	20
1.3 - Disfunções vasculares e alterações estruturais no sistema vascular no envelhecimento.	23
1.4 - Papel da senescência nas disfunções fisiológicas do envelhecimento.	25
2 - JUSTIFICATIVA	28
3 - OBJETIVOS	29
3.1- Objetivo geral.	29
3.2 - Objetivos específicos.	29
4 - METODOLOGIA	30
4.1 - Protocolo experimental:	30
4.2 - Eletrocardiografia basal e de estresse.	30
4.3 - Ecocardiografia.	30
4.4 - Reatividade vascular.	31
4.5 - Expressão gênica.	31
4.6 - Análise estatística.	32
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 - Eletrocardiografia basal (ECG-basal).	33
5.1 - Eletrocardiografia estresse (ECG-estresse)	37
5.2 - Ecocardiografia	38
5.3 - Reatividade vascular	40
5.4 - Expressão de marcadores de senescência	42
6 - CONCLUSÃO	45
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - ASPECTOS DEMOGRÁFICOS DO ENVELHECIMENTO E IMPACTOS NA SAÚDE PÚBLICA.

O ser humano nunca viveu tanto quanto na atual geração (Figura 1), a expectativa de vida é a principal métrica para avaliar a saúde da população (IBGE, 2018). Mais ampla do que a métrica estreita da mortalidade infantil, que se concentra apenas na mortalidade infantil, a expectativa de vida capta a mortalidade no curso da vida. Ela nos diz a idade média de óbito em uma população. Parte deste aumento na expectativa de vida se deve à queda na mortalidade infantil (Figura 2). Em relação às sociedades pré-modernas (antes da industrialização), a maioria dos dados são arqueológicos e históricos, com base em ossadas. De acordo com esses dados, a mortalidade infantil foi estimada entre 40-50% durante a era do Ferro (1200 aC -1000 dC): desde o Vale Nazca no Peru entre 400 aC e 550 dC, Roma antiga (200 aC – 200 dC), Maiorca (Era do Ferro, 400 aC – 200 aC), até o Japão Medieval (1300 – 1400).

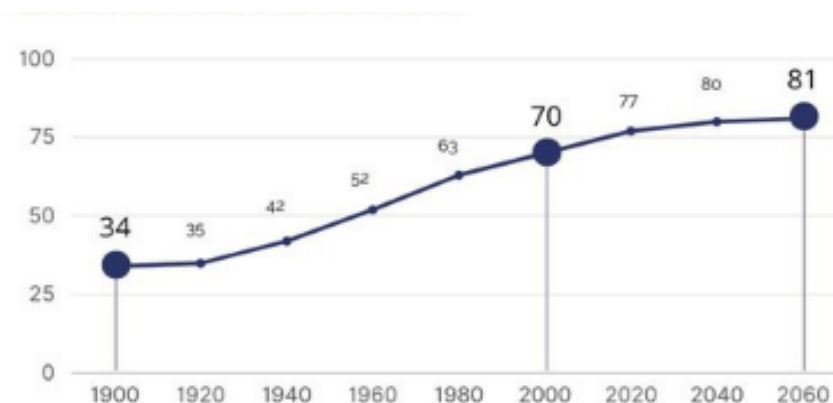


Figura 1: Envelhecimento no Brasil. A expectativa de vida dos brasileiros segue aumentando. No final do século 19, a estimativa de vida era de 34 anos. Nos anos 2000, essa média deu um salto, com uma pessoa no país vivendo até os 70 anos. Já a projeção feita pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística para 2060 é de que pessoas no Brasil possam viver em média até os 81 anos. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE.

Pouco mudou na transição da idade média para a era moderna (1453 – 1789). O primeiro país a coletar esse tipo de dado foi a Suécia, entre 1750 e 1780, com mortalidade infantil em torno de 40% (HMD, 2023). No mesmo período, a Bavária (Alemanha) e a França apresentavam números similares, entre 40-50%. Ou seja, em todos os cantos do mundo (pelo menos), 50% das crianças morriam por alguma doença. No entanto, acredita-se que essas estimativas são conservadoras. Levando em conta a elevada taxa de natalidade, se cada casal

tivesse 4 filhos, a população dobraria a cada geração. (No entanto, nessa época o crescimento populacional era estável. Após a industrialização, a taxa de mortalidade infantil caiu progressivamente até atingir 19,5% na metade do século 20. Desde então, houve queda pronunciada até os dias de hoje, ainda que em muitas nações, a taxa de mortalidade possa ser >10% (Angola). Vários fatores contribuíram para o envelhecimento da população. O acesso mais amplo ao conhecimento, facilitado pela internet, permitiu que as pessoas aprendessem mais sobre a prevenção de doenças e a importância de uma alimentação saudável (IBGE, 2022). Além disso, melhorias nas condições de vida, incluindo saneamento adequado e acesso à água tratada, também desempenharam um papel crucial; a melhoria nutricional e a elevação dos níveis de higiene pessoal foram outros fatores importantes que contribuíram para o aumento da expectativa de vida; como também, melhores condições ambientais, no trabalho e nas residências resultaram em uma população mais saudável e, conseqüentemente, mais longeva (KALACHE; VERAS; RAMOS, 1987). Essas mudanças, juntamente com a diminuição da taxa de fecundidade e o aumento da longevidade, resultaram em um rápido envelhecimento da população no Brasil, como indicado pelo Censo de 2022 (IBGE, 2022; IBGE, 2023).

Ao mesmo tempo em que a expectativa de vida tem aumentado, a taxa de natalidade tem diminuído progressivamente (Figura 3). O período pós-segunda guerra mundial vivenciou o último crescimento na taxa de natalidade, caracterizando a geração baby-boomer, nos anos 1960. Nesta época, a taxa de fertilidade era de aproximadamente 5,3 filhos por mulher. Na virada do milênio, a taxa de fertilidade já havia atingido 2,7 filhos por mulher. Hoje, este parâmetro é de apenas 2,3 filhos. De acordo com a meta 3.2 dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, o Brasil precisa, até 2030, enfrentar as mortes evitáveis de recém-nascidos e crianças menores de 5 anos, objetivando reduzir a taxa da mortalidade infantil para no máximo cinco por 1.000 nascidos vivos e a mortalidade na infância para no máximo oito por 1.000 nascidos vivos.

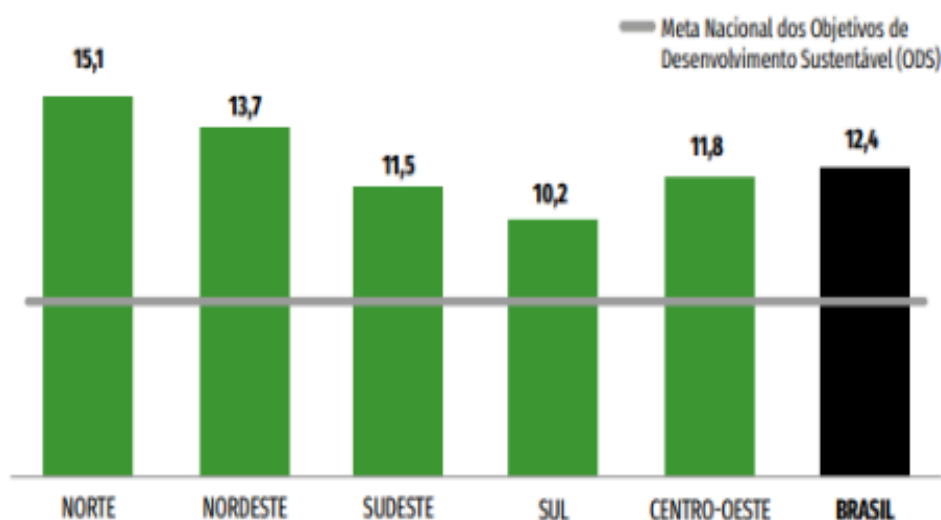


Figura 2: Taxa de mortalidade infantil no Brasil. De acordo com o *Cenário da Infância e Adolescência 2021*, da Fundação Abrinq, a taxa de mortalidade infantil (menores de 1 ano), é de 12,4 para cada 1.000 nascidos vivos e a mortalidade na infância (menores de 5 anos), é de 14,4 para cada 1.000 nascidos vivos. Fonte: Ministério da Saúde (MS)/Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS)/ Diretoria de apoio Administrativo ao Sistema de Saúde (DASIS)/ Sistema de Informação de Nascidos Vivos (SINASC)e/ Secretaria de Vigilância em Saúde/ Coordenação Geral de Informações e Análises Epidemiológicas (CGIAE)/ Sistema de informações de Mortalidade (SIM).

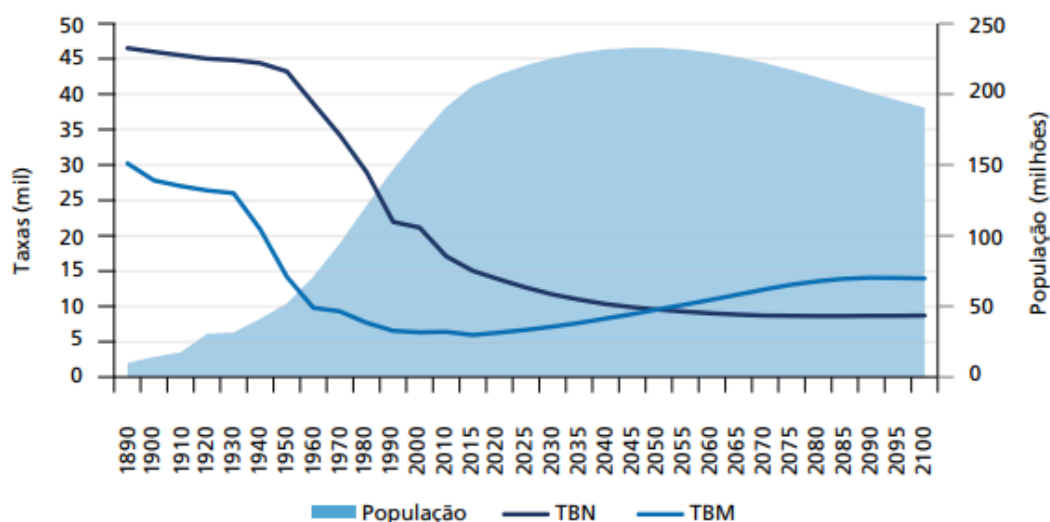


Figura 3: Brasil: Comportamento das taxas de natalidade e mortalidade e a evolução da população (1890 – 2100). Fonte: United Nations, DESA, Population Division. Licenced under Commons license CC BY 3.0 IGO. United Nations, DESA, Population Division. World Population Prospects, 2022. <http://popyulation.un.org/wpp/>.

O resultado desse desequilíbrio demográfico é o envelhecimento populacional. Em todo o mundo, a proporção de pessoas com 60 anos ou mais está aumentando de forma mais

rápida do que qualquer outra faixa etária (IBGE, OMS, 2023) (Figura 4). Em 2025, a população de envelhecidos será de cerca de 1,2 bilhão de pessoas. Até 2050, esse número chegará a dois bilhões, com 80% dos envelhecidos vivendo em países em desenvolvimento (OMS, 2002). O leste e o sudeste da Ásia abrigam a maior parcela (37%) da população idosa do mundo em 2019 e espera-se que continue assim em 2050. A segunda maior parcela de envelhecidos vive atualmente na Europa e na América do Norte (28,5%), que deverá diminuir para 19,1% em 2050. A Ásia Central e do Sul abrigam um sexto da população idosa global (16,9%) em 2019, número que deverá aumentar para um quinto (21%) em 2050 (ONU, 2024). Entre 2019 e 2050, a América Latina e o Caribe verão um aumento em sua participação na população idosa mundial de 8% em 2019 para 25% em 2050 (PAHO, 2024). A África Subsaariana e o Norte da África e a Ásia Ocidental também experimentarão um aumento na proporção de envelhecidos, de 5 para 7 por cento e de 4 para 6 por cento, respectivamente (TELLES; BORGES, 2013). Este fenômeno tem levado a uma reorganização dos sistemas públicos e privados de saúde, pois o envelhecimento é o fator de risco ubíquo e dominante para o desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas (NASRI, 2008).

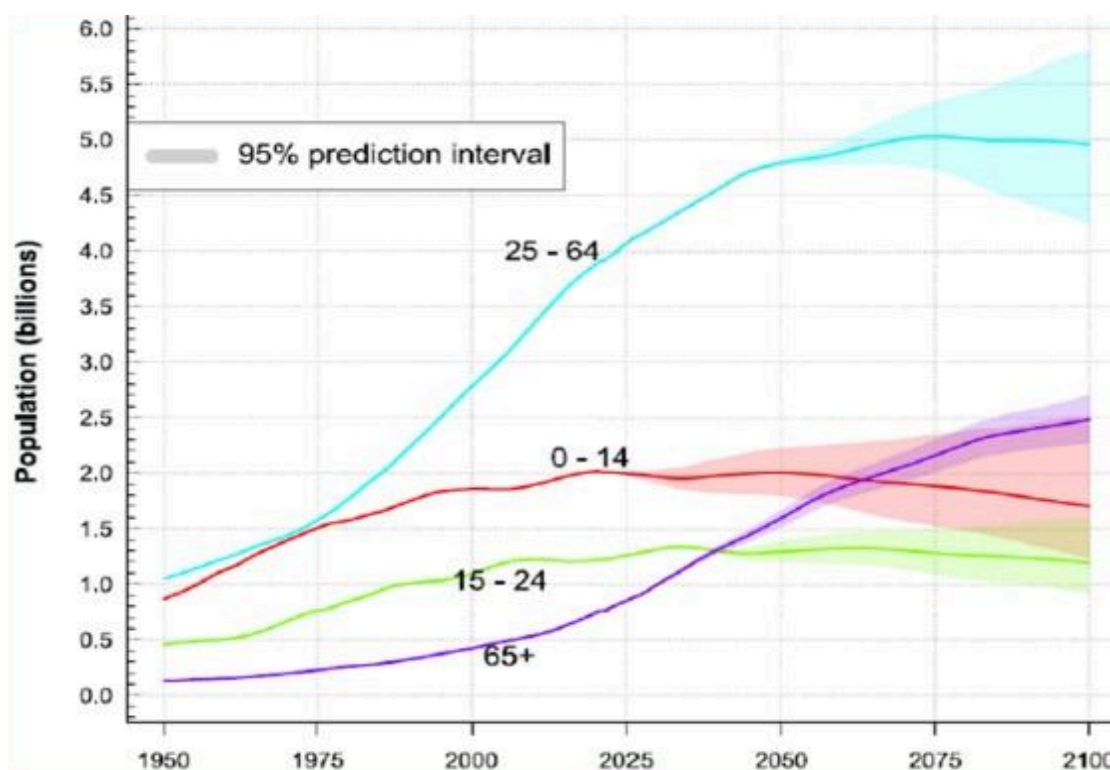


Figura 4: Desequilíbrio demográfico acerca do envelhecimento populacional. Fonte: Organização Mundial da Saúde (OMS), 2023.

A população brasileira também vem sofrendo, nas últimas cinco décadas, transições demográficas decorrentes de mudanças nos níveis de mortalidade e fecundidade, em ritmos nunca vistos anteriormente. Essas mudanças fizeram com que a população passasse de um regime demográfico de alta natalidade e alta mortalidade para outro, primeiramente com baixa mortalidade e, a seguir, baixa fecundidade. De acordo com o censo demográfico gerado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), enquanto no ano de 2021 a população idosa (≥ 60 anos) correspondia a cerca de 10% da população total, em 2060 estima-se que essa proporção aumentará para 25% (IBGE, 2018). Estes dados foram compilados pelas Nações Unidas e representados na Figura 5.

Embora seja um reflexo positivo das melhorias nas condições de vida e na assistência médica, o envelhecimento traz desafios relevantes, pois é o fator de risco dominante para o desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas. No Brasil, cerca de 70% dos envelhecidos possuem pelo menos uma doença crônico-degenerativa, sendo as doenças do aparelho circulatório (CID 10 – Capítulo IX) as principais causas de mortalidade em envelhecidos (DATASUS, 2023). Além disso, esse grupo de doenças é a principal causa de internações entre envelhecidos, totalizando 748.979 autorizações para internação hospitalar, o que corresponde a 62,2% do total de internações para o Capítulo IX em 2022 (DATASUS, 2023).

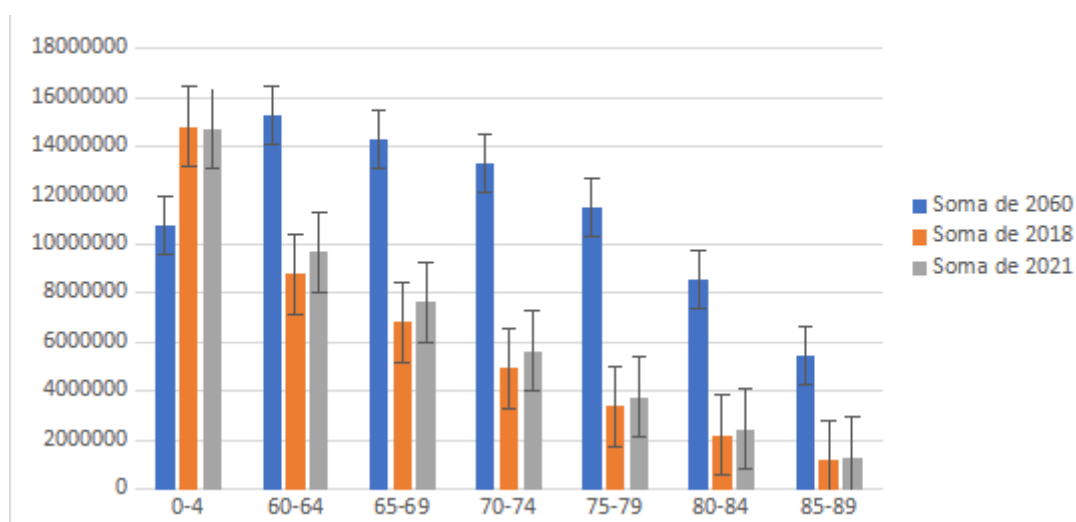


Figura 5: Projeção do aumento da população idosa ≥ 60 anos. Fonte: IBGE/Diretoria de Pesquisas. Coordenação de População e Indicadores Sociais. Gerência de Estudos e Análises da Dinâmica Demográfica.

Dessa forma, o envelhecimento populacional impõe desafios hercúleos a todas as esferas do planejamento governamental, sobretudo àqueles referentes às políticas sociais e de saúde. Particularmente, como 73% dos indivíduos com 60 anos ou mais, não possuem plano de saúde, o envelhecimento populacional será acompanhado por um aumento nos gastos ambulatoriais e hospitalares do Sistema Único de Saúde em cerca de 37% e 47%, respectivamente (LIMA-COSTA; BARRETO; GIATTI, 2003; CARNEIRO; CAMPINO; LEITE, 2013). Do ponto de vista monetário, as doenças do aparelho circulatório impõem os maiores custos ambulatoriais e hospitalares ao Sistema Único de Saúde, com um valor médio total por internação de R\$ 3.030,96. Na população com faixa etária de 60 anos ou mais, o valor das internações por causas circulatórias é ainda maior, atingindo R\$ 3.509,26 (60-69 anos) e R\$ 3.236,96 (70-79 anos) (DATASUS, 2023).

Dessa forma, em 2022, foram gastos R\$ 2,33 bilhões no tratamento de doenças cardiovasculares apenas com pacientes de 60 anos ou mais, cerca de 1,8 vezes maior do que o valor gasto para todas as demais faixas etárias juntas (0 a 59 anos, R\$ 1,29 bilhões) (DATASUS, 2022). Para se ter uma noção da magnitude desses números, esse valor é maior do que o total gasto em todas as faixas etárias juntas para o tratamento das doenças do Capítulo I (Algumas doenças infecciosas e parasitárias – R\$ 2,30 bilhões) ou do Capítulo II (Neoplasias – R\$ 2,11 bilhões). Esse cenário deve se agravar com o envelhecimento da população brasileira. Conforme o relatório da Secretaria do Tesouro Nacional em 2019, o envelhecimento da população brasileira está pressionando o orçamento na área da saúde, o que demandará investimentos adicionais de R\$ 50 bilhões até 2027, considerando assistência farmacêutica, farmácia popular, e atenção de média e alta complexidade (Tabela 1 e 2) (STN, 2019). É importante lembrar que os impactos do envelhecimento populacional vão muito além da logística e orçamento em saúde, pois envolvem a sobrecarga do sistema previdenciário, a queda da produtividade do país, além das alterações profundas no planejamento e estrutura familiar, devido ao grau de dependência dos envelhecidos. No Brasil, temos motivos para acreditar que os impactos do envelhecimento serão ainda maiores devido à elevada desigualdade social em comparação com países europeus e norte-americanos.

Tabela 1: A evolução do gasto público da União, na área de saúde, para o período de 2008-2017. (R\$ bilhões constantes de 2017).

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Saúde	50,8	57,4	66,2	74	83,5	89,4	100,4	106,9	115,9	117,1
Atenção Básica	8,1	8,4	9,7	11	13,4	13,8	16,8	17,7	18,6	18,5
MAC	21,9	24,7	27	30,5	34,1	34,7	39,2	40,4	42,8	45,1
Assistência Farmacêutica	4,1	4,8	5,3	6,4	7,4	8,8	9,7	11	13,1	11,2
Vigilância em Saúde	2,3	2,5	2,7	3,6	3,8	4,5	4,8	4,8	6,9	6,8

Fonte: STN, 2017.

Tabela 2: Taxas de crescimento da despesa em saúde.

	Var. Nominal(% aa.)	Var. real (% aa.)
	2008-2017	2008-2017
Saúde	9,70%	3,10%
Atenção Básica	9,60%	3,00%
MAC	8,40%	1,90%
Assistência Farmacêutica	11,80%	5,10%
Vigilância em Saúde	12,70%	6,00%

Fonte: STN, 2018.

Devido a este cenário preocupante, o Ministério da Saúde incluiu a saúde do envelhecido como item prioritário na agenda de saúde do País. A política nacional de saúde da pessoa idosa objetiva, no âmbito do SUS, garantir atenção integral à Saúde da população idosa, enfatizando o envelhecimento saudável e ativo baseado no paradigma da capacidade funcional, abordada de maneira multidimensional (VERAS, R. 2004). Mas o efeito prático ainda não foi observado. O peso assistencial ainda é preponderante e o notável grau de desarticulação dentro do sistema de saúde dificulta a operacionalização de qualquer lógica baseada em uma avaliação capaz de abranger os múltiplos aspectos da vida do envelhecido (VERAS & CALDAS, 2004).

1.2 - DISFUNÇÕES CARDIOVASCULARES NO ENVELHECIMENTO.

De acordo com (SOUZA *et al.*, 1998) o processo de envelhecimento está ligado a mudanças estruturais no coração. Conforme enfatizado no tópico anterior, as doenças cardiovasculares são as principais causas de morbidade e mortalidade entre envelhecidos. Apesar de alguns parâmetros cardiovasculares dependerem diretamente da idade, na maioria

dos casos, o declínio do desempenho cardiovascular não é apenas uma consequência do aumento da idade, mas sim da agregação de problemas cardiovasculares e não cardiovasculares (FERRARI, 2003). De fato, o envelhecimento está associado a uma deterioração progressiva nos mecanismos fisiológicos que regulam a homeostase cardiovascular, que consiste em um complexo processo biológico relacionado a fatores intrínsecos, como apoptose (morte celular programada), e extrínsecos, como doenças e estilo de vida, levando a um risco aumentado de complicações de saúde e doenças.

Durante o envelhecimento, há redução progressiva na quantidade de cardiomiócitos devido à apoptose e necrose causadas por diversos estímulos estressores, como danos oxidativos, estresse de retículo e disfunção mitocondrial. Este cenário é agravado pela capacidade regenerativa negligenciável do coração humano. De fato, evidências baseadas na marcação com carbono 14 indicaram que o coração de um indivíduo adulto se regenera apenas 1% ao ano, embora evidências com camundongos tenham indicado que a taxa de renovação de cardiomiócitos possa chegar até 15% após lesões severas, como o infarto agudo do miocárdio (HSIEH *et al.*, 2007; BERGMANN *et al.*, 2009). Com o processo natural de envelhecimento, observa-se uma diminuição ainda mais acentuada na renovação dos cardiomiócitos, reduzindo-se a uma taxa estimada de 0,45% ao ano (BERGMANN *et al.*, 2009). Isto se deve à capacidade mitótica limitada dos cardiomiócitos, que são considerados células pós-mitóticas. Além de uma proliferação limitada de cardiomiócitos, supõe-se que o coração possui uma população negligenciável de células-tronco, ainda não identificada no coração humano, que seria incapaz de conduzir a renovação dos cardiomiócitos de maneira satisfatória (LITVIŇUKOVÁ *et al.*, 2020). Frente à limitada capacidade de regeneração, duas adaptações podem ser notadas no arcabouço celular do coração ao longo do envelhecimento: aumento do volume dos cardiomiócitos remanescentes e na deposição de colágeno na matriz extracelular (ANDERSON *et al.*, 2019).

O principal estímulo para a hipertrofia dos cardiomiócitos parece ser a senescência celular decorrente da instabilidade genômica induzida por danos oxidativos, sobretudo na região dos telômeros. Por ser irreparável, o dano nos telômeros desencadeia uma resposta celular de reparo a danos ao DNA, caracterizada pela expressão de proteínas inibidoras de quinases dependentes de ciclinas e beta-galactosidase associada à senescência (SILVA *et al.*, 2009). Cardiomiócitos senescentes também apresentam aumentos na expressão de proteínas do citoesqueleto (SANTOS; TUCCI, 2007), ao passo que há redução na expressão das

proteínas nucleares lamininas A e C (CABANELAS; MARTINS, 2015). Isto reduz a fluidez do sarcolema, ao passo que torna o núcleo celular mais instável e suscetível a danos genômicos. Além disso, um dos resultados principais é o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca (BAZAN, 2020). Este espessamento da parede ventricular esquerda aumenta progressivamente com a idade e em ambos os sexos (LAKATTA *et al.*, 2003), e reflete-se em um aumento moderado do peso do coração (FERRARI, A., 2003).

Outra alteração marcante é o aumento na deposição de colágeno, caracterizando o quadro de fibrose. Particularmente, o colágeno torna-se mais proeminente devido ao aumento dos seus depósitos locais e ao aumento do mesmo nas ligações cruzadas entre fibras adjacentes, o que dá origem a um processo generalizado de fibrose (CHEITLIN, 2003; LAKATTA, 2003). No entanto, a relação miócito/colágeno no coração permanece constante devido ao aumento do tamanho dos miócitos (FERRARI, 2003; LAKATTA, 2003).

Como resultado destas alterações, a função cardíaca fica prejudicada. O aumento resultante da pressão diastólica ventricular prolonga o tempo de relaxamento isovolumétrico, e prejudica o enchimento diastólico precoce, que é altamente dependente do fluxo sanguíneo passivo (HERBIG *et al.*, 2004). O miocárdio se torna menos complacente devido à fibrose intersticial, também retardando a fase de relaxamento isovolumétrico (BONOW, 2011). O declínio no relaxamento cardíaco prejudica a fase de enchimento ventricular, que passa a depender cada vez mais da contração atrial. Como resultado, o enrijecimento das paredes do coração relacionado à idade, impede o ventrículo esquerdo de se encher eficazmente, isto pode ser observado no registro de ecocardiografia, através da inversão na razão das ondas E/A, que correspondem, respectivamente, às fases de enchimento ventricular precoce e tardio (FLEG *et al.*, 1995). O prolapso da válvula atrioventricular e a regurgitação sanguínea também surgem como consequência da disfunção diastólica ventricular, levando ao aumento atrial (HERBIG *et al.*, 2004).

Por outro lado, a função sistólica de repouso é pouco alterada, pois a fração de ejeção permanece em torno de 65%. Mesmo assim, a reserva inotrópica costuma ser reduzida, conforme evidenciado em testes ergométricos e após injeção de agonistas β -adrenérgicos (FLEG *et al.*, 1995). Porém, em situações de maior demanda, seja fisiológica ou patológica, os mecanismos compensatórios podem falhar, resultando em alterações funcionais clinicamente mais relevantes em eventos isquêmicos cardiovasculares (HOGAN, 2005; JANI, 2006). Portanto, apesar do aumento no volume diastólico final máximo, não há redução

proporcional no volume sistólico, consistente com desacoplamento do mecanismo de Frank-Starling.

Outras alterações menos compreendidas no coração com a idade são uma diminuição no número e na função das células do marcapasso nodal, e sinoatrial e um aumento concomitante nas anormalidades de condução. Isso reduz a variabilidade da frequência cardíaca e a frequência cardíaca máxima (PASCHOAL *et al.*, 2006), de modo que a reserva cronotrópica do coração envelhecido é também atenuada. Além de acréscimo de adiposidade, espessamento fibroso, substituição do tecido muscular por tecido conjuntivo, e calcificação do anel valvar (PASI, 2006).

1.3 - DISFUNÇÕES VASCULARES E ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS NO SISTEMA VASCULAR NO ENVELHECIMENTO.

O envelhecimento é um processo biológico que também afeta o sistema vascular. O efeito da idade é mais evidente nas grandes artérias elásticas. As principais alterações incluem aumento da rigidez (diminuição da distensibilidade), do diâmetro do lúmen e da espessura médio-intimal da parede do vaso (OLIVEIRA, 2022). Na mesma linha, pode haver migração e/ou proliferação das células musculares lisas vasculares, com infiltração no espaço subendotelial, resultando assim em um aumento dos depósitos de colágeno, elastina, e proteoglicanos, bem como uma presença anormal de leucócitos e macrófagos (OLIVEIRA, 2022).

Conforme descrito por (JOHNSON, 2001), a rigidez das artérias é regulada por um equilíbrio delicado entre a síntese e a degradação de elastina e colágeno. A desorganização ou perda de elastina, substituída por colágeno, resulta em um aumento na rigidez da parede arterial. Assim, qualquer perturbação nesse sistema, seja por substâncias pró-inflamatórias (IL-6, TNF-alfa; IL-1, IL-4, IL-10), alterações na inibição ou ativação de metaloproteinases (MMP's), ou sobrecarga de pressão, pode levar à superprodução de colágeno e/ou diminuição da elastina, reduzindo assim a distensibilidade vascular. Portanto, o enrijecimento arterial ocorre por meio de uma interação complexa entre adaptações dinâmicas e estáveis que envolvem elementos celulares e a matriz extracelular da parede vascular.

Além das alterações estruturais, a regulação do tônus vascular também é prejudicada com o envelhecimento. Este cenário é provocado, principalmente, por disfunções endoteliais.

Estudos em humanos e experimentais concordam que, a diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), um mediador chave de vaso relaxamento e processos antiaterogênicos, está subjacente à disfunção endotelial dependente da idade (TSCHUDI, 1996; TADDEI *et al.*, 2001). A biodisponibilidade reduzida do óxido nítrico NO, um gás produzido pelo endotélio vascular, é uma característica marcante da disfunção endotelial relacionada à idade. O óxido nítrico é um regulador essencial do tônus vascular, mediando a vasodilatação, inibindo a agregação plaquetária e promovendo propriedades anti-inflamatórias (TADDEI *et al.*, 2001). A redução da biodisponibilidade do NO pode ocorrer devido à síntese diminuída ou ao aumento da degradação do NO. Em condições normais, a óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) produz NO a partir da L-arginina na presença do cofator tetrahidrobiopterina (BH4). Dados recentes sugerem uma alteração na função da eNOS relacionada à idade, denominada desacoplamento da eNOS (SANTHANAM, 2008). No entanto, com o envelhecimento, ocorre uma alteração na função da eNOS. Esse resultado resulta na produção aumentada de espécies reativas de oxigênio pela eNOS em vez de NO, contribuindo ainda mais para o estresse oxidativo e para a disfunção endotelial (SANTHANAM, 2008). Este efeito deriva, pelo menos em parte, de uma diminuição na disponibilidade de BH4, resultando em liberação prejudicada de NO e aumento da produção do ânion superóxido altamente pró-oxidante (O₂⁻) (DELP, 2008). Além disso, a disponibilidade do substrato de eNOS, L-arginina, também pode restringir a produção de NO. Nesse sentido, a atividade da arginase, enzima que compete com a eNOS pela L-arginina, aumenta com a idade, proporcionando um mecanismo plausível para a diminuição da síntese de NO (SANTHANAM, 2008).

Coletivamente, estas alterações favorecem o aumento do tônus vascular e da resistência vascular sistêmica, ao passo que a complacência vascular é reduzida. Nesse contexto, a aorta perde sua flexibilidade, e há um aumento na resistência à ejeção de sangue pelo ventrículo esquerdo. Com uma aorta menos flexível, a velocidade da onda de pulso aumenta em seu movimento para a periferia, assim como a velocidade de reflexão no sentido oposto (CHEITLIN, 2003; LAKATTA, 2003). Isto favorece o aumento da pós-carga do ventrículo esquerdo e, conseqüentemente, da pressão arterial sistólica. Por outro lado, a pressão arterial diastólica é atenuada, resultando no alargamento da amplitude da onda pulsátil em envelhecidos. Além disso, o aumento progressivo da pressão arterial sistólica favorece o desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica, doença com elevada prevalência nesta população.

1.4 - PAPEL DA SENESCÊNCIA NAS DISFUNÇÕES FISIOLÓGICAS DO ENVELHECIMENTO.

Até o momento, os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na progressão das disfunções cardiovasculares do envelhecimento são pouco conhecidos. Originalmente, o envelhecimento é um processo biológico caracterizado pela deterioração progressiva das funções fisiológicas do organismo. A perda de função e o acúmulo de dano tecidual estão relacionados ao aumento do desequilíbrio oxidativo, o que também aumenta o risco de desenvolver comorbidades e a susceptibilidade à morte (PARADIES *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2018). O acúmulo de danos celulares e moleculares, sobretudo no DNA, é o principal mecanismo fisiopatológico envolvido. Isto é constantemente influenciado por fatores endógenos (e.g., predisposição gênica e exposição a doenças crônica) e ambientais (e.g., poluição e radiação ultravioleta) que provocam diversas disfunções celulares e aumentam os níveis de estresse oncogênico. Para agravar esta condição, há deterioração progressiva dos mecanismos fisiológicos de reparo e regeneração.

Diante do acúmulo de danos no DNA, as células dão início à sinalização para indução de senescência, um estado alostático caracterizado pela interrupção do ciclo celular e mudanças no padrão de expressão gênica. A senescência é uma adaptação complexa do organismo aos estressores ambientais e internos, e desempenha um papel fundamental no envelhecimento celular e na preservação da homeostase. A deflagração da senescência envolve o recrutamento de vias de sinalização iniciadas pelas proteínas cinases ATM (do inglês, ataxia-telangiectasia mutated), que é ativada em resposta a danos no DNA, como quebras de dupla hélice, resultantes de radiações ionizantes e outros agentes genotóxicos, e ATR (do inglês, ataxia-telangiectasia and Rad3), que é ativada em resposta a danos no DNA associados à replicação, como replicação incompleta ou pausa da forquilha de replicação, e que resultam no recrutamento de proteínas cinases dependentes ciclinas que interrompem o ciclo celular, como p53, p21 e p16INK4a (HERBIG *et al.*, 2004; MATSUOKA *et al.*, 2007).

A senescência também pode ser deflagrada diante da instabilidade dos telômeros devido à exaustão replicativa, fenômeno descrito em 1965 por Hayflick e Moorhead. Conforme foi demonstrado em fibroblastos, as células somáticas normais têm um potencial limitado de replicação: aproximadamente cinquenta divisões, segundo o limite de Hayflick.

Os autores observaram que as células acumulavam características fenotípicas relacionadas ao envelhecimento, além de apresentarem um número de divisões limitados, sugerindo que essas células não eram capazes de se multiplicar indefinidamente (HAYFLICK; MOORHEAD, 1961). Posteriormente, esse tipo específico de senescência (denominado senescência replicativa), foi causalmente associada ao encurtamento fisiológico de telômeros (BLACKBURN; GALL, 1978). Essa observação suporta a hipótese original de que a senescência é um mecanismo que impede o crescimento irrestrito de células danificadas, uma vez que o encurtamento crítico de telômeros pode promover o acúmulo de mutações levando à instabilidade cromossômica, as quais ativam a tumorigênese (VAN DEURSEN, 2014). A interrupção do ciclo celular é um mecanismo importante para evitar a propagação de mutações ao longo da divisão celular.

Além da parada do ciclo celular essencialmente permanente, o fenótipo senescente é caracterizado por outros marcadores moleculares e celulares, como alterações morfológicas, reprogramação metabólica, rearranjo da cromatina ou modulação da autofagia, de forma que a célula aumente seu tamanho em decorrência do conteúdo lisossomal e adquira uma morfologia achatada, além de aumentar a atividade da enzima β -galactosidase (β -gal) em pH próximo ao neutro (MORA *et al.* 2007, MORGUNOVA *et al.* 2015). Além disso, a secreção de citocinas e quimiocinas que compõem o fenótipo secretor associado à senescência (SASP), como IL-1 β , IL-6 e IL8 (EVAN; di FAGAGNA 2009; COPPÉ *et al.* 2010), e a diminuição nos níveis nucleares 28 de Lamin B1 (proteína que, em humanos, é codificada pelo gene LMNB1, e é uma das proteínas que compõem a lâmina nuclear, uma matriz de proteínas bidimensional localizada próxima à membrana nuclear interna), (SHIMI *et al.* 2011, FREUND *et al.* 2012), estão geralmente associadas ao acúmulo de dano ao DNA nuclear, denominados (FOCI) na heterocromatina associados à senescência SAHF (Senescence-Associated Heterochromatin Foci), que são estruturas de heterocromatina que se formam em células senescentes), e também são características comuns de muitos tipos de senescência (KUILMAN *et al.* 2010.; SALAMA *et al.* 2014). As mudanças na fisiologia celular e no secretoma associado à senescência também são observadas em células pós-mitóticas, ao passo que a interrupção do ciclo celular é observada naturalmente apenas em células proliferativas.

A despeito da importância da senescência, a sobrecarga alostática gerada pelo acúmulo de células senescentes, é um dos principais fatores determinantes da deterioração dos sistemas fisiológicos ao longo do envelhecimento (OVADYA *et al.*, 2018). Em parte, isto ocorre

devido às suas disfunções celulares, sobretudo disfunções mitocondriais e os consequentes danos oxidativos a macromoléculas. Não obstante, o fenótipo de secreção associado à senescência (FeSS), promove diversos efeitos que podem comprometer a homeostase tecidual através do remodelamento da matriz extracelular, recrutamento de células inflamatórias, e disfunção e apoptose de células viáveis (COPPÉ *et al.*, 2010).

O acúmulo de danos celulares normalmente é contrabalanceado pelos mecanismos de reparo e regeneração dos tecidos biológicos. Esses mecanismos são determinados pela proliferação e diferenciação das células-tronco e progenitoras. Além disso, as células-tronco secretam diversas moléculas que promovem citoproteção e alterações no *milieu intérieur* e, assim, contribuem para a preservação do arcabouço celular durante a exposição a condições inóspitas. Todavia, ao longo do envelhecimento a capacidade de reparo e regeneração dos tecidos biológicos é drasticamente reduzida devido ao esgotamento das reservas de células-tronco e progenitoras endógenas (GANDO *et al.*, 2011; ZHU *et al.*, 2009). Há aumento na expressão de marcadores de senescência e danos oxidativos, ao passo que a expressão de genes que codificam proteínas reguladoras da replicação e reparo do DNA, é reduzida em células-tronco e progenitoras senescentes (ZHU *et al.*, 2009). Assim, o potencial de citoproteção, migração, enxerto, diferenciação e clonogenicidade dessas células em mamíferos envelhecidos é significativamente reduzido (GANDO *et al.*, 2011).

Todavia, o papel da senescência celular no sistema cardiovascular não está claro. A identificação de marcadores de senescência no sistema cardiovascular é um importante passo para a caracterização do envelhecimento cardiovascular e, assim, para o desenvolvimento de intervenções capazes de atenuar as disfunções cardiovasculares do envelhecimento. Portanto, esse estudo visa caracterizar os efeitos do envelhecimento sobre as propriedades eletrocardiográficas e a reatividade vascular.

2 - JUSTIFICATIVA

De acordo com o Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia, a prevalência de envelhecidos no Brasil aumentará de 10,15% em 2021 para 25,49% no ano de 2060. No mesmo intervalo de tempo, a sua prevalência no estado do Rio de Janeiro (RJ) aumentará de 12,35% para 26,85%. É importante salientar que 77,4% da população da União possui ao menos uma doença, sendo as doenças cardiovasculares as maiores causas de morbimortalidade nesta população (GARCEZ-LEME; LEME, 2014). Com o aumento da prevalência da população idosa, estima-se que o percentual de óbitos por doenças cardiovasculares possa atingir até 40% do total de óbito nas próximas 2-3 décadas, ao passo que o custo atribuído a esse grupo de doenças deverá triplicar (DUNBAR *et al.*, 2018). Como 73% dos indivíduos com ≥ 60 anos no Brasil não possui plano de saúde, este desequilíbrio demográfico será acompanhado de elevação nos gastos ambulatoriais e hospitalares do Sistema Único de Saúde (SUS) em cerca de 37% e 47%, respectivamente (CARNEIRO; CAMPINO; LEITE, 2013; LIMA-COSTA; BARRETO; GIATTI, 2003). É importante ressaltar que com o crescente cenário de desigualdade social do Brasil, explicitado durante a pandemia de COVID-19, a população idosa deve se tornar ainda mais dependente do SUS nos próximos anos (KALACHE *et al.*, 2020). Portanto, caracterizar as disfunções cardiovasculares e a identificação de marcadores de envelhecimento cardiovascular são estratégias cruciais para aprimorar a prevenção e o tratamento de doenças cardíacas. Além disso, o desenvolvimento de formas de rejuvenescer o coração e os vasos sanguíneos pode ter um impacto significativo na melhoria da qualidade de vida dos idosos. Essas estratégias não apenas ajudam a evitar o colapso logístico e orçamentário do Sistema Único de Saúde (SUS), mas também contribuem para a saúde e o bem-estar da população em geral.

3 - OBJETIVOS

3.1- OBJETIVO GERAL.

Mensurar marcadores de senescência celular e caracterizar as disfunções eletrocardiográficas e cardiovasculares em camundongos envelhecidos.

3.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Avaliar, em camundongos C57Bl/6 adultos (4-6 meses de idade) e envelhecidos (22-24 meses de idade):

- 1) As propriedades eletrofisiológicas e a susceptibilidade a eventos arrítmicos através da eletrocardiografia.
- 2) A função cardíaca através da ecocardiografia.
- 3) A reatividade vascular *ex vivo* através da tensão isométrica.
- 4) Marcadores de senescência celular no coração.

4 - METODOLOGIA

4.1 - PROTOCOLO EXPERIMENTAL:

Camundongos do sexo masculino c57/bl6 adultos (4-6 meses de idade) e envelhecidos (22-24 meses de idade) foram utilizados (CEUA 030/2021 IBCCF/UFRJ). Análises eletrocardiografia basal foram realizadas para comparar as propriedades eletrofisiológicas *in vivo*. A susceptibilidade a eventos arrítmicos foi determinada por eletrocardiografia de estresse, com infusão intravenosa de cafeína e dobutamina. Após a eutanásia por sobrecarga de tiopental, anéis de aorta e coração foram coletadas para experimentos *ex vivo* e *in vitro*. A função vasomotora foi determinada em modelos *ex vivo*, através da reatividade vascular em anéis de aorta. A expressão gênica de marcadores de senescência e o comprimento dos telômeros na aorta e miocárdio foi analisada por qPCR.

4.2 - ELETROCARDIOGRAFIA BASAL E DE ESTRESSE.

Os registros eletrocardiográficos basais foram obtidos em animais acordados e sem imobilização através de eletrodos subcutâneos implantados na região torácica e membros posteriores, na derivação DII do plano frontal (SEARA *et al.*, 2019). Os eletrodos foram conectados a um amplificador diferencial (Model 1700, AM Systems, USA). Os sinais foram filtrados com frequência de corte passa-alta em 10 Hz e passa-baixa em 0,5 kHz e digitalizados à frequência de amostragem de 10 kHz pela interface analógica-digital DIGIDATA 1440A e programa Axoscope 10 (Molecular Devices, USA). A análise será realizada com o programa LabChart 7 (AD Instruments, USA). Foram analisadas os tempos de duração dos intervalos PR, RR, QT, QTc (calculado pela fórmula de Bazget: $QT/raiz\ do\ intervalo\ RR$) complexo QRS. Para a eletrocardiografia de estresse, os mesmos procedimentos acima foram efetuados imediatamente após a administração intravenosa do agonista β 1-adrenérgico dobutamina (50 μ g/kg) e de cafeína (120 mg/kg).

4.3 - ECOCARDIOGRAFIA.

A função cardíaca *in vivo* foi avaliada através de ecocardiografia basal. Para isso, os animais foram anestesiados com isoflurano vaporizado a 4% para indução e 1,5% para

manutenção, em um fluxo de 1L/min de oxigênio. Os animais foram tricotomizados na região do precórdio e examinados com o equipamento Vevo 770 (Visual Sonics, Canadá) acoplado a um transdutor de 30 MHz. As imagens foram adquiridas no modo-M e analisadas pelo operador de maneira cega. Foram avaliados a fração de ejeção, a fração de encurtamento, o débito sistólico, o volume sistólico final, o volume diastólico final e a razão das ondas E e A.

4.4 - REATIVIDADE VASCULAR.

Amostras de aorta torácica foram removidas e imersas em solução de Krebs. A aorta será fatiada em seções de 2 mm de comprimento e suspensa em uma câmara de órgão contendo solução de Krebs suplementada com 95% de O₂ e 5% de CO₂ e mantida a 37 °C. Um transdutor de força será usado para medir a tensão isométrica (MLT0201®, AD Instruments). Após a estabilização dos vasos na tensão de 1,0 g, as seções aórticas foram contraídas com fenilefrina 10 µM, seguido de perfusão com acetilcolina 10 µM para avaliação da integridade do tecido. Os vasos foram lavados por 30 min com solução de Krebs para retornar a tensão vascular aos valores basais. Depois que o platô for atingido, as curvas de concentração-resposta vasodilatadora foram determinadas para acetilcolina ou nitroprussiato de sódio (1 nM a 1 µM) [33].

4.5 - EXPRESSÃO GÊNICA.

A análise da expressão gênica de marcadores de senescência celular p16, p21, metaloproteinase 2 (MMP2) nas amostras de miocárdio, aorta e músculo esquelético foram determinados por qPCR. A extração do RNA total foi realizada com RNAeasy (Qiagen), conforme as instruções do fabricante. O cDNA será produzido com o kit High Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher Scientific) a partir de 1000 ng de RNA. As reações foram catalisadas em termociclador (MJ Research PTC-100 Thermal Cycler) e o cDNA será armazenado a -20°C. A amplificação dos produtos de mRNA foi feita com Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems), que contém a enzima AmpliTaq Gold® DNA Polymerase e os demais componentes necessários à reação (Fluoróforo SYBR® Green I; dNTPs com dUTP; Referência passiva 1; Tampão otimizado e Primers de DNA). O controle endógeno será GAPDH (gliceraldeído fosfato desidrogenase). A ciclagem também

será feita no equipamento Viia 7 Real-Time PCR (Applied Biosystems), utilizando o software Viia 71.2.1 (Applied Biosystems). A análise de quantificação dos alvos de interesse será determinada por $2^{-(-\Delta\Delta CT)}$.

4.6 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e foram apresentados como média \pm desvio padrão. Os resultados foram analisados entre os grupos através do teste t de Student (Prism 6.00, GraphPad Software). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - ELETROCARDIOGRAFIA BASAL (ECG-BASAL).

Neste estudo, foram analisados vários aspectos da fisiologia cardiovascular em camundongos jovens e envelhecidos, incluindo a eletrocardiografia basal, a ecocardiografia, a reatividade vascular e a expressão de marcadores de senescência cardíaca. Como resultados do ECG basal, foram comparados vários intervalos da eletrocardiografia basal entre indivíduos jovens e envelhecidos. Foram analisados tipos específicos de intervalo: Intervalo RR, Intervalo PR, Onda P, Intervalo QRS e Intervalo QT e QTc (Figura 6).

O intervalo RR, que é inversamente proporcional à frequência cardíaca, apresentou um aumento significativo entre os grupos jovem e envelhecido ($P < 0,05$). Esta diferença entre os indivíduos, é um indicativo que a idade pode afetar a frequência cardíaca. De acordo com (VANDERLEI, L.C.M., 2009), alterações na modulação autonômica do coração são decorrentes de um aumento da atividade parassimpática no envelhecimento. Isso pode ser atribuído à apoptose de células do nodo sinusal e à perda ou redução de sensibilidade simpática.

Segundo (CHOI *et al.*, 2022), o ritmo do marca-passo diminui naturalmente e continuamente ao longo da vida. O controle neural do marca-passo é remodelado desde o nascimento até a idade adulta, com fortes evidências de disfunção relacionada à idade que leva a uma redução do estímulo elétrico do marca-passo. Essa evidência inclui a remodelação da arquitetura do tecido do marca-passo, alterações na inervação, mudanças na aceleração simpática e na desaceleração parassimpática, e alterações na resposta das células do marca-passo à modulação adrenérgica e colinérgica. Além disso, estudos mostram que a frequência cardíaca intrínseca, a variabilidade da frequência cardíaca e a condução do estímulo elétrico AV em humanos saudáveis, são afetadas pela idade. O desequilíbrio autonômico pode ser uma causa potencial do prolongamento do intervalo RR nos corações envelhecidos (KWON, 2021). A regulação do ritmo cardíaco, também conhecido como ritmo marca-passo, é um processo que envolve a interação de vários neurotransmissores, incluindo a acetilcolina e a noradrenalina, com receptores específicos e canais iônicos (NUNES, 2007). A acetilcolina é um neurotransmissor que atua no sistema nervoso central e também no sistema nervoso somático e autônomo. Ela se liga a dois tipos de receptores: os receptores nicotínicos e muscarínicos. Os receptores nicotínicos tipo 1 estão localizados em gânglios autônomos e

podem levar estímulo à medula adrenal, promovendo a liberação de catecolaminas. Já os receptores muscarínicos de acetilcolina estão presentes nas células musculares cardíacas. Eles não são canais iônicos, mas acionam vias de sinalização que inibem o disparo de potenciais de ação. A acetilcolina também pode causar hiperpolarização e consequente diminuição da frequência cardíaca.

Por outro lado, a noradrenalina, também conhecida como norepinefrina, é uma catecolamina produzida na glândula adrenal. Ela atua em vários receptores adrenérgicos, como o alfa 1 e 2 e beta 1 e 2, presentes nos órgãos efetores. Esses receptores estão localizados no nível das células marcapasso do nó sinoatrial, bem como no sistema de condução de excitação cardíaca e no miocárdio contrátil. Eles promovem aumentos de frequência (cronotropismo positivo), velocidade de condução (dromotropismo positivo), da força de contração cardíaca (inotropismo positivo) e velocidade de relaxamento (lusotropismo positivo). Portanto, a acetilcolina e a noradrenalina desempenham papéis fundamentais na regulação do ritmo cardíaco, interagindo com receptores, e modulando a atividade dos canais iônicos. Esses processos são essenciais para a manutenção da homeostase cardíaca e a resposta adequada do coração às demandas variáveis do corpo.

Houve também na duração do intervalo PR, um aumento significativo ($P < 0,001$) entre os indivíduos jovens e envelhecidos, sugerindo que a idade pode afetar a condução do estímulo elétrico atrioventricular. A diferença observada no intervalo PR entre os grupos pode refletir alterações na condução atrioventricular com o envelhecimento, e pode ser causado por redução da sensibilidade simpática (AFFIUNE, 2006). Também, pode ser devido a fibrose do sistema de condução, calcificação do anel mitral, ou alterações degenerativas relacionadas à idade (SURAWICZ B, KNILANS T, 2008). Além disso, um estudo de 1995, avaliou sete métodos clássicos e recentemente propostos usados para a estimativa da complacência arterial total. Na duração da onda P, que representa a despolarização atrial, houve um aumento significativo ($P < 0,01$), entre os indivíduos jovens e envelhecidos. A diferença na duração da onda P pode indicar alterações na despolarização atrial com o envelhecimento. Isso pode ser um reflexo de alterações estruturais atriais, como dilatação atrial ou fibrose, que são comuns com o envelhecimento (WAGNER, 2013), assim como enrijecimento cardíaco, aumento da câmara atrial, e arritmias, que podem afetar a duração e forma da onda P. Além disso, o enrijecimento cardíaco, o aumento da câmara atrial e as arritmias, que são mais prevalentes em idosos, também podem afetar a duração e a forma da onda P (OLIVEIRA *et al.* 2022).

Um estudo de (ELLIOTT *et al.* 2022), sugere que a variabilidade celular pode ter um impacto maior no comportamento eletrofisiológico do que se supunha anteriormente. Este estudo buscou determinar o impacto da heterogeneidade celular na fase de repolarização nos átrios remodelados pela fibrilação atrial (FA). A heterogeneidade celular concerne à diversidade de células dentro de um tecido ou órgão, onde cada célula pode ter características distintas em termos de morfologia, função, expressão gênica, entre outros aspectos. No estudo, a heterogeneidade celular é observada entre diferentes tipos de células cardíacas, como células do marcapasso nodal, células do miocárdio, células endoteliais, entre outras (KINKER, 2019). Os resultados mostraram que a heterogeneidade celular não afeta a despolarização atrial, mas tem um impacto significativo nos padrões de repolarização. Além disso, apontam como as alterações associadas à idade na estrutura e função do coração, estão ligadas a mudanças nas vias de sinalização, e na expressão gênica do transcriptoma cardíaco, tanto na senescência quanto na doença (LAZZERONI *et al.* 2022). Essas mudanças podem afetar a despolarização atrial e contribuir para as diferenças observadas na duração da onda P entre indivíduos jovens e envelhecidos (HAVMOLLER, 2007).

Alterações transcriptômicas no coração podem incluir a regulação diferencial de genes envolvidos em processos como metabolismo, regulação gênica, resposta ao estresse do retículo endoplasmático, catabolismo proteico, estresse oxidativo e inflamação (MOITA, 2022; KURIAN *et al.*, 2021). Além disso, a análise do transcriptoma revelou alvos não previamente associados à fibrose cardíaca, incluindo MRC2 que codifica a proteína receptor de Manose Tipo C 2. A proteína MRC2 desempenha um papel na remodelação da matriz extracelular, mediando a internalização e a degradação lisossômica dos ligantes de colágeno (GENECARDS, 2024). A expressão deste gene pode desempenhar um papel na tumorigênese e metástase de várias malignidades, incluindo câncer de mama, gliomas e doença óssea metastática), e a IGFBP7 que codifica a proteína Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7. (MOITA, 2022). Logo, a idade pode afetar a despolarização atrial e a duração da onda P, possivelmente devido a alterações estruturais atriais e variabilidade celular. Além disso, a duração da onda P aumenta com a idade, sendo ligeiramente mais longa em indivíduos com mais de 50 anos (HAVMOLLER, 2007). Porém, de igual forma, pesquisas adicionais são necessárias para explorar essas relações e desenvolver métodos confiáveis de análise.

Já o intervalo QRS, que no eletrocardiograma representa a despolarização ventricular, que é a fase de contração, ou sístole ventricular, embora seja plausível sugerir que a idade

possa influenciar este processo, na análise deste presente estudo, não encontraram uma diferença estatisticamente significativa na duração do intervalo QRS com o avanço da idade. De acordo com (MCFARLANE, 2018), as mudanças no ECG ocorrem rapidamente desde o nascimento até a infância, com diferenças de idade claramente relacionadas ao aumento das voltagens do QRS e ao alargamento do complexo QRS. No entanto, é importante notar que, a ausência de uma diferença significativa na duração do intervalo QRS não exclui a possibilidade de mudanças relacionadas à idade na despolarização ventricular. Outros aspectos da despolarização, como a homogeneidade da propagação do impulso elétrico através do miocárdio ventricular, podem ser afetados pela idade (ROSSI, 2023). Além disso, alterações estruturais no coração, como o aumento do tecido fibroso, podem ocorrer com a idade e potencialmente afetar a despolarização ventricular. Portanto, embora a idade possa influenciar vários aspectos do ECG, a duração do intervalo QRS parece ser relativamente estável, ou seja, não tende a aumentar, nem a diminuir significativamente à medida que a idade avança. De acordo com o estudo de (CHEN, 2021), foi constatada uma redução no complexo QRS com a idade e o gênero feminino. No entanto, essas respostas foram melhor explicadas pelo tamanho do QRS de base, mudança na frequência cardíaca e pressão arterial sistólica. Isso significa que o tamanho inicial do complexo QRS, as alterações na frequência cardíaca e a pressão arterial sistólica são fatores mais influentes na mudança do complexo QRS do que a idade ou o gênero, nesse estudo referido (*id.*). De igual forma, nos gráficos que mostram o intervalo QT, que representa o tempo total de despolarização e repolarização ventricular, e o QTc, que é o intervalo QT corrigido para a frequência cardíaca, não houve diferença significativa entre os camundongos jovens e envelhecidos. Embora não tenha sido observada uma diferença significativa na duração do intervalo QT ou QTc entre camundongos jovens e envelhecidos em alguns estudos, outros mostraram que o intervalo QTc pode aumentar progressivamente com a idade (MANGONI *et al.*, 2003). Contudo, o referido estudo de Mangoni, mostrou que o intervalo QT corrigido pela frequência cardíaca (QTc, fórmula de Bazett), aumentou progressivamente com o avanço da idade. Além disso, um estudo detalhado sobre o impacto da idade no intervalo QT, mostrou que o intervalo QTc e a variação associada aumentaram substancialmente para ambos os sexos com o avanço da idade (RABKIN, 2016).

Portanto, embora a idade possa não ter um impacto significativo na despolarização ventricular como representado pelo intervalo QRS, ela parece ter um efeito no intervalo QT e

no QTc. Isso sugere que a idade pode afetar a repolarização ventricular, mesmo que não afete significativamente a despolarização ventricular.

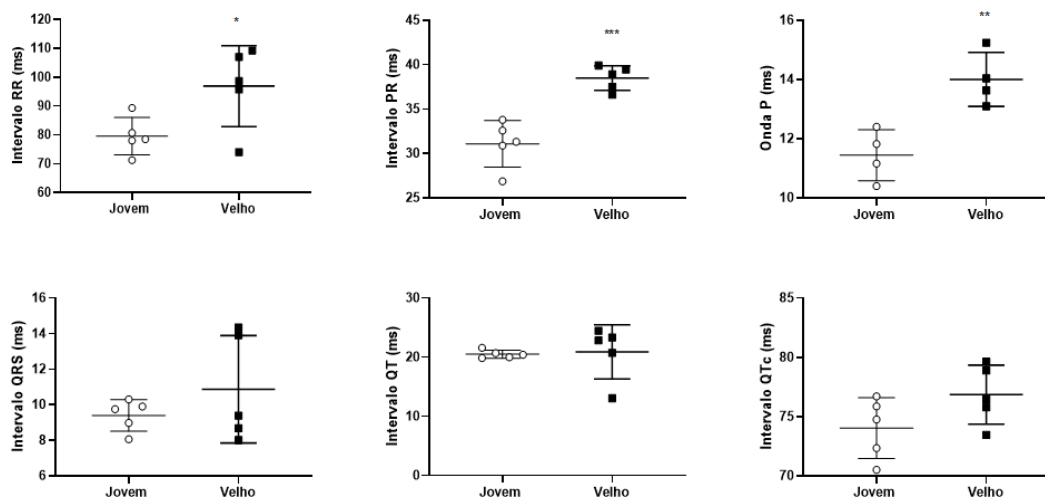


Figura 2: Comparação dos intervalos RR, PR, QRS, QT e QTc entre indivíduos jovens e envelhecidos. Os dados são apresentados como média \pm DP. * $P < 0,05$ indica diferença significativa entre os dois grupos; ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ indicam níveis crescentes de significância estatística. Fonte: Resultados do eletrocardiograma basal

5.1 - ELETROCARDIOGRAFIA ESTRESSE (ECG-ESTRESSE)

Os resultados obtidos a partir do ECG de estresse não revelaram diferenças significativas no score de arritmias. Isso sugere que o estresse induzido pode não ter influenciado de maneira substancial a incidência de arritmias. Neste estudo, foi empregado um protocolo de arritmia ventricular, que é uma ferramenta valiosa para entender as diversas formas de arritmias e como elas podem ser induzidas. Este ponto é particularmente relevante quando consideramos que indivíduos idosos tendem a apresentar arritmia atrial, uma condição que pode exigir diferentes abordagens de tratamento. Além disso, a contabilização individualizada do tempo e do número de eventos arrítmicos pode proporcionar uma visão mais detalhada da ocorrência de arritmias. Essa abordagem pode levar a um melhor entendimento da condição e, potencialmente, ao desenvolvimento de tratamentos mais eficazes. Portanto, a implementação de um protocolo de arritmia ventricular, juntamente com a análise individualizada de eventos arrítmicos, pode oferecer dados valiosos para a pesquisa e o tratamento de arritmias.

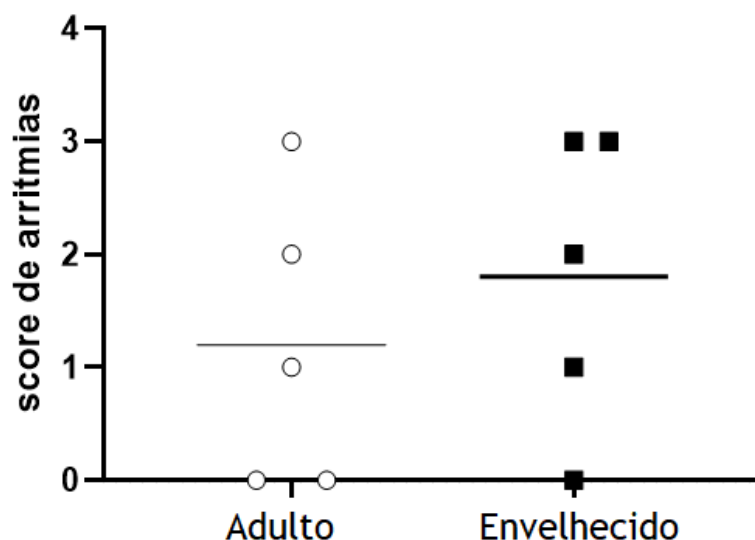


Figura 2: Resultado do ECG- estresse indicando que não houve diferença significativa entre os grupos jovem e envelhecido, onde no eixo y 0: ausência de eventos; 1: batimentos ventriculares prematuros ou extra-sístoles; 2: bigeminismo; 3: taquicardia ventricular; 4: fibrilação ventricular. fonte: resultado ecg-estresse.

5.2 - ECOCARDIOGRAFIA

Como resultados da ecocardiografia, foram analisadas as métricas cardiovasculares específicas: fração de ejeção, que é uma medida, expressa como uma porcentagem, de quanto sangue o ventrículo esquerdo bombeia a cada contração. Uma fração de ejeção de 60% significa que 60% do volume total de sangue no ventrículo esquerdo é expelido a cada batimento cardíaco.; fração de encurtamento, que é calculada medindo a mudança (% de redução) no diâmetro ventricular esquerdo durante a sístole.; débito sistólico que É a medida da quantidade de sangue bombeada por cada ventrículo em um espaço de 1 minuto; volume sistólico final, que é o volume de sangue em um ventrículo no final da contração, ou sístole, e no início do enchimento, ou diástole. O VSF é o menor volume de sangue no ventrículo em qualquer ponto do ciclo cardíaco; volume diastólico final que é o volume de sangue no ventrículo direito ou esquerdo no final do enchimento na diástole, que é a quantidade de sangue presente no ventrículo no final da diástole, e razão das ondas E/A que é um marcador da função do ventrículo esquerdo do coração. Representa a razão do fluxo sanguíneo de velocidade máxima do relaxamento ventricular esquerdo no início da diástole (onda E) para o fluxo de velocidade máxima no final da diástole causado pela contração atrial (onda A) (Figura 7), não sendo observada diferença significativa.

A ausência de diferença significativa nos resultados do ecocardiograma entre os grupos jovem e envelhecido, pode ser atribuída a uma variedade de fatores, como variação individual; tamanho da amostra e poder estatístico (LAKATTA; LEVY, 2003; KANNEL *et al.*, 1994; HULLEY *et al.*, 2013), respectivamente. Em estudos anteriores, diferenças marcantes foram observadas em parâmetros como a fração de ejeção (FE) e o volume sistólico, com declínios notáveis associados ao processo de envelhecimento (SMITH *et al.*, 2008).

Já estudos recentes em modelos de roedores, incluindo camundongos e ratos, têm sido amplamente utilizados para pesquisas de doenças cardiovasculares devido à efetiva simulação de doenças cardiovasculares humanas (LUO *et al.*, 2022). Deste modo, estudos mostraram que o envelhecimento aumentou a incidência de hipertrofia cardíaca e fibrose em ratos. Além disso, o envelhecimento aumentou a ocorrência de taquicardia ventricular ou fibrilação ventricular induzida por ritmo rápido e durante o experimento com isoprenalina em camundongos *in vivo* (*idem*).

Em relação à função cardíaca, um estudo de Zhang mostrou que o envelhecimento em camundongos leva a alterações na estrutura cardiovascular e na função diastólica cardíaca, mas a função sistólica é relativamente bem preservada nas fêmeas (ZHANG *et al.*, 2021). As alterações na função cardíaca e na rigidez arterial foram mais significativas nos machos do que nas fêmeas.

Com isso, embora os resultados do estudo não mostrem diferenças significativas nos parâmetros ecocardiográficos entre os grupos jovem e envelhecido, é importante notar que estudos em modelos animais têm mostrado alterações cardiovasculares com o envelhecimento.

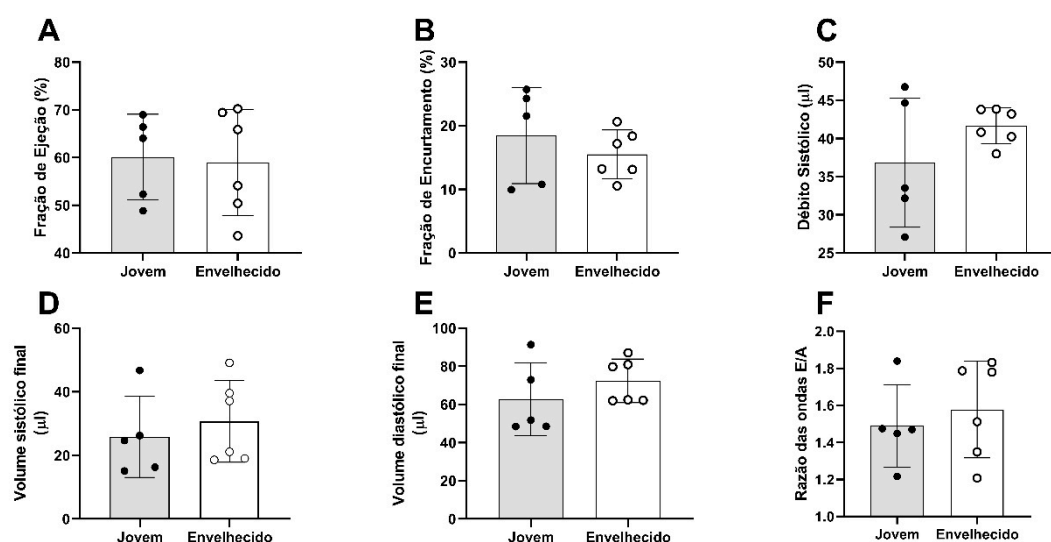


Figura 3: Comparação da fração de ejeção, volume sistólico final, fração de encurtamento, volume diastólico final, débito sistólico e razão da onda E/A entre indivíduos jovens e envelhecidos. Os dados são apresentados como média \pm DP. * $P < 0,05$ indica diferença significativa entre os dois grupos; ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ indicam níveis crescentes de significância estatística. Fonte: Resultados da Ecocardiografia.

5.3 - REATIVIDADE VASCULAR

Para os resultados da reatividade vascular (Figura 8), os gráficos apresentados ilustram uma resposta vascular diferenciada entre os grupos jovem e envelhecido quando expostos à acetilcolina (ACh), e ao nitroprussiato de sódio (SNP). Esta análise, revela diferenças significativas na resposta vascular entre indivíduos (jovens e envelhecidos), evidenciadas pela sensibilidade à acetilcolina (ACh) e ao nitroprussiato de sódio (SNP). A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor que desempenha um papel crucial na regulação do tônus vascular. Ela atua diretamente no músculo liso através da ligação aos receptores muscarínicos M3, causando a contração (ZHOLOS *et al*, 2004). No entanto, nos vasos envelhecidos, observa-se uma diminuição notável na capacidade de se contraírem em resposta à ACh (TERWOORD *et al*, 2021). Este fenômeno pode ser atribuído ao dano endotelial acumulado ao longo do tempo. O endotélio desempenha um papel crucial na modulação da tensão vascular através da liberação de fatores relaxantes e constritores (ZHOLOS *et al*, 2004). Um dano endotelial compromete a liberação adequada de óxido nítrico (NO), um potente vasodilatador produzido pelo endotélio em resposta à ACh.

A contração observada sugere uma disfunção endotelial marcada pela incapacidade dos vasos sanguíneos de se dilatarem adequadamente (CVPHYSIOLOGY.COM, 2024). Os vasos envelhecidos demonstram um aumento acentuado na contração em resposta à ACh, um fenômeno corroborado por estudos como o de (MEHDIZADEH *et al*, 2022), que destaca o papel da senescência celular nas doenças cardíacas. No primeiro gráfico, que representa a resposta à ACh, ficou evidenciado que os vasos do grupo envelhecido se contraíram em resposta à ACh. No contexto da secreção de sensibilidade à acetilcolina, observa-se uma diminuição notável na capacidade dos vasos envelhecidos de se contraírem em resposta à ACh.. Assim, a contração observada sugere uma disfunção endotelial marcada pela incapacidade dos vasos sanguíneos se dilatarem adequadamente (UNGVARI, 2018; EL ASSAR *et al*. 2012). Com isso, a compreensão da ação da ACh na regulação do tônus vascular e seu impacto nos vasos envelhecidos é fundamental para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas eficazes para doenças cardiovasculares relacionadas à idade.

Já no gráfico, relacionado ao nitroprussiato de sódio (SNP), o grupo envelhecido demonstrou um relaxamento vascular semelhante ao do grupo jovem. Isso pode ser explicado pelo fato de que o SNP, ao liberar NO diretamente no músculo liso, consegue contornar as possíveis disfunções endoteliais presentes no grupo envelhecido. O SNP é um doador direto de NO, que atua independentemente do endotélio. O NO é um potente vasodilatador que atua diretamente no músculo liso vascular, aumentando os níveis de guanosina monofosfato cíclico (cGMP) e promovendo o relaxamento vascular (OLIVEIRA, 2022). Além disso, a sinalização intracelular do músculo liso que envolve o cGMP pode ainda estar preservada nesse grupo, permitindo um relaxamento vascular adequado em resposta ao SNP (*id.*), no entanto, a redução no relaxamento no grupo envelhecido, que foi igual ao grupo jovem indica disfunções no músculo liso vascular. Pode-se inferir uma possível alteração na sinalização intracelular ou sensibilidade reduzida aos níveis de cGMP intracelular (MONCADA & HIGGS, 1993). Estudos em modelos animais e culturas celulares sugerem que a disfunção endotelial e a diminuição da secreção de ACh podem ser atribuídas a uma variedade de mecanismos moleculares, incluindo estresse oxidativo, inflamação e alterações na sinalização intracelular (LIDZBARSKY *et al*, 2018; HOLTZE *et al*, 2021).

Portanto, a disfunção vascular no indivíduo envelhecido é um fenômeno complexo que envolve uma série de alterações fisiológicas e moleculares. Estas alterações incluem danos endoteliais, alterações na secreção de sensibilidade à acetilcolina, modulações nos canais iônicos do axônio, e mudanças na duração do QRS.

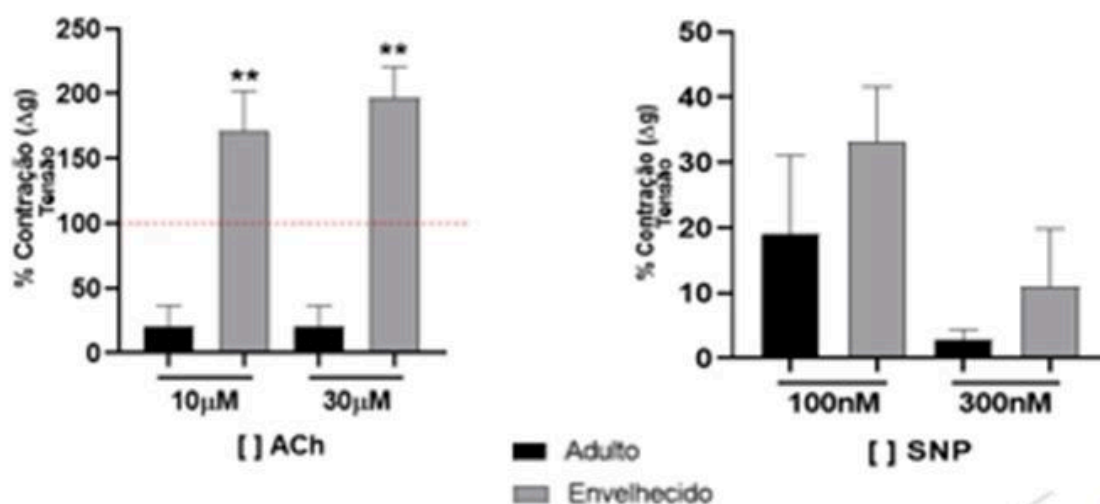


Figura 4: Comparação da resistência vascular em camundongos adultos e envelhecidos quando expostos à Acetilcolina (ACh) e Nitroprussiato de Sódio (SNP). A contração percentual (eixo Y) é usada como indicador de

resistência vascular. O grupo envelhecido demonstra uma tendência de aumento da resistência vascular, sugerindo possíveis disfunções endoteliais e do músculo liso vascular (FURCHGOTT & ZAWADZKI, 1980; MONCADA & HIGGS, 1993). Fonte: Resultados da reatividade vascular.

5.4 - EXPRESSÃO DE MARCADORES DE SENESCÊNCIA

A análise da expressão gênica dos marcadores de senescência cardíaca P16, P21 e MMP2 em grupos jovens e envelhecidos, conforme ilustrado na (Figura 9), não revelou diferenças significativas na expressão desses genes entre os dois grupos. A P21 é uma proteína codificada pelo gene CDKN1A em humanos, conhecida por seu papel crucial na regulação do ciclo celular, atuando como um inibidor da cinase dependente de ciclina (HARPER *et al.*, 1993). A MMP2, por outro lado, é uma enzima que desempenha funções vitais na remodelação da matriz extracelular e tem sido associada à senescência cardíaca (WANG *et al.*, 2018), e compõe o fenótipo secretório associado ao envelhecimento. A ausência de variação significativa nos níveis de expressão dos marcadores P21 e MMP2 entre os grupos jovem e envelhecido pode ser atribuída a diversos fatores. É possível que mecanismos compensatórios estejam atuando para manter a homeostase celular e vascular em ambos os estados (SMITH *et al.*, 2008). Além disso, as vias de sinalização intracelulares podem estar moduladas para preservar a função cardíaca apesar das mudanças fisiológicas associadas ao envelhecimento (HARPER, 1993; WANG, M., 2018).

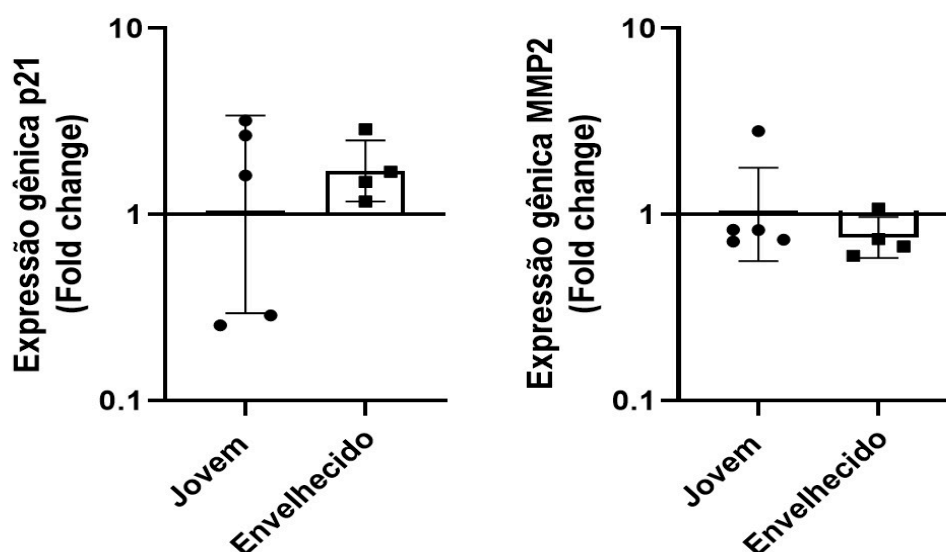


Figura 5: Apesar do papel crucial da P21 na regulação do ciclo celular (Harper et al., 1993) e da MMP2 na remodelação da matriz extracelular (Wang *et al.*, 2018), não foram observadas diferenças significativas na expressão desses genes entre os dois grupos. Isso pode ser atribuído a mecanismos compensatórios que atuam para preservar a função cardíaca apesar das mudanças fisiológicas associadas ao envelhecimento (Smith *et al.*, 2008). Fonte: Comparação da expressão gênica dos marcadores de senescência cardíaca P21 e MMP2 entre grupos jovens e envelhecidos.

No entanto, é importante considerar que o número de amostras experimentais (N experimental) poderia ser aumentado para fortalecer a confiabilidade desses resultados (BIAU, D. J, 2008). Além disso, uma explicação alternativa para a ausência de diferenças significativas na expressão desses marcadores pode ser que eles não sejam os mais indicados no contexto do miocárdio. Em contraste com outros tecidos, o miocárdio pode ter um conjunto distinto de marcadores de senescência que são mais sensíveis às mudanças fisiológicas associadas ao envelhecimento. Os marcadores de senescência no miocárdio podem incluir alterações na expressão de certos genes e proteínas, bem como alterações na estrutura e função das células do miocárdio. Por exemplo, a p16INK4a é uma proteína que inibe a progressão do ciclo celular e é frequentemente usada como um marcador de senescência celular. A expressão de p16INK4a aumenta com a idade em muitos tecidos, incluindo o miocárdio (MIRANDA; LIMA, 2014). Esses marcadores podem ser particularmente úteis para entender os processos de envelhecimento no coração e desenvolver estratégias terapêuticas para doenças cardíacas relacionadas à idade. Outro marcador potencial de senescência no miocárdio é a beta-galactosidase, que é uma enzima que aumenta sua atividade em células senescentes (*idem*). Além disso, as alterações na estrutura e função das mitocôndrias, que são organelas celulares responsáveis pela produção de energia, também têm sido associadas à senescência no miocárdio (*idem*). Embora a expressão dos marcadores de senescência

cardíaca P21 e MMP2 não tenha mostrado diferenças significativas entre os grupos jovem e envelhecido, isso não exclui a possibilidade de que outros marcadores possam ser mais sensíveis às mudanças fisiológicas associadas ao envelhecimento. Portanto, futuras pesquisas poderiam explorar a utilização de outros marcadores de senescência mais relevantes para o miocárdio como estudo recente de (MEHDIZADEH *et al.* 2022), que sugere que a senescência celular pode desempenhar um papel significativo na fisiopatologia da fibrilação atrial.

6 - CONCLUSÃO

Com base nos dados coletados e analisados neste estudo, fica evidente que o processo de envelhecimento exerce um impacto substancial na fisiologia cardiovascular. As mudanças identificadas na eletrocardiografia basal, reatividade vascular oferecem uma visão detalhada das transformações fisiológicas que acompanham o envelhecimento.

Pesquisas futuras devem se concentrar em elucidar esses mecanismos e explorar possíveis intervenções terapêuticas multidisciplinares e multigeneralizadas, para mitigar os efeitos do envelhecimento na fisiologia cardiovascular. A busca por essas respostas é crucial para avançar nosso conhecimento na área de fisiologia cardiovascular e fornecer melhores cuidados de saúde para a população envelhecida.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADES, Philip A.; SAVAGE, Patrick D.; HARVEY-BERINO, Jean. **The treatment of obesity in cardiac rehabilitation**. Journal of cardiopulmonary rehabilitation and prevention, v. 30, n. 5, p. 289, 2010.

AIRES, Margarida de Mello; (Ed.) ABDULKADER, Fernando. **Fisiologia**, 5ª Edição. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2018.

AFFIUNE, Abrahão. **Envelhecimento cardiovascular**. Freitas EV. Tratado de geriatria e gerontologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

AGARWAL, Deepmala *et al.* **Role of proinflammatory cytokines and redox homeostasis in exercise-induced delayed progression of hypertension in spontaneously hypertensive rats**. Hypertension, v. 54, n. 6, p. 1393-1400, 2009.

ALVIM, Rafael de Oliveira *et al.* **Rigidez arterial: Aspectos fisiopatológicos e genéticos**. International Journal of Cardiovascular Sciences, v. 30, p. 433-441, 2017.

AMARAL, S. L. Zorn TM, Michelini LC. **Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats**. J Hypertens, v. 18, p. 1563-1572, 2000.

ARTHAM, Surya M. *et al.* **Clinical impact of left ventricular hypertrophy and implications for regression**. Progress in cardiovascular diseases, v. 52, n. 2, p. 153-167, 2009.

BACCHI, Elisabetta *et al.* **Metabolic effects of aerobic training and resistance training in type 2 diabetic subjects: a randomized controlled trial (the RAED2 study)**. Diabetes care, v. 35, n. 4, p. 676-682, 2012.

BAZAN, Silméia Garcia Zanati *et al.* **Cardiomiopatia hipertrófica–revisão**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 115, p. 927-935, 2020.

BERGMANN, Olaf *et al.* **Evidence for cardiomyocyte renewal in humans**. Science, v. 324, n. 5923, p. 98-102, 2009.

BIAU, David Jean; KERNÉIS, Solen; PORCHER, Raphaël. **Statistics in brief: the importance of sample size in the planning and interpretation of medical research**. Clinical orthopaedics and related research, v. 466, p. 2282-2288, 2008.

BLACKBURN, Elizabeth H.; GALL, Joseph G. **A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in Tetrahymena**. Journal of molecular biology, v. 120, n. 1, p. 33-53, 1978.

BONOW, Robert O. *et al.* **Braunwald's heart disease e-book: A textbook of cardiovascular medicine**. Elsevier Health Sciences, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS - Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde. **Óbitos p/ Ocorrência por Faixa Etária segundo Capítulo CID-10.** Brasília, DF, DATASUS, [s. d.]. Available at: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>. Acessado em: 15 set. 2023.

_____. **Valor médio AIH por Faixa Etária 1 segundo Capítulo CID-10.** [s. d.]. Available at: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>. Acessado em: 15 set. 2023.

_____. **Valor médio interno por Faixa Etária 1 segundo Capítulo CID-10.** [s. d.]. Available at: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>. Acessado em: 15 set. 2023.

_____. **Valor total por Faixa Etária 1 segundo Capítulo CID-10.** [s. d.]. Available at: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>. Acessado em: 15 set. 2023.

BRITO, Francisco Carlos de; LITVOC, C. J. **Conceitos básicos.** Envelhecimento—prevenção e promoção de saúde. São Paulo: Atheneu, p. 1-16, 2004.

BURKE JR, Kenneth J.; BENDER, Kevin J. **Modulation of ion channels in the axon: mechanisms and function.** *Frontiers in cellular neuroscience*, v. 13, p. 221, 2019.

CAMICI, Giovanni G. *et al.* **Molecular mechanism of endothelial and vascular aging: implications for cardiovascular disease.** *European heart journal*, v. 36, n. 48, p. 3392-3403, 2015.

CABANELAS, Nuno; MARTINS, Vítor Paulo. **Laminopatias: uma caixa de Pandora com insuficiência cardíaca, bradiarritmias e morte súbita.** *Revista Portuguesa de Cardiologia*, v. 34, n. 2, p. 139. e1-139. e5, 2015.

CARNEIRO, Luiz Augusto F. *et al.* **Envelhecimento populacional e os desafios para o sistema de saúde brasileiro.** São Paulo: Instituto de Estudos de Saúde Suplementar, 2013.

CELERMAJER, D. S. Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, and Deanfield JE. **Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women.** *J Am Coll Cardiol*, v. 24, p. 471-476, 1994.

CHEITLIN, Melvin D. **Cardiovascular physiology—changes with aging.** *The American journal of geriatric cardiology*, v. 12, n. 1, p. 9-13, 2003.

CHEN, Xiaojing *et al.* **Incremental changes in QRS duration as predictor for cardiovascular disease: a 21-year follow-up of a randomly selected general population.** *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 13652, 2021.

CHOBANIAN, A. V. *et al.* **The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure.** *JAMA*, v. 289, p. 2560-72, 2003.

CHOI, Sabrina *et al.* **Slowing down as we age: aging of the cardiac pacemaker's neural control.** *Geroscience*, p. 1-17, 2022.

COPPÉ, Jean-Philippe *et al.* **The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression.** Annual review of pathology: mechanisms of disease, v. 5, p. 99-118, 2010.

COPPÉ, Jean-Philippe *et al.* **Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor.** PLoS biology, v. 6, n. 12, p. e301, 2008.

COSTA, Tatiana; PEREIRA, Telmo. **Determinantes e moduladores do envelhecimento arterial no idoso. Abordagem geriátrica ampla na promoção de um envelhecimento ativo e saudável: componentes do modelo de intervenção.** AGA@ 4life, n. 1, p. 153-168, 2019.

CSISZAR, A. Ungvari Z, Edwards JG, Kaminski P, Wolin MS, Koller A, Kaley G. **Aging-induced phenotypic changes and oxidative stress impair coronary arteriolar function.** Circ Res, v. 90, p. 1159-1166, 2002.

CURTIS, Elizabeth *et al.* **Determinants of muscle and bone aging.** Journal of cellular physiology, v. 230, n. 11, p. 2618-2625, 2015.

CVPHYSIOLOGY.COM. **Mecanismos de Transdução de Sinal Vascular.** cvphysiology.Com, 2024. Disponível em: <https://cvphysiology.com/blood-pressure/bp011b>. Acesso em: 31 de janeiro de 2024.

DALEY, Monica J.; SPINKS, Warwick L. **Exercise, mobility and aging.** Sports medicine, v. 29, p. 1-12, 2000.

DELP, Michael D. *et al.* **Ageing diminishes endothelium-dependent vasodilatation and tetrahydrobiopterin content in rat skeletal muscle arterioles.** The Journal of physiology, v. 586, n. 4, p. 1161-1168, 2008.

DE OLIVEIRA, Mateus Silva; REZENDE, Paulo Cury; DE MORAES, Ricardo Casalino Sanches. **Envelhecimento Cardiovascular e Doenças Cardiovasculares em Idosos.** 2010.

DREW, Barbara J. *et al.* **Prevention of torsade de pointes in hospital settings: a scientific statement from the American Heart Association and the American College of Cardiology Foundation.** Circulation, v. 121, n. 8, p. 1047-1060, 2010.

DONATO, Anthony J. *et al.* **Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium-dependent dilation and upregulation of nuclear factor- κ B.** Circulation research, v. 100, n. 11, p. 1659-1666, 2007.

DUNBAR, Sandra B. *et al.* **Projected costs of informal caregiving for cardiovascular disease: 2015 to 2035: a policy statement from the American Heart Association.** Circulation, v. 137, n. 19, p. e558-e577, 2018.

EL ASSAR, Mariam *et al.* **Mechanisms involved in the aging-induced vascular dysfunction.** Frontiers in physiology, v. 3, p. 132, 2012.

ELLIOTT, Jordan; MAINARDI, Luca; RODRIGUEZ MATAS, Jose Felix. **Cellular heterogeneity and repolarisation across the atria: an in silico study**. Medical & Biological Engineering & Computing, v. 60, n. 11, p. 3153-3168, 2022.

EVAN, Gerard I.; DI FAGAGNA, Fabrizio d'Adda. **Cellular senescence: hot or what?**. Current opinion in genetics & development, v. 19, n. 1, p. 25-31, 2009.

EVERAGE, Nicholas J. *et al.* **Social and behavioral risk marker clustering associated with biological risk factors for coronary heart disease: NHANES 2001–2004**. BioMed Research International, v. 2014, 2014.

FECHINE, Basílio Rommel Almeida; TROMPIERI, Nicolino. **O processo de envelhecimento: as principais alterações que acontecem com o envelhecido com o passar dos anos**. InterScience Place, v. 1, n. 20, 2012.

FERRARI, Alberto U.; RADAELLI, Alberto; CENTOLA, Marco. **Invited review: aging and the cardiovascular system**. Journal of Applied Physiology, v. 95, n. 6, p. 2591-2597, 2003.

FINE, Lawrence J. *et al.* **Prevalence of multiple chronic disease risk factors: 2001 National Health Interview Survey**. American journal of preventive medicine, v. 27, n. 2, p. 18-24, 2004.

FLEENOR, Bradley S. *et al.* **Arterial stiffening with ageing is associated with transforming growth factor- β 1-related changes in adventitial collagen: reversal by aerobic exercise**. The Journal of physiology, v. 588, n. 20, p. 3971-3982, 2010.

FLEG, Jerome L. *et al.* **Impact of age on the cardiovascular response to dynamic upright exercise in healthy men and women**. Journal of applied physiology, v. 78, n. 3, p. 890-900, 1995.

FRANKLIN, Stanley S. *et al.* **Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The Framingham Heart Study**. Circulation, v. 100, n. 4, p. 354-360, 1999.

FREEDMAN, Vicki A.; MARTIN, Linda G.; SCHOENI, Robert F. **Recent trends in disability and functioning among older adults in the United States: a systematic review**. Jama, v. 288, n. 24, p. 3137-3146, 2002.

FREITAS, Elizabete Viana de *et al.* **Tratado de geriatria e gerontologia**. Tratado de geriatria e gerontologia. 2006. p. 1665-1665.

FREUND, Adam *et al.* **Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker**. Molecular biology of the cell, v. 23, n. 11, p. 2066-2075, 2012.

FURCHGOTT, Robert F.; VANHOUTTE, Paul M. **Endothelium-derived relaxing and contracting factors**. The FASEB Journal, v. 3, n. 9, p. 2007-2018, 1989.

FURCHGOTT, Robert F.; ZAWADZKI, John V. **The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine**. Nature, v. 288, n. 5789, p. 373-376, 1980.

GALETTA, Fabio *et al.* **Lifelong physical training prevents the age-related impairment of heart rate variability and exercise capacity in elderly people.** Journal of Sports Medicine and Physical Fitness, v. 45, n. 2, p. 217, 2005.

GALLAHUE, D.L. E OZMUN, J.C. **Compreendendo o desenvolvimento motor: bebês, crianças, adolescentes e adultos.** 3 a Edição. São Paulo: Phorte, 2005.

GANDO, Yuko *et al.* **Attenuated age-related carotid arterial remodeling in adults with a high level of cardiorespiratory fitness.** Journal of atherosclerosis and thrombosis, v. 18, n. 3, p. 248-254, 2011.

GARCEZ-LEME, Luiz E.; LEME, Mariana. **Deckers. Costs of elderly health care in Brazil: challenges and strategies.** Medical Express, v. 1, p. 3-8, 2014.

GAVA, Alessandra Aparecida; ZANONI, Jacqueline Nelisis. **Envelhecimento celular.** Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR, v. 9, n. 1, 2005.

GENECARDS. **Gene MRC2 - Receptor de Manose C Tipo 2.** genecards.org, 2024. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MRC2>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2024.

GOLDBERGER, Ary L. **Clinical Electrocardiography: A Simplified Approach.** 7th ed. Philadelphia, Pa: Mosby Elsevier; 2006.

GOTTLIEB, Maria GV; BONARDI, Gislaïne; MORIGUCHI, EMÍLO H. **Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose.** Scientia Medica, v. 15, n. 3, p. 203-7, 2005.

GUPTA, Jessica *et al.* **Effects of Aging on the Heart and Blood Vessels. Effects of Aging on the Heart and Blood Vessels.** University of Michigan Health, 2022. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/home/heart-and-blood-vessel-disorders/biology-of-the-heart-and-blood-vessels/effects-of-aging-on-the-heart-and-blood-vessels>. Acesso em: 8 dez. 2023.

HAYFLICK, Leonard; MOORHEAD, Paul S. **The serial cultivation of human diploid cell strains.** Experimental cell research, v. 25, n. 3, p. 585-621, 1961.

HARIHARAN, Nirmala; SUSSMAN, Mark A. **Cardiac aging—getting to the stem of the problem.** Journal of molecular and cellular cardiology, v. 83, p. 32-36, 2015.

HARPER, J. Wade *et al.* **The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases.** Cell, v. 75, n. 4, p. 805-816, 1993.

HAVMOLLER, Rasmus *et al.* **Age-related changes in P wave morphology in healthy subjects.** BMC Cardiovascular Disorders, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2007.

HMD, Human Mortality Database. **Mortalidade infantil - SUÉCIA.** [S. l.], 7 ago. 2022. Disponível em: <https://www.mortality.org/Country/Country?cntr=SWE>. Acesso em: 8 jan. 2024.

HENEIN, Michael *et al.* **High dose and long-term statin therapy accelerate coronary artery calcification.** International journal of cardiology, v. 184, p. 581-586, 2015.

HERBIG, Utz *et al.* **Telomere shortening triggers senescence of human cells through a pathway involving ATM, p53, and p21CIP1, but not p16INK4a.** Molecular cell, v. 14, n. 4, p. 501-513, 2004.

HOFFMANN, P *et al.* **Effect of spontaneous running on blood pressure, heart rate and cardiac dimensions in developing and established spontaneous hypertension in rats.** Acta physiologica scandinavica, v. 129, n. 4, p. 535-542, 1987.

HOGAN, Michael. **Physical and cognitive activity and exercise for older adults: a review.** The International Journal of Aging and Human Development, v. 60, n. 2, p. 95-126, 2005.

HOLTZE, Susanne *et al.* **Alternative animal models of aging research.** Frontiers in molecular biosciences, v. 8, p. 660-959, 2021.

HSIEH, Edward J. *et al.* **Saccharomyces cerevisiae Coq9 polypeptide is a subunit of the mitochondrial coenzyme Q biosynthetic complex.** Archives of biochemistry and biophysics, v. 463, n. 1, p. 19-26, 2007.

HULLEY S.B.; *et al.* **Designing Clinical Research: An Epidemiologic Approach.** 4th edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Projeções da população: Brasil e unidades da Federação.** Brasília, DF: IBGE. [S. l.: s. n.], vol. 40, 2018.

_____. **Projeções 2018 (população 2010-2060). In: Projeções 2018 (população 2010-2060).** 4 jul. 2018. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9109-projecao-da-populacao.html?=&t=downloads>. Acesso em: 11 jan. 2024.

_____. **Censo 2022: número de pessoas com 65 anos ou mais de idade cresceu 57,4% em 12 anos.** Agência de Notícias, 2023. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/38186-censo-2022-numero-de-pessoas-com-65-anos-ou-mais-de-idade-cresceu-57-4-em-12-anos>. Acesso em: 17 de fevereiro de 2024.

_____. **Panorama do Censo 2022.** Brasil, BR. Disponível em: <https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/>. Acesso em: 17 de fevereiro de 2024.

JANI, B.; RAJKUMAR, C. **Ageing and vascular ageing.** Postgraduate medical journal, v. 82, n. 968, p. 357-362, 2006.

JOHN, M. (3 Ed.). **A dictionary of epidemiology.** New York, NY, USA: Oxford university press, 1995.

JOHNSON, C. *et al.* **Age related changes in the tunica media of the vertebral artery: implications for the assessment of vessels injured by trauma.** Journal of clinical pathology, v. 54, n. 2, p. 139, 2001.

JOYNER, Michael J.; GREEN, Daniel J. **Exercise protects the cardiovascular system: effects beyond traditional risk factors.** The Journal of physiology, v. 587, n. 23, p. 5551-5558, 2009.

KALACHE, Alexandre *et al.* **Envelhecimento e desigualdades: políticas de proteção social aos idosos em função da Pandemia Covid-19 no Brasil.** Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia, v. 23, 2020.

KALACHE, Alexandre; VERAS, Renato P.; RAMOS, Luiz Roberto. **O envelhecimento da população mundial: um desafio novo.** Revista de Saúde Pública, v. 21, p. 200-210, 1987.

KANNEL WB, *et al.* **An epidemiological perspective of personalized medicine: the Framingham Heart Study.** Per Med. vol.11, cap. 1, p. 7-14, 1994.

KINKER, Gabriela Sarti. **Causes and consequences of intratumoral cellular heterogeneity and the role of the melatonergic system in brain tumors.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2019.

KLIGFIELD, Paul *et al.* **Recommendations for the standardization and interpretation of the electrocardiogram: part I: the electrocardiogram and its technology: a scientific statement from the American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee, Council on Clinical Cardiology; the American College of Cardiology Foundation; and the Heart Rhythm Society endorsed by the International Society for Computerized Electrocardiology.** Circulation, v. 115, n. 10, p. 1306-1324, 2007.

KONSTAM, Marvin A. *et al.* **Left ventricular remodeling in heart failure: current concepts in clinical significance and assessment.** JACC: Cardiovascular imaging, v. 4, n. 1, p. 98-108, 2011.

KWON, Dayoon; BELSKY, Daniel W. **A toolkit for quantification of biological age from blood chemistry and organ function test data: BioAge.** GeroScience, v. 43, p. 2795-2808, 2021.

KUILMAN, Thomas *et al.* **The essence of senescence.** Genes & development, v. 24, n. 22, p. 2463-2479, 2010.

KURIAN, Justin *et al.* **Transcriptional profiling of cardiac cells links age-dependent changes in Acetyl-CoA signaling to chromatin modifications.** International Journal of Molecular Sciences, v. 22, n. 13, p. 6987, 2021.

LAKATTA, Edward G. **So! What's aging? Is cardiovascular aging a disease?.** Journal of molecular and cellular cardiology, v. 83, p. 1-13, 2015.

LAKATTA, Edward G.; LEVY, Daniel. **Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease.** Circulation, v. 107, n. 1, p. 139-146, 2003.

LAKATTA, Edward G.; LEVY, Daniel. **Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease.** *Circulation*, v. 107, n. 2, p. 346-354, 2003.

LAKATTA, Edward G. **Age-associated cardiovascular changes in health: impact on cardiovascular disease in older persons.** *Heart failure reviews*, v. 7, p. 29-49, 2002.

LAZZERONI, Davide *et al.* **The Aging Heart: A Molecular and Clinical Challenge.** *International journal of molecular sciences*, v. 23, n. 24, p. 16033, 2022.

LEUNG, Fung Ping *et al.* **Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an update (Part 1).** *Sports Medicine*, v. 38, p. 1009-1024, 2008.

LEUNG, Michael CH; MEREDITH, Ian T.; CAMERON, James D. **Aortic stiffness affects the coronary blood flow response to percutaneous coronary intervention.** *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v. 290, n. 2, p. H624-H630, 2006.

LEVY, Wilson PW D.' Agostino RB; KANNEL, D. Belanger AM Silbershatz H. WB **Prediction of coronary heart disease using risk factor categories.** *Circulation*, v. 97, n. 1837, p. 1847, 1998.

LI, Chaoyang *et al.* **Clustering of cardiovascular disease risk factors and health-related quality of life among US adults.** *Value in Health*, v. 11, n. 4, p. 689-699, 2008.

LIBBY, Peter. **How does lipid lowering prevent coronary events? New insights from human imaging trials.** *European heart journal*, v. 36, n. 8, p. 472-474, 2015.

LIDZBARSKY, Gabriel *et al.* **Genomic instabilities, cellular senescence, and aging: in vitro, in vivo and aging-like human syndromes.** *Frontiers in Medicine*, v. 5, p. 104, 2018.

LIMA-COSTA, Maria Fernanda; BARRETO, Sandhi Maria. **Tipos de estudos epidemiológicos: conceitos básicos e aplicações na área do envelhecimento.** *Epidemiologia e serviços de saúde*, v. 12, n. 4, p. 189-201, 2003.

LIMA-COSTA, Maria Fernanda; BARRETO, Sandhi Maria; GIATTI, Luana. **Condições de saúde, capacidade funcional, uso de serviços de saúde e gastos com medicamentos da população idosa brasileira: um estudo descritivo baseado na Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios.** *Cadernos de Saúde Pública*, v. 19, p. 735-743, 2003.

LITVINŮKOVÁ, Monika *et al.* **Cells and gene expression programs in the adult human heart.** *BioRxiv*, p. 2020.04. 03.024075, 2020.

LUO, Xian *et al.* **Ageing increases cardiac electrical remodelling in rats and mice via NOX4/ROS/CaMKII-mediated calcium signalling.** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2022, 2022.

ŁYSEK-GLADYSIŃSKA, Małgorzata *et al.* **Aging-related changes in the ultrastructure of hepatocytes and cardiomyocytes of elderly mice are enhanced in ApoE-deficient animals.** *Cells*, v. 10, n. 3, p. 502, 2021.

MACFARLANE, Peter W. **The influence of age and sex on the electrocardiogram.** Sex-Specific Analysis of Cardiovascular Function, p. 93-106, 2018.

MANGONI, Arduino A. *et al.* **Impact of age on QT interval and QT dispersion in healthy subjects: a regression analysis.** Age and ageing, v. 32, n. 3, p. 326-331, 2003.

MARTIN, George M. **Epigenetic gambling and epigenetic drift as an antagonistic pleiotropic mechanism of aging.** Aging Cell, v. 8, n. 6, p. 761-764, 2009.

MATSUOKA, Shuhei *et al.* **ATM and ATR substrate analysis reveals extensive protein networks responsive to DNA damage.** Science, v. 316, n. 5828, p. 1160-1166, 2007.

MCENIERY, Carmel M.; WILKINSON, Ian B.; AVOLIO, Albert P. **Age, hypertension and arterial function.** Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, v. 34, n. 7, p. 665-671, 2007.

MCHUGH, Domhnall; GIL, Jesús. **Senescence and aging: Causes, consequences, and therapeutic avenues.** Journal of Cell Biology, v. 217, n. 1, p. 65-77, 2018.

MEHDIZADEH, Mozhddeh *et al.* **The role of cellular senescence in cardiac disease: basic biology and clinical relevance.** Nature Reviews Cardiology, v. 19, n. 4, p. 250-264, 2022.

MENDES, Romeu; BARATA, JL Themudo. **Envelhecimento e pressão arterial.** Acta Médica Portuguesa, v. 21, n. 2, p. 193-198, 2008.

MIRANDA, Marciano Robson de; LIMA, Luciana Moreira. **Marcadores bioquímicos do infarto agudo do miocárdio.** Rev. méd. Minas Gerais, 2014.

MOEBIUS-WINKLER, Sven; SCHULER, Gerhard; ADAMS, Volker. **Endothelial progenitor cells and exercise-induced redox regulation.** Antioxidants & redox signaling, v. 15, n. 4, p. 997-1011, 2011.

MOITA, Maria Raquel *et al.* **Transcriptome and proteome profiling of activated cardiac fibroblasts supports target prioritization in cardiac fibrosis.** Frontiers in cardiovascular medicine, v. 9, p. 1015473, 2022.

MONCADA, S. **The L-arginine: nitric oxide pathway.** Acta Physiol. Scand., v. 145, p. 201-227, 1993.

MORA, Samia *et al.* **Physical activity and reduced risk of cardiovascular events: potential mediating mechanisms.** Circulation, v. 116, n. 19, p. 2110-2118, 2007.

MOREAU, Kerrie L. *et al.* **Oxidative stress explains differences in large elastic artery compliance between sedentary and habitually exercising postmenopausal women.** Menopause, v. 13, n. 6, p. 951-958, 2006.

MORGUNOVA, Valeriya *et al.* **Telomeric repeat silencing in germ cells is essential for early development in Drosophila.** Nucleic Acids Research, v. 44, n. 15, p. 7509, 2016.

MOTTA, Luciana Branco da. **Processo do envelhecimento**. Saúde do Idoso: a arte de cuidar. 2004. p. 117-124.

NAGUEH, Sherif F. *et al.* **Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging**. European Journal of Echocardiography, v. 17, n. 12, p. 1321-1360, 2016.

NASRI, Fabio. **O envelhecimento populacional no Brasil**. Einstein, v. 6, n. Supl 1, p. S4-S6, 2008.

NICHOLS, W. W.; O'ROURKE M. F.; VLACHOPOULOS, C. **McDonald's. blood flow in arteries: theoretical, experimental and clinical principles**. 6.ed. Boca Raton (FL): Taylor & Francis Group; 2011.

NORTH, Brian J.; SINCLAIR, David A. **The intersection between aging and cardiovascular disease**. Circulation research, v. 110, n. 8, p. 1097-1108, 2012.

NUNES, Mariane de Oliveira *et al.* **Variabilidade da frequência cardíaca e sistema nervoso autônomo**. XI Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica, 2007.

OLIVEIRA, Adriana Camargo; *et al.* **Envelhecimento Vascular e Rigidez Arterial**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 119, p. 604-615, 2022.

OMMEN, S. R.; NISHIMURA, R. A. **A clinical approach to the assessment of left ventricular diastolic function by Doppler echocardiography: update 2003**. Heart, v. 89, n. suppl 3, p. iii18-iii23, 2003.

ONU - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **População mundial deve ter mais 2 bilhões de pessoas nos próximos 30 anos**. ONU News. News. Un.Org, 2024, disponível em: <https://news.un.org/pt/story/2019/06/1676601>. Acessado: 29/01/2024.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Relatório Mundial da Saúde 2002: prevenir riscos, promover vida saudável**. Genebra: OMS, 2002.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Década do Envelhecimento Saudável: Relatório de Linha de Base. Resumo**. Washington, DC: OPAS; 2022.

O'ROURKE, Michael F. **Basic concepts for the understanding of large arteries in hypertension**. Journal of Cardiovascular Pharmacology, v. 7, p. S14-21, 1985.

OTTO, Catherine M.; PRENDERGAST, Bernard. **Aortic-valve stenosis—from patients at risk to severe valve obstruction**. New England Journal of Medicine, v. 371, n. 8, p. 744-756, 2014.

OVADYA, Yossi *et al.* **Impaired immune surveillance accelerates accumulation of senescent cells and aging**. Nature communications, v. 9, n. 1, p. 5435, 2018.

PAHO. **Década do Envelhecimento Saudável nas Américas (2021-2030)**. Paho.org, 2024. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/decada-do-envelhecimento-saudavel-nas-americas-2021-2030>. Acessado 29 Jan 2024.

PAUL, Timir K. *et al.* **Impact of multiple cardiovascular risk factors on femoral artery intima-media thickness in asymptomatic young adults (the Bogalusa Heart Study)**. The American journal of cardiology, v. 95, n. 4, p. 469-473, 2005.

PARADIES, Giuseppe *et al.* **Oxidative stress, mitochondrial bioenergetics, and cardiolipin in aging**. Free Radical Biology and Medicine, v. 48, n. 10, p. 1286-1295, 2010.

PASCHOAL, M. A. *et al.* **Variabilidade da frequência cardíaca em diferentes faixas etárias**. Brazilian journal of physical therapy, v. 10, p. 413-419, 2006.

PASI - Protocolo de Atenção à Saúde do Idoso. **Envelhecimento Saudável em Florianópolis**. Prefeitura municipal de Florianópolis, Secretaria Municipal de Saúde, Departamento de Saúde Pública, 2006.

PIRES, Sueli Luciano; GAGLIARDI, Rubens José; GORZONI, Milton Luiz. **Estudo das frequências dos principais fatores de risco para acidente vascular cerebral isquêmico em idosos**. Arquivos de Neuro-Psiquiatria, v. 62, p. 844-851, 2004.

PREFEITURA MUNICIPAL DE FLORIANÓPOLIS, Secretaria Municipal de Saúde, Departamento de Saúde Pública, PASI - Protocolo de Atenção à Saúde do Envelhecido. **Envelhecimento Saudável em Florianópolis**. 2006.

RABKIN, Simon W.; CHENG, Xin-Bo Justin; THOMPSON, Darby JS. **Detailed analysis of the impact of age on the QT interval**. Journal of geriatric cardiology: JGC, v. 13, n. 9, p. 740, 2016.

REAMY, Brian V.; WILLIAMS, Pamela M.; KUCKEL, Daniel P. **Prevention of cardiovascular disease**. Primary Care: Clinics in Office Practice, v. 45, n. 1, p. 25-44, 2018.

REDFIELD, Margaret M. **Heart failure with preserved ejection fraction**. New England Journal of Medicine, v. 375, n. 19, p. 1868-1877, 2016.

REGINSTER, Jean-Yves *et al.* **Osteoporosis and sarcopenia: two diseases or one?**. Current opinion in clinical nutrition and metabolic care, v. 19, n. 1, p. 31, 2016.

ROMALDINI, Ceres C. *et al.* **Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura**. Jornal de Pediatria, v. 80, p. 135-140, 2004.

ROSENBERG, Irwin H. **Sarcopenia: origins and clinical relevance**. The Journal of nutrition, v. 127, n. 5, p. 990S-991S, 1997.

ROSS, Russell. **Atherosclerosis—an inflammatory disease**. New England journal of medicine, v. 340, n. 2, p. 115-126, 1999.

ROSSI, Stefano *et al.* **Age-related increases in cardiac excitability, refractoriness and impulse conduction favor arrhythmogenesis in male rats.** Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, v. 475, n. 6, p. 731-745, 2023.

SALAMA, Rafik *et al.* **Cellular senescence and its effector programs.** Genes & development, v. 28, n. 2, p. 99-114, 2014.

SANTHANAM, Lakshmi *et al.* **Arginase and vascular aging.** Journal of applied physiology, v. 105, n. 5, p. 1632-1642, 2008.

SANTOS, Flávia Heloísa dos; ANDRADE, Vivian Maria; BUENO, Orlando Francisco Amodeo. **Envelhecimento: um processo multifatorial.** Psicologia em estudo, v. 14, p. 3-10, 2009.

SANTOS, Leonardo dos; TUCCI, Paulo JF. **Remodelamento miocárdico: o cardiomiócito, a função do órgão.** Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo, p. 196-205, 2007.

SCHJERVE, Inga E. *et al.* **Both aerobic endurance and strength training programmes improve cardiovascular health in obese adults.** Clinical science, v. 115, n. 9, p. 283-293, 2008.

SEARA, Fernando AC *et al.* **Cardiac electrical and contractile disorders promoted by anabolic steroid overdose are associated with late autonomic imbalance and impaired Ca²⁺ handling.** Steroids, v. 148, p. 1-10, 2019.

Secretaria do Tesouro Nacional. **Relatório sobre o impacto do envelhecimento da população brasileira no orçamento da saúde.** Brasília: STN, 2019.

SHEPHARD. R.J. **Envelhecimento, atividade física e saúde.** São Paulo: Phorte, 2003.

SHIMI, T. *et al.* **Nuclear lamins in cell regulation and disease.** In: Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2010. p. 525-531.

SIGAL, Ronald J. *et al.* **Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial.** Annals of internal medicine, v. 147, n. 6, p. 357-369, 2007.

SILVA, Aline da *et al.* **Comparação da progressão da senescência em células mesenquimais de parede de cordão umbilical humano medida por imunofluorescência e citometria de fluxo de.** Einstein (São Paulo), v. 18, p.16 e p.21, 2020.

SILVA, Barbara V. *et al.* **Kinase protein: structural features and chemical inhibitors.** Química Nova, v. 32, p. 453-462, 2009.

SILVA, Wallison Junio Martins da; FERRARI, Carlos Kusano Bucalen. **Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento.** Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia, v. 14, p. 441-451, 2011.

SMITH, A. R.; HAGEN, T. M. **Vascular endothelial dysfunction in aging: loss of Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and partial restoration by (R)- α -lipoic acid.** Biochemical Society Transactions, v. 31, n. 6, p. 1447-1449, 2008.

SOUZA, F. P. *et al.* **Sobrevoo: da autogênese passando pela infância e detendo-se na velhice.** Rev. Psicofisiologia, v. 2, 1998.

STEINER, Sabine *et al.* **Endurance training increases the number of endothelial progenitor cells in patients with cardiovascular risk and coronary artery disease.** Atherosclerosis, v. 181, n. 2, p. 305-310, 2005.

STERGIOPULOS, NMJWN; MEISTER, J. J.; WESTERHOF, N. **Evaluation of methods for estimation of total arterial compliance.** American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, v. 268, n. 4, p. H1540-H1548, 1995.

STERN, Shlomo; BEHAR, Solomon; GOTTLIEB, Shmuel. **Aging and diseases of the heart.** Circulation, v. 108, n. 14, p. e99-e101, 2003.

STRAIT, James B.; LAKATTA, Edward G. **Aging-associated cardiovascular changes and their relationship to heart failure.** Heart failure clinics, v. 8, n. 1, p. 143-164, 2012.

STRATTON, J., LEWY, W., CERQUEIRA, M., SCHWARTZ, R. E ABRASS, I. **Cardiovascular responses to exercise effects of aging and exercise training in healthy men.** Circulation, v.89, p.1648-1655, 1994.

SUN, Meng-Wei *et al.* **Low-intensity voluntary running lowers blood pressure with simultaneous improvement in endothelium-dependent vasodilatation and insulin sensitivity in aged spontaneously hypertensive rats.** Hypertension Research, v. 31, n. 3, p. 543-552, 2008.

SURAWICZ, Borys; KNILANS, Timothy. **Chou's electrocardiography in clinical practice: adult and pediatric.** Elsevier Health Sciences, 2008.

TADDEI, Stefano *et al.* **Age-related reduction of NO availability and oxidative stress in humans.** Hypertension, v. 38, n. 2, p. 274-279, 2001.

TARNOKI, A. *et al.* 2d. 05: **Relationship of coronary atherosclerosis with arterial stiffness and central systolic blood pressure.** Journal of hypertension, v. 33, p. e29, 2015.

TAYLOR, Rod S. *et al.* **Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.** The American journal of medicine, v. 116, n. 10, p. 682-692, 2004.

TELLES, J. L. & BORGES, A. P. A. **Velhice e Saúde na Região da África Subsaariana: uma agenda urgente para a cooperação internacional.** Ciência & Saúde Coletiva, v. 18(12), p. 3553-3562, 2013.

TERWOORD, Janée D. *et al.* **ATP and acetylcholine interact to modulate vascular tone and α 1-adrenergic vasoconstriction in humans.** Journal of Applied Physiology, v. 131, n. 2, p. 566-574, 2021.

THANASSOULIS, George *et al.* **Genetic associations with valvular calcification and aortic stenosis.** New England journal of medicine, v. 368, n. 6, p. 503-512, 2013.

TSCHUDI, Marcel Roger *et al.* **Effect of age on kinetics of nitric oxide release in rat aorta and pulmonary artery.** The Journal of clinical investigation, v. 98, n. 4, p. 899-905, 1996.

UNGVARI, Zoltan *et al.* **Endothelial dysfunction and angiogenesis impairment in the ageing vasculature.** Nature Reviews Cardiology, v. 15, n. 9, p. 555-565, 2018.

VANDERLEI, Luiz Carlos Marques *et al.* **Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica.** Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery, v. 24, p. 205-217, 2009.

VAN DEURSEN, Jan M. **The role of senescent cells in ageing.** Nature, v. 509, n. 7501, p. 439-446, 2014.

VAN SLOTEN, Thomas T. *et al.* **Association of change in cardiovascular risk factors with incident cardiovascular events.** Jama, v. 320, n. 17, p. 1793-1804, 2018.

VERAS, Renato. **Envelhecimento populacional contemporâneo: demandas, desafios e inovações.** Revista de Saúde Pública, [S. l.], p. 1-7, 20 nov. 2018.

VITA, J. A. Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, Vekshtein VI, Selwyn AP, and Ganz P. **Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease.** Circulation, v. 81, p. 491-497, 1990.

WAGNER, Galen S. **Marriott's Practical Electrocardiography.** 12th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

WAJNGARTEN, Maurício; RODRIGUES, A. G. **O coração no idoso.** Jornal Diagnósticos em Cardiologia, v. 13, n. 43, p. 1-9, 2010.

WANG, Xi; KHALIL, Raouf A. **Matrix metalloproteinases, vascular remodeling, and vascular disease.** Advances in pharmacology, v. 81, p. 241-330, 2018.

WEI, Z. H.; PENG, Q. L.; LAU, B. H. S. **Pycnogenol enhances endothelial cell antioxidant defenses.** Redox Report, v. 3, n. 4, p. 219-224, 1997.

XAVIER, Hermes T. *et al.* **V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose.** Arquivos brasileiros de cardiologia, v. 101, p. 1-20, 2013.

YUCEL, C. *et al.* **Left ventricular hypertrophy and arterial stiffness in essential hypertension.** BRATISLAVA MEDICAL JOURNAL-BRATISLAVSKE LEKARSKE LISTY, v. 116, n. 12, 2015.

YUGAR-TOLEDO, Juan Carlos *et al.* **Disfunção Endotelial e Hipertensão Arterial.** Rev Bras Hipertens vol, v. 22, n. 3, p. 84-92, 2015.

ZHANG, Tian Yu *et al.* **Effect of aging and sex on cardiovascular structure and function in wildtype mice assessed with echocardiography.** Scientific Reports, v. 11, n. 1, p. 22800, 2021.

ZHANG, Yi *et al.* **Carotid–femoral pulse wave velocity in the elderly.** Journal of hypertension, v. 32, n. 8, p. 1572-1576, 2014.

ZHOLOS, A. V. *et al.* **Cholinergic excitation of smooth muscles: multiple signaling pathways linking M 2 and M 3 muscarinic receptors to cationic channels.** Neurophysiology, v. 36, p. 398-406, 2004.

ZHU, Min *et al.* **The effect of age on osteogenic, adipogenic and proliferative potential of female adipose-derived stem cells.** Journal of tissue engineering and regenerative medicine, v. 3, n. 4, p. 290-301, 2009.

ZIEMAN, Susan J.; MELENOVSKY, Vojtech; KASS, David A. **Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness.** Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, v. 25, n. 5, p. 932-943, 2005.

ZIPES, Douglas P.; JALIFE, José. **Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside.** 6th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2014.