



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Gabriela Roncada Haddad

**Estudo morfo-funcional cardíaco em jovens em uso de
isotretinoína oral para tratamento de acne**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em
Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Paula Schmidt Azevedo Gaiolla
Co-orientador: Prof. Adjunto Hélio Amante Miot
Co-orientador: Prof. Titular Sérgio Alberto Rupp de Paiva

Botucatu, 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Haddad, Gabriela Roncada.

Estudo morfo-funcional cardíaco em jovens em uso de isotretinoína oral para tratamento de acne / Gabriela Roncada Haddad. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Paula Schmidt Asevedo Gaiolla

Coorientador: Hélio Amante Miot

Coorientador: Sérgio Alberto Rupp de Paiva

Capes: 40101002

1. Tretinoína. 2. Acne. 3. Remodelação ventricular.
4. Sistema renina-angiotensina. 5. Aldosterona.

Palavras-chave: Ácido retinóico; Remodelação cardíaca; Sistema renina angiotensina aldosterona.

**Estudo morfo-funcional cardíaco em jovens em uso de
isotretinoína oral para tratamento de acne.**

Autor: Gabriela Roncada Haddad

Orientador: Profa. Dra. Paula Schmidt Azevedo Gaiolla

Co-orientador: Prof. Adjunto Hélio Amante Miot

Co-orientador: Prof. Titular Sérgio Alberto Rupp de Paiva

RESUMO

Introdução: A influência do ácido retinoico (AR) sobre o coração é bastante relevante, ocorrendo durante a embriogênese, diferenciação e desenvolvimento cardíaco. Estudos experimentais mostram que o AR pode induzir hipertrofia excêntrica com melhora da função cardíaca em coração de ratos saudáveis, e também reduzir a hipertrofia, modulando o sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), em animais hipertensos. Pouco se sabe sobre os efeitos do AR em coração de humanos. Pacientes portadores de acne fazem uso de um tipo de AR que é o 13-cis-AR, também chamado de isotretinoína e por isso possibilitam o estudo do papel do AR em humanos. Estudo prévio mostrou que com 2 meses de uso do 13-cis-AR houve remodelação cardíaca. Entretanto, não se sabe sobre os mecanismos ou se essas alterações são reversíveis.

Objetivos: Portanto, os objetivos desse trabalho são de comparar a avaliação morfofuncional cardíaca e variáveis do SRAA entre pacientes em uso de isotretinoína com um grupo controle. Adicionalmente, avaliar se as alterações são reversíveis em pacientes em uso de isotretinoína.

Casuística e Métodos: Foram estudados 35 adolescentes e adultos jovens, com idade entre 14 e 23 anos, do sexo masculino, sendo 20 deles em uso de isotretinoína oral, na dose de 0,5 mg/kg/dia a 0,75 mg/kg/dia, acompanhados no

ambulatório de dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP), aos 6 meses de tratamento..

Os outros 15 pacientes foram convidados na comunidade ou apresentavam acne leve com indicação apenas de tratamento tópico.

Foram realizados avaliação morfofuncional e doppler tissular por meio de ecocardiografia transtorácica, dosagens bioquímicas de rotina e dosagens de componentes do SRAA renina, angiotensina I, angiotensina II, aldosterona, angiotensina 1-7 e alamandina. Essas variáveis foram comparadas nos grupos controle e isotretinoína pelo teste t de student ou Mann Whitney.

Os pacientes que receberam isotretinoína foram estudados antes do início do tratamento, com 6 meses de tratamento e 2 meses após o término do tratamento.

Esses momentos foram comparados por meio do teste de Anova de 1 via de medidas repetidas.

O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados: Os pacientes do grupo controle e isotretinoína apresentaram a mesma idade, índice de massa corporal, pressão arterial e frequência cardíaca.

Dosagens bioquímicas habitualmente solicitadas durante o tratamento como enzimas hepáticas, função renal e triglicérides também foram semelhantes entre os grupos.

Os dados morfológicos mostraram aumento do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE) acompanhado de aumento do débito cardíaco e do fluxo transmitral avaliado por E/E'. Houve aumento do volume do átrio esquerdo (AE), no limite da significância e tendência ao aumento da massa do ventrículo

esquerdo (VE) e com espessura relativa da parede semelhante entre os grupos.

Sobre o SRAA houve redução da angiotensina II e da renina.

Na avaliação ecocardiográfica apenas dos pacientes em uso de isotretinoína observou-se que houve redução do AE e do índice de massa do VE (IMVE) após 2 meses do término do tratamento. Embora não significativo, o comportamento de E/E' também foi de redução após o tratamento.

Discussão: O 13-cis-AR promove remodelação cardíaca, provavelmente induzida por hipervolemia, levando a um padrão de hipertrofia excêntrica com melhora da função. Essas alterações provavelmente levaram a menor ativação do SRAA visto pela redução da renina e angiotensina II. Esse perfil de remodelação e de bloqueio do SRAA é semelhante ao que ocorre no exercício físico.

Nesse estudo foi possível apenas avaliar o grupo isotretinoína, quanto às variáveis ecocardiográficas antes, durante e após o tratamento. Observa-se que o término do estímulo com 13-cis-AR reduz algumas variáveis como átrio esquerdo e massa do VE. Portanto, em corações normais de adultos jovens, o AR atenuou o efeito de SRAA e promoveu remodelação cardíaca do tipo excêntrica, com melhora da função, compatível com sobrecarga volêmica e com caráter transitório.

1. Introdução

Acne

Definição: A acne vulgar é dermatose crônica, comum em adolescentes. É doença do folículo pilossebáceo, que possui, como fatores fundamentais, hiperprodução sebácea, hiperqueratinização folicular, colonização bacteriana principalmente por *Propionibacterium acnes* e inflamação dérmica periglandular. Ocorre em todas as raças, embora seja menos intensa em orientais e negros, e manifesta-se mais gravemente no sexo masculino ¹. A acne vulgar é uma desordem multifatorial da unidade pilossebácea.

Epidemiologia: Não existe perfil epidemiológico universal da acne. Aceita-se o fato de que sua prevalência varie entre 35% e 90% nos adolescentes, com incidência de 79% a 95% entre os adolescentes do Ocidente ²; pode chegar a 100% em ambos os sexos ³. Em geral, observa-se que a acne acomete 95% dos meninos e 83% das meninas com 16 anos de idade ^{4,5,6,7}.

O aparecimento é precoce (11 anos para meninas e 12 para meninos), com prevalência maior entre os homens, graças à influência androgênica ^{6,8,9}.

A influência genética na acne é muito importante, acreditando-se que ela seja maior quanto maior for o grau da dermatose. Para acne grau I, essa participação é de 88%; para a grau II, 86%; para a grau III, 100%. Em indivíduos sem acne, a ocorrência familiar é de 40% ^{6,9}. A influência genética ocorre sobre o controle hormonal, a hiperqueratinização folicular e a secreção sebácea, mas não sobre a infecção bacteriana ⁶.

Apesar de poder afetar todos os grupos etários nas suas muitas variantes, é uma desordem principalmente da adolescência. O impacto econômico, bem como o psicossocial da acne é inegável, frequentemente causando introspecção e isolamento social naqueles que são afetados ¹⁰.

Etiopatogenia: Os fatores implicados na etiopatogenia da acne vulgar são ^{6,11-14} :

1. hiperprodução de sebo glandular;
2. hiperqueratinização folicular;
3. colonização bacteriana follicular pelo *Propionibacterium acnes*; e
4. liberação de mediadores da inflamação no folículo e derme adjacente.

Os fatores genéticos e a influência hormonal são fatores coadjuvantes importantes na etiopatogenia da acne vulgar, com os hormônios exercendo papel que pode ser vital para o surgimento e/ou manutenção do quadro dessa dermatose em alguns de seus portadores ⁶.

Quadro Clínico: O quadro clínico pode variar significativamente, de acne comedoniana leve a doença sistêmica fulminante.

Tratamento: Não há dúvidas de que a acne sempre deve ser tratada, o mais precocemente possível, independente da idade do doente, para evitar a evolução para as formas inflamatórias que podem deixar cicatrizes e desencadear repercussões psicossociais sérias, com impacto negativo na qualidade de vida desses indivíduos ^{7,15,16}.

O tratamento da acne deve ser individualizado e pode ser feito com medicações tópicas nos casos mais leves, sabonetes, tratamento hormonal no caso das mulheres acometidas, antibióticos sistêmicos e derivados retinóides em casos mais intensos.

Antes da década de 1940, não havia tratamento efetivo para a acne. Aguardava-se a cura espontânea ou prescreviam-se as poucas opções existentes, tais como tópicos de baixa eficácia e tratamentos sistêmicos também ineficazes. Em seguida, passou-se a usar, por via sistêmica, os quimioterápicos e antibióticos como as tetraciclina, eritromicina, sulfas e sulfona; os corticóides e os antiandrogênicos. Entre 1960 e 1990, produtos tópicos eficazes foram sendo introduzidos no tratamento da acne vulgar, tais como peróxido de benzoíla, retinóides, como a tretinoína, antibióticos, como a eritromicina e a clindamicina e ácido azelaico ⁷.

A isotretinoína oral revolucionou a abordagem da doença, representando a única opção capaz de levar à remissão prolongada ou cura da acne por atuar em todos os mecanismos etiopatogênicos conhecidos até o momento. Evidentemente, deve ser prescrita de acordo com as recomendações vigentes e reservada para casos de difícil controle, com tendência a cicatrizes e com sérias repercussões psicossociais. Outras modalidades terapêuticas, tópicas e/ou sistêmicas, devem ser consideradas no início do tratamento e nos casos de intensidade leve a moderada ⁷.

A isotretinoína ou ácido 13-cis-retinóico foi sintetizada em 1955. Sua

utilização no tratamento da acne inflamatória grave, dos tipos cística e conglobata, iniciou-se em 1976 na Europa e em 1980 nos Estados Unidos ^{7,17,18}. No Brasil as observações iniciaram-se em 1982 ⁷.

O principal mecanismo de ação da isotretinoína ocorre na glândula sebácea, através da ligação a receptores para retinóides específicos ^{7,17}, reduzindo sua atividade, seu tamanho e a quantidade de sebo produzida em 75% após quatro semanas de tratamento.

Para sua prescrição é necessária avaliação laboratorial inicial, com exame de hemograma completo e dosagens de colesterol e frações, triglicérides e transaminases hepáticas. No seguimento do doente faz-se exame clínico mensal ou sempre que necessário, controle laboratorial a cada 3 meses ou quando existem alterações que o justifiquem. Para as mulheres, deve-se prescrever anticoncepcional oral se houver risco de gravidez ^{7,19,20,21}.

Os efeitos colaterais mais comuns e facilmente controláveis com medidas precocemente adotadas são: secura labial ou queilite; ressecamento da mucosa nasal podendo causar epistaxes; xeroftalmia, com risco de conjuntivite se não controlada, sobretudo em usuários de lentes de contato; secura da pele com descamação e prurido que pode ser mais intensa nos indivíduos atópicos, e discreta alopecia. Outras reações adversas já descritas mas raramente observadas são cefaléia, artralgias, dores musculares, principalmente em atletas, nervosismo, insônia, elevação do colesterol e triglicérides. Alguns eventos adversos raros relatados são pseudotumor cerebral, pelo uso concomitante das

tetraciclinas; diminuição da visão noturna; opacidade da córnea; e hiperostose (hipertrofia ou espessamento anormal difuso ou localizado de um osso) ^{7,22,23,24} .

RETINÓIDES

O termo genérico Vitamina A, é usado para denominar compostos com atividades biológicas semelhantes, como o retinol, o retinal e o ácido retinóico (AR). Esse termo também inclui os carotenóides com atividade de pró-vitamina A, como o alfa-caroteno, beta-caroteno e criptoxantina, provenientes de alimentos de origem vegetal e os ésteres retinílicos (vitamina A pré-formada) provenientes de alimentos de origem animal. Dentre as funções deste composto, destaca-se sua participação na promoção do crescimento, na diferenciação celular, na reprodução e na visão ^{25,26} . Adicionalmente, o ácido retinóico pode exercer ações não clássicas, em órgãos como por exemplo o coração ²⁷ .

O retinol e o ácido retinóico, podem ainda, ser denominados retinóides ²⁸ . Todo-trans-AR, 9-cis-AR e 13-cis-AR são exemplos de metabólitos naturais do ácido retinóico ²⁹ . Adicionalmente, existem compostos com atividades biológicas semelhantes, mas não naturais, chamados de retinóides sintéticos. Esses não são denominados vitamina A.

Os retinóides sintéticos são amplamente utilizados para fins terapêuticos como, por exemplo, tratamento de cânceres e doenças dermatológicas, por sua ação moduladora em tecidos com alta taxa de crescimento e diferenciação celular

^{25,26} . O AR sintético na sua forma todo-trans apresenta uso farmacológico limitado devido a sua grande toxicidade. Está bem estabelecido para o tratamento da leucemia mielóide aguda pró-mielocítica, devido a sua potente ação citotóxica sobre as células cancerígenas ²⁶ .

Os retinóides, naturais ou sintéticos, agem por meio de sua ligação a receptores de superfície, em seguida penetram na célula, são metabolizados e transportados até o núcleo por proteínas citosólicas denominadas de CRBP (cytosolic retinol bound protein, proteína celular de ligação do retinol) ou CRABP (cytosolic retinoic acid bound protein, proteína celular de ligação do ácido retinóico) ²⁵ . O AR se liga a seus receptores nucleares que são os isômeros RAR (receptor do ácido retinóico) e RXR (receptor rexinóide) ³⁰ . O RAR tem como ligante o todo-trans-AR e o 9-cis-AR, enquanto o RXR se liga apenas ao 9-cis-AR ³¹ . O 13-cis-AR tem por sua vez pouca afinidade ao RXR. Portanto seus efeitos ocorrem através da isomerização do 13-cis-AR ao ácido todo-trans-AR e / ou 9-cis-AR ^{25,28} .

Após a ligação dos retinóides aos receptores ocorre a transcrição de proteínas que participam de vários processos relacionados com crescimento, diferenciação celular, apoptose, estruturas da matriz do colágeno, produção de sebo, sistema imunológico, atividade inflamatória, morfogênese embrionária e carcinogênese ³²⁻³⁴ . Assim, as atividades biológicas de retinóides sintéticos ou naturais são realizadas por meio de um sistema de sinalização complexo do qual participam os receptores nucleares, incluindo o RAR e o RXR ²⁸ .

13 cis-AR

Em relação ao 13-cis-AR, este pode apresentar ocorrência natural ou ser sintetizado artificialmente. Em sua forma de ocorrência natural, está normalmente presente no sangue e em tecidos humanos. Além disso, o 13-cis-AR pode ser precursor do todo-trans-AR e do 9-cis-AR ²⁹. Em sua forma sintética, o 13-cis-AR é chamado de isotretinoína, que possui diversas funções fisiológicas e ações farmacológicas com aplicabilidade clínica em várias doenças dermatológicas ^{25,35,36}.

A metabolização do 13-cis AR é hepática e seus principais metabólitos são o 13-cis-4-oxo-AR, todo-trans-AR e metabólitos beta-glucoronídeos. Esses compostos também são metabolicamente ativos e contribuem para a atividade biológica total do 13-cis-AR. Durante o tratamento com isotretinoína, o 13-cis-4-oxo-AR é encontrado em uma concentração 5 a 6 vezes maior do que o 13-cis-AR. A meia-vida do 13-cis-AR é de 13,6 horas e a excreção é essencialmente feita através da bile e urina ³⁷.

A isotretinoína oral (13-cis-AR) é eficaz no tratamento da acne por ser um seboestático, por influenciar na proliferação celular epitelial e na diferenciação epidérmica e por agir modificando a composição do sebo (menor conversão de triglicerídeos) ^{33,38}. A isotretinoína, por ter melhor índice terapêutico (IT = eficácia/toxicidade), tem sido empregada há muitos anos, com grande sucesso, no tratamento das doenças de ceratinização e na acne.

A dose inicial utilizada varia de 0,5 a 1mg/kg/dia. A duração mínima do tratamento é de cinco meses, na dependência da dose diária e do peso do doente, até atingir-se a dose total de 120 a 150 mg/kg.

A dose de 0,5 mg/kg/dia, é considerada dose baixa e menos tóxica. Assim, a dose recomendada deve ficar em torno de 0,75 mg/kg/dia para atingir a dose total de 120mg/kg a 150mg/kg em pouco mais de 5 meses ³³. Desta maneira a chance de recidiva torna-se menos provável; entretanto, aumenta-se a chance de toxicidade.

Ao utilizar doses altas, como no tratamento da recidiva, alguns pacientes que usam o 13-cis-AR de forma terapêutica, apresentam manifestações de toxicidade semelhante às aquelas apresentadas pela ingestão excessiva de vitamina A ³⁹.

As manifestações clínicas da toxicidade são dose dependentes: cefaléia, vômitos, diplopia, alopecia, ressecamento das mucosas, queilite, descamação, anorexia, crise convulsiva, irritabilidade, sonolência, dores ósseas e articulares, alterações hepáticas, etc. Outros sinais incomuns, mas encontrados em pacientes recebendo altas doses de vitamina A é o afinamento das sobrancelhas, cabelos ásperos e ralos e protuberância dos olhos.

O envolvimento do esqueleto pode ser extensivo, com reabsorção óssea, microfraturas e calcificação periosteal ^{40,41}, o que constitui fator de risco para osteoporose. As alterações ósseas são dose e tempo dependentes.

A ingestão elevada e por longo prazo de vitamina A causa anormalidade hepática, com os seguintes achados: excessiva quantidade de vitamina A nas células estreladas, com hiperplasia e hipertrofia dessas células, além de fibrose perisinusoidal ^{29,42}.

Com o uso dos retinóides ainda podem ocorrer alterações metabólicas como elevações de triglicerídeos e de colesterol, sendo os pacientes de riscos os

diabéticos, obesos e alcoolistas. As alterações no metabolismo lipídico pelo uso do 13-cis-AR podem ser dose dependentes e também serem agravadas pela duração do tratamento.

O aumento dos níveis séricos de colesterol em pacientes em tratamento com retinóides esta associado principalmente com o aumento de LDL, mas pequeno aumento de VLDL e diminuição de HDL podem acontecer também.

RETINÓIDES E CORAÇÃO

Dentre os órgãos alvos das proteínas moduladas por retinóides está o coração. A influência do AR sobre o coração é bastante relevante, ocorrendo durante a embriogênese, diferenciação e desenvolvimento cardíaco⁴³. No período embrionário, a deficiência ou o excesso de vitamina A levam a malformações cardíacas⁴⁴. Após o nascimento, em modelos de camundongos transgênicos com super-expressão de receptores para ácido retinóico, simulando situação de exposição crônica e elevada à vitamina A, ocorreu grave dilatação e disfunção ventricular esquerda (VE), com redução da contratilidade miocárdica e consequente insuficiência cardíaca acentuada, à semelhança da cardiomiopatia dilatada⁴⁵⁻⁴⁷.

Em outras condições, como em corações que sofreram algum tipo de estresse, como por exemplo infarto agudo do miocárdio, exposição à fumaça de cigarros, deleção de genes, como o gen do fator natriurético atrial e vários outros,

observou-se que o ácido retinóico, reduziu hipertrofia e melhorou a função cardíaca ^{48,49}.

Por outro lado, os efeitos do ácido retinóico em corações normais, que não sofreram agressão mostram o aparecimento de hipertrofia ⁵⁰. Em nosso serviço, ratos Wistar normais receberam dieta padrão acrescida de dose “fisiológica” de ácido retinóico por 90 dias ⁵⁰. Os animais apresentaram aumento da massa do ventrículo esquerdo (VE) e do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE), com manutenção da relação da espessura da parede ventricular/DDVE em relação aos valores do grupo controle, sugerindo remodelação estrutural com manutenção da geometria fisiológica, o que sugere padrão de remodelação excêntrica ⁵⁰. O estudo do músculo papilar isolado desses ventrículos mostrou que a suplementação causou aumento da velocidade de contração e de relaxamento miocárdico, sugerindo melhora das funções sistólica e diastólica ⁵⁰.

O estudo por meio da microscopia óptica mostrou que o grupo suplementado apresentava aumento da área seccional do miócito sem variação dos valores do volume de fração do colágeno nos grupos ácido retinóico e controle, indicando hipertrofia sem fibrose intersticial. Estes dados sugerem que a suplementação de ácido retinóico em ratos adultos induziu remodelação excêntrica ventricular ⁵⁰. Após este estudo, levantaram-se as possibilidades de que a remodelação poderia ser fisiológica ou patológica ⁵¹. Neste sentido, Freire et al, 2007, em estudo experimental com ratos usando diferentes doses de ácido retinóico (todo-trans-AR), verificaram que a dose de 50mg de AR suplementada na dieta por 1 mês resultou em remodelação cardíaca e esse processo pode ser semelhante à resposta adaptativa fisiológica ⁵². Considera-se como remodelação

fisiológica porque ocorreu hipertrofia excêntrica com melhora do débito cardíaco, ausência de aumento de mediadores inflamatórios, alterações no metabolismo energético ou de canais de ligação transmembranas⁵⁰.

Os achados das pesquisas básicas com ácido retinóico, sugerem que ele possa ser potencial droga com ação sobre o coração. Considerando que existe população que está em uso de 13-cis-AR para tratamento de acne, estudo prévio do mesmo grupo se propôs a avaliar os efeitos do AR sobre o coração desses pacientes.

Desta forma, *Soriano et al.* estudaram adolescentes e adultos jovens que receberam 0,5mg/kg/dia de isotretinoína oral por dois meses e observaram que eles apresentaram ressecamento de mucosas e descamação cutânea; não houve diferenças com relação ao peso, estatura, índice de massa corpórea, ingestão alimentar, pressão arterial e frequência cardíaca. Estes pacientes apresentaram elevação da gama-glutamil transferase, colesterol total, triglicerídeos e diminuição do HDL entre o momento inicial e o momento final.

Com relação à avaliação Doppler-ecocardiográfica, foi observada diminuição das cavidades cardíacas: diminuição do diâmetro longitudinal do átrio esquerdo (AE), do volume do AE, do diâmetro longitudinal do átrio direito (AD) e do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VE); aumento da massa cardíaca: aumento da espessura diastólica do septo interventricular, da espessura diastólica da parede posterior do VE, da espessura relativa da parede ventricular esquerda, da massa do VE e do índice de massa do VE; diminuição do fluxo transvalvar: diminuição da velocidade máxima de enchimento ventricular esquerdo rápido e tardio aumento do pico da velocidade de deslocamento da porção septal do anel

mitral durante a contração atrial, diminuição da razão entre os picos de velocidade de fluxo e de movimentação do anel mitral no início da diástole e diminuição da fração de variação do AE.

Este estudo sugere que a isotretinoína promoveu remodelação cardíaca do tipo concêntrica com a ocorrência de dois eventos associados: hipertrofia cardíaca e hipovolemia, além das alterações clínicas e do perfil lipídico.

Poucos estudos prévios a esses avaliaram efeitos do AR sobre o coração de humanos. No coração, há relatos de casos de possível arritmia com o uso de isotretinoína. Entretanto, estudo observacional não mostrou alterações eletrocardiográficas em pacientes com 6 meses de uso de isotretinoína. Entretanto, estes trabalhos não avaliaram variáveis morfofuncionais cardíacas ⁵³.

Portanto, observa-se que o AR induz remodelação cardíaca em corações normais de animais e humanos. Entretanto, se a remodelação cardíaca induzida pelo AR em corações normais apresenta padrão fisiológico ou patológico ainda permanecia por ser estabelecida. Porém, em estudo experimental, recentemente, *Candido et al*, em sua dissertação de mestrado, mostraram que o AR em corações normais ativa vias patológicas de hipertrofia cardíaca ⁵⁴. Em humanos, por sua vez, no estudo de *Soriano et al* observou-se alterações encontradas com 2 meses de uso de isotretinoína. Então, considerando que os pacientes que usam isotretinoína habitualmente o fazem por 6 ou mais meses, não se sabe se a remodelação cardíaca se intensifica nesse período e se ela desaparece após o término do tratamento.

RETINÓIDES E SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA

O AR regula a expressão gênica dos componentes do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA), incluindo a renina, a enzima conversora da angiotensina (ECA), a angiotensina II e o receptor tipo 1 da angiotensina ⁵⁵ .

O SRAA é fundamental na regulação da homeostase fisiológica do coração e rins, sendo responsável pela regulação da pressão sanguínea e pelo balanço hidroeletrolítico ⁵⁵ .

O SRAA tem um importante papel na fisiopatogenia das doenças cardíacas e renais.

Recentemente, novos componentes do SRAA foram descobertos, como a ECA 2 (enzima conversora da angiotensina 2), Angio-(1-7) (angiotensina 1-7), receptor Mas, Angio-(1-9) (angiotensina 1-9) e Alamandina ⁵⁶ .

O angiotensinogenio é secretado pelo fígado e convertido em angiotensina I pela renina que é produzida nos rins. Depois a angiotensina I pode ser convertida em duas vias ⁵⁶ :

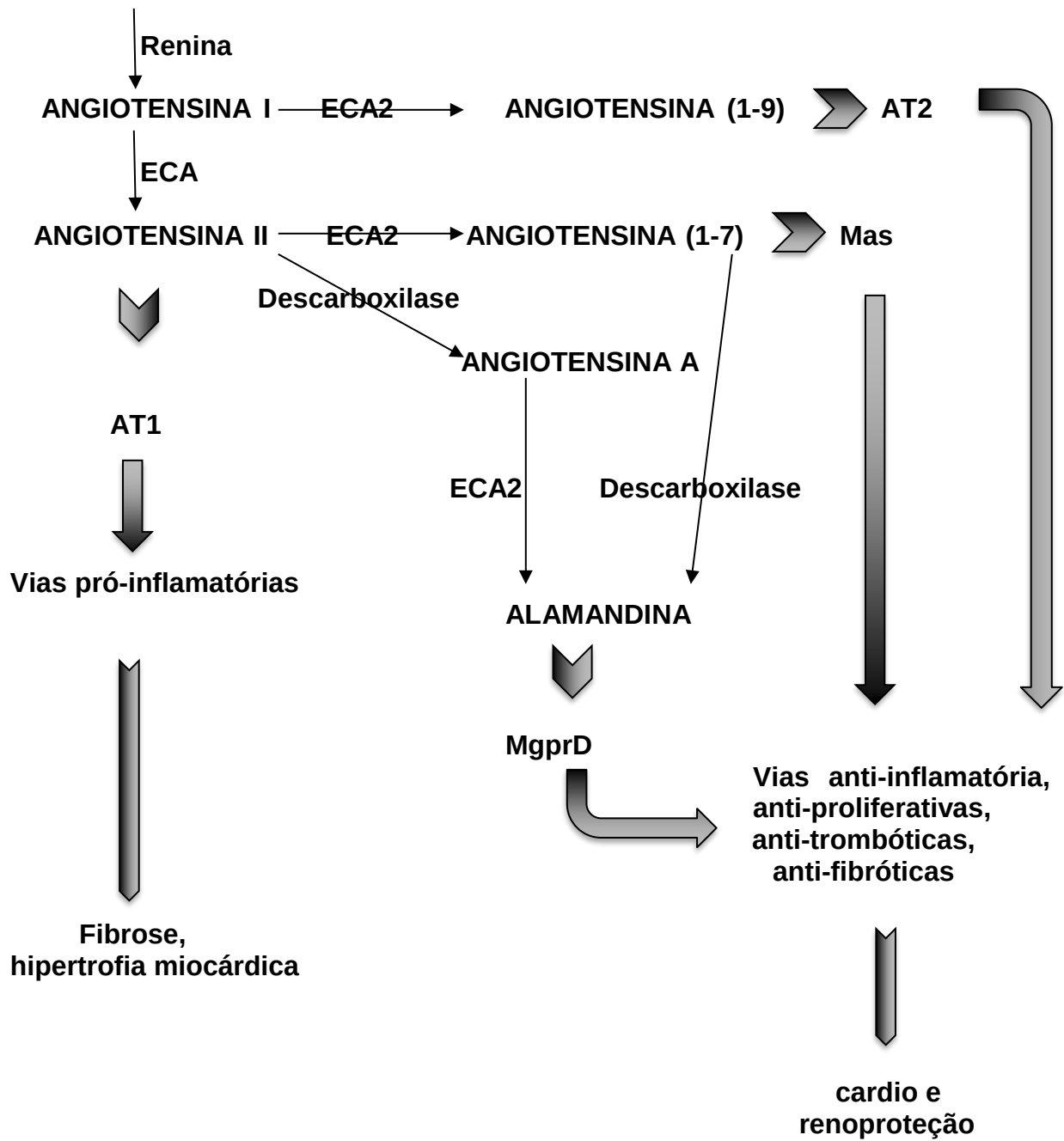
1. na via deletéria a angiotensina I é convertida em angiotensina II, pela ECA, que exerce papel pro-inflamatório, hipertrófico e fibrótico. A angio II pode se ligar ao receptor AT1 estimulando vias pro-inflamatórias de fibrose e hipertrofia miocárdica ⁵⁶ .
2. na via benéfica a angiotensina I pode ser convertida em angio (1-9) e a

angiotensina II pode ser convertidas em angio (1-7). Essas duas reações são mediadas pela ECA2. Adicionalmente a angio II pode ser convertida em angiotensina A, por ação de uma descarboxilase. Por fim, a angiotensina A pode ser convertida em alamandina por ação da ECA2 e a angio (1-7) também pode ser convertida em alamandina por uma descarboxilase. A ligação da angio (1-9) ao receptor AT2, A ligação da angio (1-7) ao receptore MAS e provavelmente a ligação da alamandina ao receptor MgrprD estimulam vias anti-inflamatórias, anti-proliferativas, anti-trombóticas e anti-fibróticas, que atenuam a remodelação cardíaca, favorecendo a cardio e renoproteção ⁵⁶ .

Estratégias farmacológicas recentes tem sido propostas para potencializar os efeitos ou aumentar a formação da Angio-(1-7) e Angio-(1-9), como por exemplo os ativadores da ECA2 ⁵⁶ .

Frente aos efeitos do AR nas atividades do SRAA, estudos sugerem um aumento da expressão do gene da ECA 2, resultando em redução da pressão arterial (PA) e do dano miocárdico em ratos espontaneamente hipertensos ⁵⁵ . Zhou et al também observaram aumento da expressão da ECA 2 em modelo de isquemia e reperfusão em células epiteliais de túbulos renais ⁵⁷ . Outros estudos mostraram que o AR atenuou a remodelação em ratos submetidos ao IAM experimental ⁵⁸ e preveniu danos cardíacos em ratos expostos à fumaça de cigarros ⁵⁹ .

ANGIOTENSINOGENO



2. Hipótese de Trabalho

Os retinóides promovem remodelação cardíaca em adultos jovens em uso de isotretinoína oral em doses terapêuticas para acne; adicionalmente estas alterações são reversíveis após o término do tratamento.

3. Objetivo

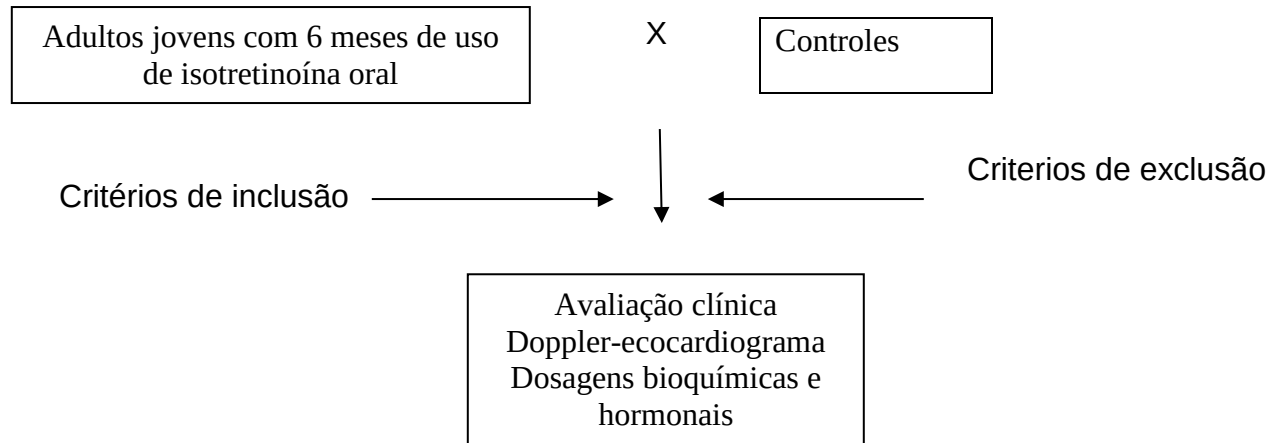
Verificar o comportamento das variáveis cardíacas em adultos jovens quando submetidos a doses terapêuticas de isotretinoína oral para acne, após 6 meses de tratamento.

Verificar se estas alterações são reversíveis após 2 meses do término tratamento.

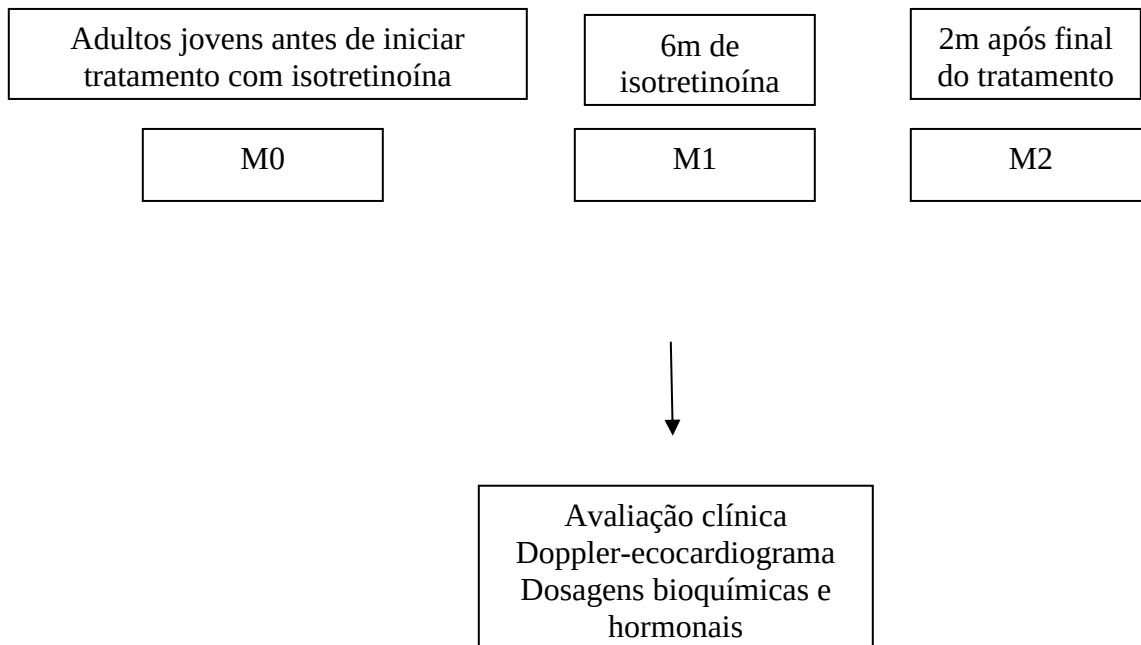
4. Casuística e Métodos

Delineamento

Estudo 1



Estudo 2



População estudada

Foram estudados 35 adolescentes e adultos jovens, com idade entre 14 e 23 anos, do sexo masculino, sendo 20 deles em uso de isotretinoína oral, na dose de 0,5 mg/kg/dia a 0,75 mg/kg/dia, acompanhados no ambulatório de dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP), aos 6 meses de tratamento. A dose total atingida variou entre 120mg/kg e 150mg/kg, em um período de 8 a 10 meses. Os outros 15 pacientes, o grupo controle, foram convidados na comunidade ou apresentavam acne leve com indicação apenas de tratamento tópico.

Critérios de inclusão: Sexos masculino, adolescentes e adultos jovens, em tratamento de acne com isotretinoína oral.

Critérios de exclusão: Diabetes mellitus, obesidade, baixo peso, alcoolismo, insuficiência renal, hepatopatias prévias, cardiopatias, dislipidemias, processo inflamatório, exercícios físicos (acima de 150 minutos por semana) e uso de suplementos alimentares.

No estudo 1, os grupos controle e isotretinoína foram comparados quanto à avaliação clínica, Doppler-ecocardiograma e dosagens bioquímicas e hormonais. Foram registrados peso, estatura e frequência cardíaca e pressão arterial. Os sinais e sintomas clínicos referentes à toxicidade da medicação, como ressecamento e descamação cutâneos, ressecamento de mucosas, cefaléia, epistaxes, etc foram monitorados.

No estudo 2, os pacientes em tratamento de acne com isotretinoína foram estudados antes do início do tratamento (Momento Inicial - M0), com seis meses de tratamento (Momento Final - M1) e dois meses após o término do tratamento (Momento final - M2), por meio de avaliação clínica, Doppler-ecocardiograma e dosagens bioquímicas e hormonais.

Exames bioquímicos de rotina

Aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (ALT), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), colesterol total (CT) e frações (LDL, HDL), triglicerídeos (TG), uréia (U), creatinina (CR), glicemia de jejum. Esses exames foram feitos usando a metodologia de química seca no equipamento Vitros 950, marca Johnson & Johnson.

Sistema SRAA

Os pacientes permaneceram em repouso por 30 minutos, sentados, antes da realização da coleta sanguínea.

Dosagem de Angiotensina I e II, Angiotensina 1-7 e Alamandina

1ml de sangue foi misturado ao coquetel inibidor de protease formado por 0,01 mmol/L de p-hidroxi-mercúrio benzoato; 1,5 mmol/L de o-fenantrolina; 0,01 mmol/L de para-metilsulfonil fluoreto; 0,05 mmol/L de Pepstatin A, e 10 mmol/L de

ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), para dosagem de angiotensina (50 µL por 1 ml da amostra). As amostras foram contrifugadas a 2000 rpm por 20 minutos a 4° C, e o sobrenadante foi estocado a -20° C. Os peptídeos foram extraídos para *Bond-Elut phenylsilica cartridge* (Varian, USA). As colunas foram pré-ativadas por lavagens sequenciais com 10 ml de Acetonitrila 99,9%/ ácido heptafluorobutílico (HFBA) 0,1% e 10 ml de HFBA 0,1%. Lavagens sequenciais com 10 ml de Acetonitrila 99,9%/ HFBA 0,1%, 10 ml de HFBA 0,1%, 3 ml de HFBA 0,1% contendo BSA (soro albumina bovina) 0,1%, 10 ml de HFBA a 10% e 3 ml de HFBA 0,1% foram usados para ativar as colunas. Após a aplicação da amostra, as colunas foram lavadas com 20 ml de HFBA 0,1% e 3 ml de HFBA 20%. Os peptídeos absorvidos foram diluídos em 3 ml de Acetonitrila 99,9%/ HFBA 0,1% em tubos de polipropileno enxaguados com BSA 0,1%. Após a evaporação, a Angio I, Angio II e Angio (1-7) foram dosadas por radioimunoensaio.

Dosagem da Renina, Atividade da Renina e Aldosterona

As amostras foram enviadas para um laboratório externo, onde a dosagem de Aldosterona foi feita pelo método de radioimunoensaio, a dosagem da Renina foi feita pelo método de quimioluminescência e o cálculo da atividade da Renina plasmática foi obtido pela conversão da dosagem direta de renina.

Ecocardiograma

Os exames Doppler-ecocardiográficos foram realizados por 2 examinadores utilizando os mesmos equipamentos Sonnos 2000, da Hewlett Packard ou HDI® 5000 SONOCT, da Philips, ambos dotados de transdutor ultrassônico multifrequencial de 2,0-3,5 MHz e sistema de registro de imagens. Os pacientes permaneceram em decúbito lateral esquerdo, com o membro superior esquerdo ligeiramente fletido sob a cabeça. Uma derivação eletrocardiográfica foi continuamente monitorada. As imagens foram obtidas e analisadas seguindo-se as recomendações da American Society of Echocardiography ⁶⁰ e o Consenso Canadense de análise de fluxos ⁶¹ e Associação Européia de Ecocardiografia ⁶².

Variáveis morfométricas:

- Diâmetros máximo e mínimo do átrio esquerdo (cm): AEs e AEd, respectivamente;
- Diâmetros diastólico e sistólico do VE (cm): VED e VES, respectivamente;
- Espessura diastólica do septo interventricular e da parede posterior do VE (cm): SIVd e PPd, respectivamente;
- Espessura relativa da parede ventricular= (SIVd+PPd)/VED;
- Massa do VE (MVE, g)= $0,8 \times \{1,04 \times [(SIV + PP + Ved)^3 - (VED)^3]\} + 0,6$ ⁶² ;
- Índice de MVE(IMVE, g/m²)= MVE/SC, sendo MVE a massa do ventrículo esquerdo e SC a superfície corporal ⁶².

O diagnóstico de hipertrofia miocárdica foi efetuado utilizando-se o valor de $IMVE > 115g/m^2$ para homens ⁶² .

- Dimensões do átrio direito (AD): obtidos como eixos máximos, transversal e longitudinal, no plano apical, quatro câmaras, durante a sístole.

Variáveis de função sistólica do ventrículo esquerdo:

- Fração de ejeção do VE (FE) - obtida por meio do ecocardiograma modo M, aplicando-se a fórmula: $(VED^3 - VES^3) / VED^3$ e por meio do método de Simpson biplano (FE_{Sp});
- Volume sistólico (VS, ml) = $VSVE \times VTI$, onde VSVE corresponde à área sistólica da via de saída do VE e VTI é a integral de tempo-velocidade do fluxo sistólico pela VSVE;
- Débito cardíaco (L/min) = $FC \times VS$, onde FC é a frequência cardíaca (bat/min);
- Velocidade máxima de excursão sistólica da porção medial do anel mitral: onda S' obtida pelo registro espectral do Doppler tissular do movimento do anel mitral, em sua porção média.

Variáveis de função diastólica do ventrículo esquerdo:

- Velocidade máxima de enchimento ventricular rápido (pico da onda E, cm/s): obtida pelo registro espectral do Doppler do fluxo diastólico transmitral;

- Velocidade máxima de enchimento tardio, durante a contração atrial (pico da onda A, cm/s): obtida pelo mesmo registro;
- Razão E/A;
- Tempo de desaceleração da onda E (TDE, ms): correspondente ao intervalo de tempo entre o pico da onda E e a sua extrapolação para a linha de base;
- Tempo de relaxamento isovolumétrico do VE (TRIV, ms): correspondente ao período entre o final da ejeção ventricular e o início do fluxo diastólico transvalvar mitral;
- Velocidade máxima do movimento anular mitral, na fase de enchimento ventricular rápido (pico da onda E, cm/s): obtida pelo registro espectral do Doppler tissular (TDI) do movimento do anel mitral, em sua porção média (E');
- Velocidade máxima do movimento anular mitral, durante a contração atrial (pico da onda A, cm/s): obtida pelo mesmo registro (A');

5. Método Estatístico

O número de pacientes sugerido, considerada todas as variáveis ecocardiográficas, usando o pacote estatístico SigmaStat for Windows v3.5 (SPSS Inc, Chicago, IL), é de 30 pacientes para mostrar a existência da diferença estatisticamente significativa.

As variáveis estudadas foram testadas quanto à normalidade; quando os parâmetros passaram por este teste, foram calculados os valores médios e os desvios padrão dos grupos estudados. As variáveis de distribuição não normal foram apresentadas em medianas e percentis 25-75.

Os grupos controle e isotretinoína foram comparados pelo teste t de Student, se distribuição normal ou Mann Whitney, se distribuição não normal⁶³.

Apenas o grupo isotretinoína foi comparado, em 3 momentos, e comparado por Anova de uma via de medidas repetidas.

O nível de significância considerado foi de 5%.

RESULTADOS

O grupo que recebeu isotretinoína, teve sua dose aumentada gradativamente de forma que no momento em que foi realizado o segundo ecocardiograma, estavam recebendo dose de 85 (83-89) mg/kg, com coeficiente de variação de 11%. Em relação aos exames bioquímicos realizados na rotina, não houve alterações significativas com relação as enzimas hepáticas, aspartato transaminase, alanina transaminase, colesterol total e frações, triglicerídeos, gama glutamiltransferase e glicemia. Apenas 2 pacientes apresentaram discreta elevação de transaminases e 3 pacientes apresentaram discreta elevação de triglicerídeos acima de 150mg/dl. As enzimas hepáticas, função renal e triglicerídeos foram semelhantes aos valores do grupo controle.

A tabela 1 mostra os dados clínicos nos grupos controle e isotretinoína. Não houve diferenças entre os grupos. A tabela 2 mostra os exames bioquímicos de rotina nos grupos controle e isotretinoína. Não houve diferenças entre os grupos. No grupo que recebeu isotretinoína apenas o TG foi significativamente maior, no grupo controle $64,8 \pm 11,9$ e no grupo isotretinoína $100 \pm 10,8$ mg/dL, $p=0,05$.

Sobre a avaliação ecocardiográfica, foram realizadas avaliações nos grupos controle e isotretinoína.

A tabela 3 mostra a avaliação ecocardiográfica morfométrica nos grupos controle e isotretinoína. O diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VE) (DDVE) foi maior no grupo isotretinoína, assim como o volume do átrio esquerdo (AE). Houve, além disso, uma tendência para um índice de massa ventricular esquerda (IMVE) maior.

A tabela 4 mostra a função Sistólica e Diastólica nos grupos controle e isotretinoína. O débito cardíaco (DC), foi maior no grupo isotretinoína. A tabela 5 mostra o Doppler Tissular nos grupos controle e isotretinoína, onde a Velocidade máxima de enchimento ventricular rápido mitral (Emitral) sobre a Velocidade máxima do movimento anular mitral, na fase de enchimento ventricular rápido (E'mitral), foi maior no grupo isotretinoína.

A tabela 6 mostra as dosagens hormonais do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona nos grupos controle e isotretinoína. Houve uma diminuição da Angiotensina II e da Renina no grupo isotretinoína.

Ao avaliarmos apenas o grupo que recebeu isotretinoína em 3 momentos, momento inicial (M0), 6 meses após (M1) e 2 meses após o término do tratamento (M2) observamos que o AE (tabela 7) e onda A (tabela 8) aumentam mas retornam ao normal após o final do tratamento.

O IMVE e S mitral, não sofreram alteração durante o tratamento, mas depois de 2 meses ficaram menores que os valores iniciais.

DISCUSSÃO

Conforme normas do Programa de Pós graduação em fisiopatologia em clínica médica é permitido que o resultado e a discussão sejam substituídos pelo artigo completo.

Entretanto, algumas revistas internacionais exigem exclusividade para publicação. Sendo assim, os resultados numéricos e artigo em inglês foram apresentados para a banca, mas não serão disponibilizados para o repositório.

6. Referências Bibliográficas

- 1 . Winston MH, Shalita AR. Acne vulgaris. Pathogenesis and treatment. *Pediatr Clin North Am.* 1991;38:889-903.
- 2 . Cordain L, Lindeberg S, Hurtado M, Hill K, Eaton SB, Brand-Miller J. Acne vulgaris: a disease of Western civilization. *Arch Dermatol.* 2002;138:1584-90.
- 3 . Stathakis V, Kilkenny M, Marks R. Descriptive epidemiology of acne vulgaris in the community. *Australas J Dermatol.* 1997;38:115-23.
- 4 . Namazi MR. Further insight into the pathomechanism of acne by considering the 5-alpha-reductase inhibitory effect of linoleic acid. *Int J Dermatol.* 2004;43:701-2.
- 5 . Burton JL. Dietary fatty acids and inflammatory skin disease. *Lancet.* 1989;1:27-31.
- 6 . Costa A, Alchorne MMA, Goldschmidt MCB. Fatores etiopatogenicos da acne vulgar. *An Bras Dermatol.* 2008; 83-5.
- 7 . Sampaio SAP, Bagatin E. Experiencia de 65 anos no tratamento da acne e de 26 anos com isotretinoína oral. *An Bras Dermatol.* 2008;83(4):361-7.

- 8 . Dreno B, Poli F. Epidemiology of acne. *Dermatology*. 2003;206:7-10.
- 9 . Sobral Filho JF, Nunes Maia HGS, Fonseca ESVB, Damião RS. Aspectos epidemiológicos da acne vulgar em universitários de João Pessoa - PB. *An Bras Dermatol*. 1993;68:225-8.
- 10 . Bolognia JS, Jorizzo JL, Rapini. *Dermatologia*, 2ª edição, 2010.
- 11 . Rustin MHA. *Dermatology*. *Postgrad Med J*. 1990;66:894- 905.
- 12 . Molina MTC. Patogenia del acné. *Rev Chil Dermatol*. 1996;12:163-6.
- 13 . Hassun KM. Acne: etiopatogenia. *An Bras Dermatol*. 2000;75:7-15.
- 14 . Talarico Filho S, Hassun KM. Acne. *Rev Bras Med*. 2001;58:17-21.
- 15 . Baldwin HE. The interaction between acne vulgaris and the psyche. *Cutis*. 2002;70:133-9.
- 16 . Yazici K, Baz K, Yazici AE, Köktürk A, Tot S, Demirseren D, et al. Disease-specific quality of life is associated with anxiety and depression in patients with acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004;18:435-9.

- 17 . Peck GL, Olsen TG, Yoder FW, Strauss JS, Downing DT, Pandya M, et al. Prolonged remission of cystic acne and conglobate acne with 13 cis retinoic acid. N Engl J Med.1979;300:329-33.^[L]_{SEP}9.
- 18 . Peck GL, Olsen TG, Butkus D, Pandya M, Arnaud-Battandier J, Gross EG, et al. Isotretinoin versus placebo in the treatment of cystic acne. A randomized double-blind study. J Am Acad Dermatol. 1982;6(Pt 2 Suppl):735-45.
- 19 . Barth JH, MacDonald-Hull SP, Mark J, Jones RG, Cunliffe WJ. Isotretinoin therapy for acne vulgaris: a re-evaluation of the need for measurements of plasma lipids and liver function tests. Br J Dermatol. 1993;129:704-7.
- 20 . Lestringant GG, Frossard PM, Agarwal M, Galadari IH. Variations in lipid and lipoprotein levels during isotretinoin treatment for acne vulgaris with special emphasis on HDL-cholesterol.Int J Dermatol. 1997;36:859-62.
- 21 . Altman RS, Altman LJ, Altman JS. A proposed set of new guidelines for routine blood tests during isotretinoin therapy for acne vulgaris. Dermatology. 2002;204:232-5.

- 22 . Ellis CN, Krach KJ. Uses and complications of [L][SEP]isotretinoin therapy. J Am Acad Dermatol. 2001;45:S150-7.
- 23 . McLane J. Analysis of common side effects of [L][SEP]isotretinoin. J Am Acad Dermatol. 2001; 45:S188-94.
- 24 . Herane MIH. Isotretinoína oral: efectos adversos. Rev [L][SEP]Chil Dermatol. 2002;18:71-6.
- 25 . Soriano EA. Efeitos do uso de Retinóide Sintético no Coração de Adolescentes e Jovens em Tratamento de Acne. Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil, 2009. Tese (Doutorado) em Fisiopatologia em Clínica Médica. Botucatu, 2009.
- 26 . Uray IP, Dmitrovsky E, Brown PH. Retinoids and Rexinoids in Cancer Prevention: From Laboratory to Clinic. Semin Oncol. 2016 February: 43 (1): 49-64.
- 27 . Asson-Batres MA, Ryzhov S, Tikhomirov O, Duarte CW, Congdon CB, Lessard CR, et al. Effects of vitamin A deficiency in the postnatal mouse heart: role of hepatic retinoid stores. Am J Physiol Heart Circ Physiol 310:H1773-H1789, 2016. First published 15 April 2016;[L][SEP]doi: 10.1152/ajpheart.00887.2015.

- 28 . Paiva SAR, Silva RAC, Gaiolla PSA, Zornoff LAM. Vitamina A. Genômica Nutricional: dos fundamentos à nutrição molecular. 1^a Edição. Ed. Manole, 2017.
- 29 . Ross AC. Vitamin A and carotenoids. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. Modern Nutrition - In health and disease. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006:351-375.
- 30 . Desvergne B. RXR: From Partnership to Leadership in Metabolic Regulations. Vitam Horm 2007; 75:1-32.
- 31 . Murphy KA, Quadro L, White LA. The Intersection Between the Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR)- and Retinoic Acid- Signaling Pathways. Vitam Horm 2007; 75:33-67.
- 32 . Paiva SAR, Campana AO. Considerações sobre os níveis de retinol no sangue. [Relevant factor related to retinol serum levels values]. Cadernos de Nutrição da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN) 1994; 7:12-29.
- 33 . Azulay DR, Nakamura RC. Drogas de grande valor em terapêutica dermatológica - retinóides. In: Azulay DR, Azulay RD, eds. Dermatologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004:596-606.
- 34 . Paiva SAR, Yeum K-J, Lee KS, Park IS, Lee-Kim YC, Russell RM. Endogenous carotenoid concentrations in cancerous and non-

- cancerous tissues of gastric cancer patients in Korea. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 1999; 8:160-6.
- 35 . Blaner WS. Cellular metabolism and actions of 13-cis-retinoic acid. J Am Acad Dermatol 2001; 45:S129-35.
- 36 . Soriano EA, et al, Cardiac remodeling induced by 13-cis retinoic acid treatment in acne patients, Int J Cardiol 2013; 163:68–71.
- 37 . Miano JM, Berk BC. Retinoids: versatile biological response modifiers of vascular smooth muscle phenotype. Circ Res 2000; 87:355-62.
- 38 . Sampaio SAP, Pimentel, ERA. Isotretinoína no tratamento da acne vulgar. An bras Dermatol, 60(5): 349-352. 1985.
- 39 . Allen JG, Bloxham DP. The pharmacology and pharmacokinetics of the retinoids. Pharmacol Ther 1989; 40:1-27.
- 40 . Barker ME, Blumsohn A. Is vitamin A consumption a risk factor for osteoporotic fracture? Proc Nutr Soc 2003; 62:845- 50.
- 41 . Bhalla K, Ennis DM, Ennis ED. Hypercalcemia caused by iatrogenic hypervitaminosis A. J Am Diet Assoc 2005; 105:119-21.

- 42 . Geubel AP, De Galocsy C, Alves N, Rahier J, Dive C. Liver damage caused by therapeutic vitamin A administration: estimate of dose-related toxicity in 41 cases. *Gastroenterology* 1991; 100:170-9.
- 43 . Dickman ED, Smith SM. Selective regulation of cardiomyocyte gene expression and cardiac morphogenesis by retinoic acid. *Dev Dyn* 1996; 206:39-48.
- 44 . Azevedo PS, Minicucci MF, Chiuso-Minicucci F, Justulin Jr LA, Matsubara LS, Matsubara BB, et al. Ventricular Remodeling Induced by Tissue Vitamin A Deficiency in Rats. *Cell Physiol Biochem* 2010; 26:395-402.
- 45 . Colbert MC, Hall DG, Kimball TR, et al. Cardiac compartment-specific overexpression of a modified retinoic acid receptor produces dilated cardiomyopathy and congestive heart failure in transgenic mice. *J Clin Invest* 1997; 100:1958-68.
- 46 . Colbert MC, Kirby ML, Robbins J. Endogenous retinoic acid signaling colocalizes with advanced expression of the adult smooth muscle myosin heavy chain isoform during development of the ductus arteriosus. *Circulation Research* 1996; 78:790-8.

- 47 . Subbarayan V, Mark M, Messadeq N, Rustin P, Chambon P, Kastner P. RXR alpha overexpression in cardiomyocytes causes dilated cardiomyopathy but fails to rescue myocardial hypoplasia in RXR alpha-null fetuses. *J Clin Invest* 2000; 105:387-394.
- 48 . Paiva SAR, Matsubara LS, Matsubara BB, Minicucci MF, Azevedo PS, Campana AO, Zornoff LAM. Retinoic acid supplementation attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *J Nutr* 2005;135:2326-8.
- 49 . Oliveira LC, Azevedo PS, Minicucci ME, Rafacho BP, Duarte DR, Matsubara LS, Matsubara BB, Paiva SA, Zornoff LA. Retinoic acid prevents ventricular remodelling induced by tobacco smoke exposure in rats. *Acta Cardiol.* 2011 Feb;66(1):3-7
- 50 . Paiva SAR, Zornoff LA, Okoshi MP, et al. Ventricular remodeling induced by retinoic acid supplementation in adult rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284:2242-2246.
- 51 . McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34:255-62.
- 52 . Freire CM, Azevedo PS, Minicucci MF, Oliveira Junior SA, Martinez PF, Novo R, Chiuso-Minicucci F, Matsubara BB,

- Matsubara LS, Okoshi K, Novelli EL, Zornoff LA, Paiva SA.
Influence of different doses of retinoic acid on cardiac remodeling.
Nutrition 2011 Jul-Aug; 27 (7-8): 824-8.
- 53 . Selcoki Y, Gorpelioglu C, Turgut F, et al. Isotretinoin: is there any arrhythmic effect? Int J Dermatol 2008; 47:195-7.
- 54 . Silva RAC. Influência da via mTOR no processo de remodelação cardíaca induzida pelo ácido retinóico. Botucatu, Faculdade de Medicina UNESP Botucatu, FMB, Brasil, 2015. Tese (Doutorado) em Fisiopatologia em Clínica Médica. Botucatu, 2015.
- 55 . 2- Zhong JC, Huang DY, Yang YM, Li YF, Liu GF, Song XH, Du K. Upregulation of Angiotensin-Converting Enzyme 2 by All-trans Retinoic Acid in Spontaneously Hypertensive Rats. Hypertension. 2004; 44: 907-912.
- 56 . Silva ACS, Teixeira MM. ACE inhibition, ACE2 and angiotensin-(1-7) axis in kidney and cardiac inflammation and fibrosis. Pharmacological Research 107 (2016) 154-162.
- 57 . Zhou TB, Ou C, Rong L, Drummen GPC. Effect of all-trans retinoic acid treatment on prohibitin and renin-angiotensin-aldosterone system expression in hypoxia-induced renal tubular epithelial cell

injury. Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2014, vol. 15(3) 243-249.

58 . Paiva SA, Matsubara LS, Matsubara BB, Minicucci MF, Azevedo PS, Campana AO, Zornoff LA. Retinoic acid supplementation attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. J Nutr. 2005 Oct; 135(10): 2326-8.

59 . Oliveira LC, Azevedo PS, Minicucci ME, Rafacho BP, Duarte DR, Matsubara LS, Matsubara BB, Paiva SA, Zornoff LA. Retinoic acid prevents ventricular remodelling induced by tobacco smoke exposure in rats. Acta Cardiol 2011 Feb; 66(1): 3-7.

60 . Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman AE. The Committee on M-Mode Standardization of the American Society of Echocardiography. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. Circulation 1978; 58:1072-1083.

61 . Rakowski H, Appleton C, Chan KL, et al. Canadian consensus recommendations for the measurement and reporting of diastolic dysfunction by echocardiography: from the Investigators of

Consensus on Diastolic Dysfunction by Echocardiography. J Am Soc Echocardiogr 1996; 9:736-60.

62 . Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. J Am Soc Echocardiogr 2005; 18:1440-63.

63 . Glantz SA. Primer of Biostatistics. New York: McGraw-Hill, 1997:473.

64 . Yeum K-J, Ahn S-H, Paiva SAR, Lee-Kim YC, Krinsky NI, Russell RM. Correlation between carotenoid concentrations in serum and normal breast adipose tissue of women with benign breast tumor or breast cancer. Journal of Nutrition 1998; 128:1920-1926.

65 . Williams HC, Dellavalle RP, Garner S. Acne vulgaris. Lancet. 2012 Jan 28;379(9813):361-72. Epub 2011 Aug 29. Review. Erratum in: Lancet. 2012 Jan 28;379(9813):314.

- 66 . Vieira AS, Beijamini V, Melchior AC. The effect of isotretinoin on triglycerides and liver aminotransferases. *An Bras Dermatol*. 2012 May-Jun;87(3):382-7.
- 67 . Pan J, Baker KM. Retinoic acid and the heart. *Vitamins and Hormones*. 2007;75: 257-83.
