

EDSON CASTARDELI

**Influência do tempo de exposição à
fumaça de cigarro na remodelação
ventricular em ratos**

**BOTUCATU-SP
2007**

EDSON CASTARDELI

**Influência do tempo de exposição à
fumaça de cigarro na remodelação
ventricular em ratos**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação "Fisiopatologia em Clínica Médica" da Faculdade de Medicina de Botucatu para obtenção do título de Doutor. Área de Concentração: Cardiologia.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
2007**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Castardeli, Edson.

Influência do tempo de exposição à fumaça de cigarro na remodelação ventricular em ratos / Edson Castardeli. – 2007.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2007.

Orientador: Leonardo Antonio Mamede Zornoff

Assunto CAPES: 40101100

1. Coração - Doenças - Estudos experimentais

CDD 616.12

Palavras-chave: Dilatação ventricular; Função cardíaca; Hipertrofia; Tabagismo

Ao Professor, que proporcionou para mim um grande aprendizado, tanto profissional, como pessoal. Pois, espelho-me em sua dedicação aos estudos, pertinentes as suas pesquisas, aulas e apresentações, assim, como também, em sua didática de ensino, que é de extrema clareza e inteligível. Adequiei a forma de conduzir minhas aulas em função dessas observações. E, sempre pronto para os préstimos de sua orientação. Por sua confiança e apoio:

Muito Obrigado.

ORIENTADOR

Prof. Dr. LEONARDO ANTONIO MAMEDE ZORNOFF

Ao Professor, que esteve comigo desde o início de minha trajetória, iniciando no mestrado e, agora neste trabalho de doutoramento, contribuindo: no delineamento do trabalho, na estatística, nos gráficos, entre outras colaborações que foram de fato muito relevantes; acompanhou meus passos até a fase final desta tese. Por sua colaboração, confiança e apoio:

Muito Obrigado.

CO-ORIENTADOR

Prof. ADJ. SERGIO ALBERTO RUPP DE PAIVA

Estudo realizado no Centro de Pesquisas do Departamento de Clínica
Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Este trabalho é dedicado a toda minha família, pois, estiveram me apoiando em todas as etapas deste trabalho e, em muitas outras situações de minha vida!

À grande família, que é a UNESP – Botucatu.

Aos Professores, que possibilitaram a conclusão deste trabalho, pois, desempenharam um papel de suma importância em seu desenvolvimento. Entretanto, principalmente pelo prazer de trabalharmos juntos! Pela dedicação, e apoio:

Muito Obrigado.

- Professor Emérito Álvaro Oscar Campana
- Professora Adjunta Beatriz Bojikian Matsubara
- Professora Doutora Beatriz Funayama Alvarenga Freire
- Professor Adjunto Luis Shiguero Matsubara

Nossos agradecimentos, de forma especial, às seguintes pessoas, pelo auxílio prestado na realização deste trabalho:

- Aparecida Yooko Outa Angeleli
- Braulina Aparecida Franscisco
- Camila Renata Corrêa
- Corina Julieta Corrêa
- Elenize Jamas
- Gustavo Nunes Silva
- José Carlos Georgette
- Luzia Ferrari Gouveia
- Mara Lucy Dompietro Ruiz Denadai
- Mário Augusto Dallaqua
- Mário Batista Bruno
- Marta Regina Russo Sarki
- Sandra Ângela Fábio
- Sueli Aparecida Clara
- Vitor Marcos de Souza

“Se enxerguei mais longe foi porque
me apoiei em ombros de gigantes”.

(Isaac Newton)

Resumo

O efeito da exposição à fumaça de cigarro (EFC) tem sido extensivamente estudado; entretanto, os efeitos diretos cardíacos da fumaça de cigarro despertam menos atenção. O objetivo deste estudo foi determinar as alterações cardíacas estruturais e funcionais causadas pela EFC, em ratos e, analisar a influência do tempo de EFC na remodelação ventricular. Material e método – Ratos Wistar adultos foram alocados em dois grupos: controle (C, $n=43$), subdividido em dois grupos, controle dois meses (C2, $n=25$), controle seis meses (C6, $n=18$) e grupo fumante (F, $n=47$), igualmente, subdivididos em dois grupos, fumante dois meses (F2, $n=22$) e fumante seis meses (F6, $n=25$), que foram expostos à fumaça de cigarro, respectivamente por períodos de dois e seis meses. Todos os animais foram pesados e tiveram mensurado na cauda a pressão arterial sistólica (PAS). A função cardíaca foi estudada pelo método ecocardiográfico (*in vivo*) e pelo método do coração isolado (*in vitro*) contraindo isovolumetricamente. Resultados – Não houve diferença significativa no peso do corpo (PC) entre os grupos controle e fumante. Foram observados valores maiores para o átrio esquerdo (AE), com $p=0,005$, entre os grupos C e o grupo F, para o AE, corrigido pelo peso do corpo (AE/PC), com $p=0,001$ e índice de massa do ventrículo esquerdo (IMVE), com $p=0,048$. Foi observada interação estatística significativa para o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE), corrigido pelo peso do corpo dos animais (DDVE/PC), com diferença ($p=0,023$) entre o grupo C e o grupo F, também, com diferença ($p=0,048$) entre o grupo

dois meses e o grupo seis meses e valores diferentemente ($p=0,010$) entre fumantes e o tempo de exposição ao fumo. Para PAS, foi observada diferença significativa na análise da PAS caudal nos grupos C2 e C6 (valores menores) em comparação com os grupos F2 e F6 (valores maiores). Houve um decréscimo no comportamento da pressão sistólica do VE, para a variação da pressão diastólica (PD) de 0 a 25 mmHg, no grupo F em relação ao grupo controle. Em relação a PS máxima, foi observada diferença ($p=0,034$) entre o grupo C (valores maiores) e o grupo F (valores menores). Porém, não houve interação significativa entre os fatores (tempo e fumo), sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo. Como conclusão, nosso estudo mostrou que a EFC resultou em remodelação miocárdica com diminuição da capacidade funcional ventricular, independente do tempo de exposição (dois ou seis meses).

SUMMARY

The vascular effects of exposure to smoke of cigarettes have been extensively studied; however, the cardiac effects of tobacco smoke deserved less attention. The aim of this study was to determine the cardiac structural and functional alterations caused by cigarette smoke exposure in rats and analyse the influence to time of exposure to smoke of cigarettes in remodeling ventricular. Material and Methods - Adult Wistar rats were allocated into two groups: control (C, $n=43$), separated into two sub-groups, two months control (C2, $n=25$), six months control (C6, $n=18$) and exposed to tobacco smoke (S, $n=47$), equally, separated in two sub-groups, two months exposed to tobacco smoke (S2, $n=22$) and six months exposed to tobacco smoke (S6, $n=25$), respectively per period into two months and six month. All animals were weighed and had the tail cuff systolic arterial pressure (SAP) measured. The cardiac function was studied study by echocardiogram method (*in vivo*) and by isolated isovolumetrically beating heart method (*in vitro*). Results - There was no significant difference in body weight (BW) between groups control and exposed to tobacco smoke. Higher values were found for left atrium (LA), with $p=0,005$, between groups C and grup S, by LA, adjusted for BW, with $p=0,001$ and left ventricular mass index, with $p=0,048$. There was statistically significant interaction by left ventricular diastolic diameter (LVDD), adjusted for BW into animals (LVDD/BW), with difference significant ($p=0,023$) between group C e o group F, also, with difference ($p=0,048$) between group two months and o grupo six months and,

values differently ($p=0,010$) between smoking and exposure to tobacco load. There was systolic arterial pressure (SAP), to the difference significant the analyse of SAP in the tail between groups C2 and C6 (minor value) of comparison with grup S2 and S6 (higher value). Had in decrease in LV systolic pressure, by change into diastolic pressure (DP) in behaviour of the 0 up to 25 mmHg, in group S when compared to the control group. In report systolic pressure maxim (SPmax), there was difference ($p=0,034$) between group C (higher value) and group S (minor value). However, there wasn't interaction significant, between in to foctors (timer and tobacco), to suggest that time of EFC no to be influenced the actions of the tobacco. In conclusion, our study indicates that exposure of rats to tobacco smoking resulted in myocardial remodeling with impairment of the ventricular function, not dependent to time of exposure (two or six months).

Lista de Abreviaturas e Siglas

% Encut. = Porcentagem de Encurtamento

+dp/dt = Derivada de Pressão Positiva

+dp/dt_{Max.} = Derivada de Pressão Positiva Máxima

2 meses = Grupo dois meses que foi constituído pelo grupo C2 agrupado ao grupo F2

6 meses = Grupo seis meses que foi constituído pelo grupo C6 agrupado ao grupo F6

AE = Átrio Esquerdo

AE/Aorta = Relação entre o Átrio Esquerdo e a Aorta

AE/PC = Átrio Esquerdo corrigido pelo Peso do Corpo

AE/PC = Relação entre o Átrio Esquerdo e o Peso do Corpo

Ao/PC: relação entre a aorta e o peso do corpo

ATP = Adenosina Trifosfato

C = Grupo Controle

C2 = Grupo Controle com dois meses de acompanhamento

C6 = Grupo Controle com seis meses de acompanhamento

COHb = Carboxiemoglobina

DC = Débito Cardíaco

DDVE = Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo

DDVE/Ao = Relação entre Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo e a Aorta

DDVE/EPP = Relação entre Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo corrigido pela Espessura de Parede Posterior

DDVE/PC = Relação entre Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo corrigido pelo Peso do Corpo

-dp/dt = Derivada de Pressão Negativa

-dp/dt_{Max.} = Derivada de Pressão Negativa Máxima

DSVE = Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo

E/A = Relação entre a onda E e a onda A

EFC = Exposição à Fumaça de Cigarro

EPP = Espessura de Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo

EPP/DDVE = Relação entre Espessura de Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo e o Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo

F = Grupo Fumante

F2 = Grupo Fumante com dois meses de exposição à fumaça de cigarro

F6 = Grupo Fumante com seis meses de exposição à fumaça de cigarro

FC = Frequência Cardíaca

Fração Ej. = Fração de Ejeção

HDL = Lipoproteína de Alta Densidade

IC = Índice Cardíaco

IMVE = Índice de Massa do Ventrículo Esquerdo (MVE/(PC/1000))

LDL = Lipoproteína de Baixa Densidade

MVE = Massa do Ventrículo Esquerdo

PAS = Pressão Arterial Sistólica

PC = Peso Corporal

pCO₂ = Pressão Parcial de Dióxido de Carbono

PD = Pressão Diastólica

pO_2 = Pressão Parcial de Oxigênio

PS = Pressão Sistólica

PS_{Max.} = Pressão Sistólica Máxima

SO₂ = Saturação de Oxigênio

u/s = Índice Úmido/Seco

VAo = Velocidade na Aorta

VD = Ventrículo Direito

VE = Ventrículo Esquerdo

VSVE = Via de Saída do Ventrículo Esquerdo

SUMÁRIO

RESUMO

SUMMARY

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Remodelação Cardíaca	1
1.2. Fumo	2
1.3. Fumo e Vaso/Endotélio.....	3
1.4. Fumo e Coração.....	6
2. OBJETIVO GERAL	9
3. OBJETIVO ESPECÍFICO	9
4. MATERIAIS E MÉTODOS	10
4.1. Grupos Experimentais.....	10
4.2. Exposição ao Fumo.....	12
4.3. Peso Corporal dos Animais.....	12
4.4. Hemogasimetria	13
4.5. Estudo Morfológico e Funcional	13
4.5.1. Pressão Sistólica Caudal	13
4.5.2. Avaliação Morfológica e Funcional pelo Ecocardiograma.....	14
4.5.3. Estudo da Função Ventricular pela técnica de Langendorff..	16
4.6. Estudo Morfométrico do Coração	19
4.6.1. Percentual de Água	20
4.7. Análise Estatística	21

4.8. Figuras	22
5. RESULTADOS	23
6. DISCUSSÃO	42
6.1. Os Métodos Utilizados	42
6.1.1. Dieta	42
6.1.2. Evolução do Peso Corporal	42
6.1.3. Manipulação dos Animais	43
6.1.4. Hemogasimetria	43
6.1.5. Ecocardiograma	44
6.1.6. Método do Coração Isolado	45
6.2. Discussão do Estudo	47
7. CONCLUSÕES	57
8. REFERÊNCIAS	58
APÊNDICES	66

1. INTRODUÇÃO

1.1. Remodelação Cardíaca

Remodelação, remodelamento ou remodelagem cardíaca pode ser definida como uma série de variações moleculares, celulares e intersticiais cardíacas, que vão se manifestar clinicamente por alterações no tamanho, na massa, na geometria e na função do coração, em resposta a uma determinada agressão. Na maioria dos modelos, aceita-se o conceito de que quanto mais intensa a agressão, mais intensa será a remodelação (Pfeffer et al., 1985; Pfeffer & Braunwald, 1990; Cohn et al., 2000).

Apesar da remodelação ocorrer em situações fisiológicas, como, por exemplo, o desenvolvimento normal do coração até a vida adulta, usualmente esse termo descreve alterações cardíacas patológicas que ocorrem como consequência de diversos estímulos, como fatores mecânicos (sobrecarga hemodinâmica pressórica ou volumétrica), bioquímicos (angiotensina II, endotelina 1, catecolaminas, fator de necrose tumoral, interleucinas 1 e 6, fator de crescimento transformador β 1, fator de crescimento semelhante à insulina 1, óxido nítrico, cálcio, estresse oxidativo) e genéticos (cardiomiopatia hipertrófica e dilatada).

Inicialmente, a remodelação pode manter ou restaurar a função cardíaca na presença de determinada agressão. Entretanto, com a continuidade e/ou com a progressão da remodelação, ocorrem diversas alterações genéticas, bioquímicas e estruturais que resultam em disfunção ventricular progressiva, e conseqüente aparecimento dos sinais e

sintomas de insuficiência cardíaca e morte (Cicogna et al., 2000; Gaudron et al., 2001; Zornoff et al., 2002).

1.2. Fumo

O fumo é composto por cerca de 6.700 substâncias, das quais 4.720 foram bem identificadas (Dube & Green, 1982; Green & Rodgmana, 1996). Estas substâncias têm duas procedências, uma é a folha do fumo e a outra é proveniente da combustão do fumo, que é a sua fumaça.

A fumaça pode ser dividida em duas fases, a fase do vapor, na qual temos monóxido de carbono, dióxido de carbono, sulfeto carbonila, benzeno, tolueno, formaldeído, acrileno, acetona, piridina, 3-metilpiridina, 3-vinilpiridina, cianeto de hidrogeno, amônia, metilamina, dimetilamina, óxidos de nitrogênio, ácido fórmico, ácido acético e cloreto de metil. A fase de partículas compreende partículas metálicas, nicotina, anabatina, fenol, catecol, hidroquinona, colesterol, γ -butirolacetona, quinolina, harmana, ácido benzóico, ácido láctico, ácido glicólico e ácido sucínico (Smith & Fisher, 2001).

As composições químicas da folha e fumaça são: alcanos, esteróis, compostos isoprenóides oxigenados, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, quinonas, nitrilas, compostos de enxofre, ácidos, fenóis, polifenóis, ésteres fenólicos, alcalóides e bases. A reação entre esses elementos químicos, por ocasião da combustão, resulta em outras tantas substâncias tóxicas. Adicionalmente, podemos encontrar alguns elementos inorgânicos, tanto na folha, como na fumaça, tais como, alumínio,

arsênico, ferro, manganês, níquel, titânio e zinco. O fumo pode conter ainda resíduos químicos da agricultura, como: inseticidas, pesticidas e fungicidas. Entre as propriedades do fumo e sua fumaça, destacam-se: radioatividade, formação de radicais livres, alquilação e inibição enzimática (Stedman, 1968).

1.3. Fumo e Vaso/Endotélio

Um dos mais meticolosos estudos anatomopatológicos, efetuado há 30 anos em 1.056 autópsias de indivíduos entre 45 e 75 anos de idade falecidos por causas não cardíacas, constatou que a aterosclerose das coronárias estava presente em mais de quatro vezes nos indivíduos que haviam fumado dois ou mais maços de cigarros diariamente, em comparação com os que nunca haviam fumado. O espessamento fibroso da íntima das coronárias foi encontrado em 22,2% dos primeiros e apenas 0,8% nos segundos. Esse espessamento estava presente, também, nas arteríolas intramiocárdicas (Auerbach et al., 1976). Outro estudo de coorte populacional, realizado com 10.914 participantes, entre 1987 e 1989, mostrou que indivíduos expostos à fumaça de cigarro, tanto de forma passiva como de forma ativa, apresentavam aumento da espessura da íntima-média da artéria carótida. Desse modo, pode-se observar que a exposição à fumaça de cigarro está associada à progressão da aterosclerose (Howard et al., 1998).

Estudo prospectivo envolvendo 34.439 médicos ingleses, observados por 40 anos, mostrou a estreita relação do fumo com as cardiopatias.

Durante o período de observação, verificou-se que a mortalidade por infarto agudo do miocárdio, por aneurisma da aorta e por vasculopatias em geral foi maior nos indivíduos fumantes (10,8; 7,0; e 15,7 vezes, respectivamente) em comparação com os controles (Doll et al., 1994).

Um dos mais completos documentos sobre o vínculo do fumo com as cardiopatias foi publicado pelo Departamento de Saúde e Serviços Humanos, registrando pesquisas de doze países (Estados Unidos, Finlândia, Holanda, Iugoslávia, Itália, Inglaterra, Suécia, Noruega, Dinamarca, França, Grécia, Israel), com duração de dez ou mais anos. Em síntese, verificou-se que o tabagismo foi responsável, em média, por 30% das mortes que resultaram de diversas cardiopatias. Apesar das diferenças étnicas, geográficas, hábitos alimentares e condições sociais, verificou-se a íntima relação entre o consumo de tabaco e a morbiletalidade por coronariopatias, infarto do miocárdio, aterosclerose, angina pectoris, acidentes vasculares cerebrais, aneurisma da aorta, e doença vascular periférica (U.S. Department of Health and Human Service, 1983).

Os mecanismos responsáveis pela ação aterosclerótica da fumaça de cigarro não estão completamente esclarecidos. Podem estar associadas às alterações do perfil lipídico, onde, as lipoproteínas de alta densidade (HDL) diminuem, o que é prejudicial porque são ricas em apolipoproteínas AI e AII, protetoras da parede do vaso contra a aterosclerose. Ao mesmo tempo, há aumento das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol), importante fator de risco para o desenvolvimento da aterosclerose (Craig

et al., 1989; Bertolami, 2000; Ridker et al., 2001). Além disso, a exposição à fumaça de cigarro promove aumento na viscosidade sanguínea.

Estudo realizado com 20 japoneses fumantes saudáveis, que permaneceram de seis a dez horas antes do experimento em total abstinência de fumo, analisou os efeitos de um único cigarro. Após cinco e 60 minutos, foi observado que as concentrações plasmáticas de nitrato e nitrito (produtos finais estáveis da degradação do óxido nítrico) diminuíram de forma estatisticamente significativa cinco minutos após os indivíduos terem fumado o cigarro. Do mesmo modo, as concentrações de antioxidantes analisados no plasma, também, diminuíram (vitamina C; cisteína; metionina e ácido úrico) (Tsuchiya et al., 2002).

A diminuição de antioxidantes pode, potencialmente, diminuir a defesa do organismo contra o estresse oxidativo. O estresse oxidativo tem papel importante na patogênese de várias doenças, não somente na disfunção endotelial, mas também, no envolvimento molecular que controla a inflamação. Este estresse resulta do desbalanço da relação oxidante/antioxidante, excesso de oxidantes e/ou depleção de antioxidantes. O estresse oxidativo aumenta a inflamação em fumantes e em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica, por ativação de fatores de transcrição, *redox* sensíveis, tais como o fator nuclear- κ B e o ativador de proteína-1, que regula genes de mediadores pró-inflamatórios e expressão gênica de antioxidantes (MacNee, 2000).

Portanto, a exposição à fumaça de cigarro pode lesar a rede arterial, sistematicamente, por diferentes mecanismos, além de resultar em disfunção endotelial e aumento da viscosidade sanguínea.

1.4. Fumo e Coração

O coração participa do processo de manutenção das atividades dos diferentes tecidos, bombeando volume de sangue capaz de suprir as necessidades do organismo. Para desempenhar esse papel, é necessário que suas propriedades primordiais básicas, ejeção e enchimento, regulado pela frequência de batimentos, pré-carga, pós-carga e processos metabólicos, estejam funcionando adequadamente (Cicogna et al., 2000).

Um dos aspectos mais relevantes sobre o tabagismo refere-se ao fato de que, apesar da relação entre o hábito de fumar e a doença arterial coronariana ser universalmente aceita, pouco se sabe sobre os efeitos morfo-funcionais do tabagismo diretamente sobre o coração.

Muitas substâncias contidas no cigarro estão sendo objeto de estudo, dentre elas, duas substâncias são marcantes agentes moduladores dos processos cardiovasculares: a nicotina e o monóxido de carbono.

As ações da nicotina no coração são variadas e numerosas, já que essa substância afeta o índice cardíaco (estimulado por catecolaminas), a contratilidade e o fluxo coronariano, apesar da maioria dos estudos analisarem o efeito agudo e não crônico da administração de nicotina. Por exemplo: em modelo experimental de músculo papilar isolado de

cachorro, a administração aguda de nicotina promoveu aumento da contratilidade miocárdica (Greenspan et al., 1969). Entretanto, em ratos tratados com nicotina por sete dias, e que foram submetidos a infarto do miocárdio, foi mostrado dilatação do ventrículo esquerdo (VE), com a parede infartada pouco densa, sugerindo que a nicotina teve efeito adverso na remodelação ventricular após o infarto do miocárdio (Villarreal et al., 1999).

O monóxido de carbono possui cerca de 250 vezes maior afinidade pela hemoglobina do que o oxigênio, formando, assim, a carboxiemoglobina. Esse fenômeno diminui a oxigenação do miocárdio e dos tecidos em geral (Aronow et al., 1971). A exposição crônica ao monóxido de carbono, com o nível de carboxiemoglobina similar ao observado em fumantes, aumentou a expressão da endotelina 1 e a indução da hipertrofia do miocárdio em ratos (Loennechen et al., 1999).

Outro aspecto a ser considerado, entretanto, é que não é possível extrapolar os efeitos da exposição aguda de componentes específicos como, por exemplo, a nicotina ou o monóxido de carbono, para os efeitos da exposição crônica da fumaça do cigarro no coração, já que a fumaça do cigarro contém milhares de substâncias conhecidas. Assim, vários autores, em diferentes modelos, realizaram experimentos para esclarecimento dos efeitos cardíacos da exposição à fumaça de cigarro. Houdi et al. (1995) expuseram ratos à fumaça por quatro dias e verificaram aumento da pressão arterial e diminuição do débito cardíaco. Utilizando o modelo de avaliação de contratilidade por meio de preparações de músculo papilar

isolado, Brooks et al. (1982) não encontraram diferenças no desempenho cardíaco entre ratos expostos à fumaça por 180 dias e os animais controle. Em ratos espontaneamente hipertensos, a exposição à fumaça por oito semanas resultou em aumento da pressão arterial e queda da frequência cardíaca, em relação aos controles (Tanaka, 2004). Também no modelo do rato, a exposição à fumaça de cigarro por seis meses resultou em aumento da expressão do RNA mensageiro para a endotelina 1 no tecido cardíaco (Adachi, 2000). Por outro lado, no modelo de cães, tanto a administração de nicotina como a exposição à fumaça de cigarro, por 22 meses, não modificaram a fração de ejeção e a pressão diastólica final do VE, em comparação com os controles (Ahmed, 1976).

Em nosso laboratório, realizamos uma série de experimentos cuja exposição à fumaça de cigarro, resultou em alterações morfológicas e funcionais cardíacas (Paiva, 2003; Castardeli, 2005; Zornoff, 2006). Entretanto, as conseqüências da exposição ao fumo por diferentes períodos de tempo ainda não foram estudadas.

Pelo exposto, as informações disponíveis na literatura permitem o conceito de que a exposição crônica à fumaça de cigarro resulta em alterações cardíacas morfológicas e funcionais. Em adição, elaboramos a hipótese de que essas alterações sejam dependentes do tempo de exposição ao fumo.

2. OBJETIVO GERAL

Determinar as alterações cardíacas estruturais e funcionais causadas pela exposição à fumaça de cigarro, em corações de ratos.

3. OBJETIVO ESPECÍFICO

Analisar a influência do tempo de exposição à fumaça de cigarro na remodelação ventricular em ratos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP (Protocolo Nº 279).

Foram utilizados ratos machos, Wistar, pesando entre 200 a 250g, fornecidos pelo Biotério Central do Campus de Botucatu; para determinação e distribuição dos grupos, os animais foram escolhidos por uma tabela de números ao acaso.

4.1. Grupos Experimentais

1) grupo controle (C) composto por 43 animais, sem tratamento, divididos em dois subgrupos, de acordo com o período de sua eutanásia.

- Denominou-se controle dois meses (C2), o grupo composto por 25 animais e eutanásia realizada aos dois meses do período experimental.
- Denominou-se controle seis meses (C6), o grupo composto por 18 animais e eutanásia realizada aos seis meses do período experimental.

2) grupo fumante (F) composto por 47 animais, divididos em dois subgrupos, de acordo com o período de sua eutanásia.

- Denominou-se fumante dois meses (F2), o grupo composto por 22 animais e eutanásia realizada aos dois meses do período experimental.

- Denominou-se fumante seis meses (F6), o grupo composto por 25 animais e eutanásia realizada aos seis meses do período experimental.

3) grupo dois meses (2 meses) composto por 47 animais, que foi constituído pelo grupo C2 agrupado ao grupo F2.

4) grupo seis meses (6 meses) composto por 43 animais, que foi constituído pelo grupo C6 agrupado ao grupo F6.

Os animais do grupo F foram expostos à fumaça de cigarro na taxa de 40 cigarros/dia; esses animais receberam dieta usual do laboratório do departamento de Clínica Médica da Faculdade, que utiliza a ração da marca Purina[®], *ad libitum*. A quantidade de ração não consumida era pesada diariamente. Desta forma, foi possível calcular a quantidade média de ração ingerida pelos animais. Para os animais do grupo C, foi ofertada dieta de rotina do laboratório do departamento de Clínica Médica da Faculdade, na mesma quantidade ingerida pelo grupo F.

Durante o período experimental, os ratos foram mantidos em grupos de cinco animais por gaiola, à temperatura ambiente de 23°C, com ciclos de luminosidade de 12 horas.

4.2. Exposição ao Fumo

Foi utilizado o método descrito por Simani et al. (1974), adaptado por Wang et al. (1999) e padronizado em nosso laboratório por Paiva et al. (2003); que utiliza um aparato especialmente desenhado para a exposição à fumaça de cigarro (EFC). Os ratos foram colocados em câmara transparente conectada ao aparato de fumar com volume de aproximadamente 95x80x65 cm (figura 1). *Puffs* de fumaça foram tirados do cigarro por vácuo e jogados na câmara (figura 2). A fumaça foi liberada a uma taxa de cinco cigarros/30 min, com intervalos de descanso de 10 minutos, duas vezes por dia no período da tarde, durante a primeira semana. O número de cigarros foi aumentado, a partir da segunda semana, para uma taxa de 10 cigarros/30 min, com intervalos de descanso de 10 minutos duas vezes no período da manhã e duas no período da tarde, até o final do período de estudo. Utilizou-se cigarro comercial com a seguinte composição: 1,1 mg de nicotina, 14 mg de alcatrão e 15 mg de monóxido de carbono.

4.3. Peso Corporal dos Animais

Para a obtenção do peso corporal (PC), todos os animais, tanto do grupo fumante como do grupo controle, foram pesados semanalmente e no momento da eutanásia em balança analítica de precisão.

4.4. Hemogasimetria

Para determinação da pressão parcial de oxigênio (pO_2), pressão parcial de dióxido de carbono (pCO_2), saturação de oxigênio (SO_2) e carboxiemoglobina (COHb), as amostras de sangue arterial da cauda, de cada animal, foram obtidas com o auxílio de um *butterfly* conectado a uma seringa de 5ml previamente heparinizada (figura 3). A coleta foi realizada um mês antes da eutanásia. A análise foi processada imediatamente após as coletas de sangue, em analisador de gases automático Technicon, modelo RA-XT[®] disponível no Serviço de rotina do Laboratório de Bioquímica da Seção de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu.

4.5. Estudo Morfológico e Funcional

4.5.1. Pressão Sistólica Caudal

Para a medida da pressão arterial sistólica (PAS), utilizou-se plestímógrafo de cauda, constituído por um polígrafo (Byo-Sistem PE 300, NARCO) com sensor colocado na região proximal da cauda e um eletroesfigmomanômetro, possibilitando assim o registro gráfico da pressão arterial. Os animais foram aquecidos em caixa de madeira a 37°C com o calor gerado por duas lâmpadas de filamentos, por quatro minutos, e transferidos para um suporte cilíndrico de ferro, especialmente desenhado para permitir a completa exposição da cauda do animal. Na região proximal da cauda foi colocado o sensor (KSM-microfone) ligado ao

plestimógrafo. A pressão arterial na cauda foi registrada em papel com o polígrafo na velocidade de 2,5mm/s (figura 4).

4.5.2. Avaliação Morfológica e Funcional pelo Ecocardiograma

Após o período de observação de dois ou seis meses, os animais foram submetidos a estudo ecocardiográfico. Resumidamente, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50mg/kg) e cloridrato de xilidino (1mg/kg), por via intramuscular e, após tricotomia da região anterior do tórax, foram posicionados em decúbito lateral esquerdo. O ecocardiograma foi realizado com equipamento da Philips (modelo HDI 500), equipado com transdutor eletrônico de 7,5 MHz. A avaliação dos fluxos foi realizada com o mesmo transdutor operando em 5,0 MHz. A partir do corte paraesternal em eixo menor, obteve-se a imagem monodimensional transversa do VE, utilizando-se a imagem bidimensional como guia para posicionamento do feixe ultrasônico logo abaixo do plano da valva mitral entre os músculos papilares. As imagens da aorta e do átrio esquerdo, também, foram obtidas na posição para-esternal eixo menor com o cursor do modo-M posicionado ao nível da valva aórtica. O registro da imagem monodimensional, ajustada para a velocidade de 100 mm/s, foi realizado por meio da impressora modelo UP-890MD da Sony Co.. As estruturas cardíacas foram medidas no monitor do equipamento em cinco ciclos cardíacos consecutivos e em acordo com as recomendações da American Society of Echocardiography (Sahn et al., 1978). O diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE) e a espessura

da parede posterior do VE (EPP) foram medidos no momento correspondente ao diâmetro máximo da cavidade. O diâmetro sistólico do VE (DSVE) foi medido no momento de máxima excursão sistólica da parede posterior da cavidade. A função sistólica do VE foi avaliada calculando-se a porcentagem de encurtamento sistólico ($(DDVE - DSVE) / DDVE$) x 100 e a fração de ejeção ($(DDVE^3 - DSVE^3) / DDVE^3$). O fluxo diastólico transmitral (ondas E e A) foi obtido com o transdutor na posição apical quatro câmaras. Os picos de velocidade nas fases de enchimento ventricular rápido (onda E) e durante a contração atrial (onda A) foram medidos diretamente no monitor do ecocardiógrafo, em cinco ciclos cardíacos consecutivos. Para índice de massa do ventrículo esquerdo (IMVE) utilizou-se $VE / (PC / 1000)$.

As seguintes variáveis ecocardiográficas foram estudadas:

- VSVE: via de saída do ventrículo esquerdo;
- FC: frequência cardíaca;
- DC: débito cardíaco;
- VAo: velocidade na aorta;
- Átrio E: Átrio Esquerdo;
- DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo;
- DSVE: diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo;
- EPP: espessura de parede posterior do ventrículo esquerdo;
- IC: índice cardíaco;
- E/A: relação entre a onda E e a onda A;
- AE/Aorta: relação entre o átrio esquerdo e a aorta;

- EPP/DDVE: relação entre espessura de parede posterior do ventrículo esquerdo e o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo;
- DDVE/PC: relação entre diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo e o peso do corpo;
- AE/PC: relação entre o átrio esquerdo e o peso do corpo; Ao/PC: relação entre a aorta e o peso do corpo;
- DDVE/Ao: relação entre diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo e a aorta;
- MVE: massa do ventrículo esquerdo;
- IMVE: índice de massa do ventrículo esquerdo ($MVE/(PC/1000)$);
- % Encut.: porcentagem de encurtamento;
- Fração Ej.: fração de ejeção.

4.5.3. Estudo da Função Ventricular pela Técnica de Langendorff

Vinte e quatro horas após o estudo ecocardiográfico, os animais foram submetidos ao estudo funcional *in vitro* do VE. Esse estudo foi realizado por meio do coração isolado contraindo isovolumetricamente, segundo a técnica de Langendorff, utilizando-se o aparato da Hugo Sachs Elektronik, modelo 803. Essa técnica consiste na perfusão retrógrada do coração, pela aorta ascendente, com solução nutriente. A solução nutriente utilizado foi a solução de Krebs-Henseleit modificada, com a seguinte composição: NaCl 115 mM; KCl 5,4 mM; MgSO₄ 1,2 mM; CaCl₂ 1,25 mM; NaH₂PO₄ 1,15 mM; NaHCO₃ 25 mM; glicose 11 mM. À solução

acima foi acrescentado manitol (8 mM), com o objetivo de reduzir o edema miocárdico (Zornoff et al., 1995).

Os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg) administrado por via intraperitoneal. Pela mesma via, foi administrado o anticoagulante heparina (1.000 UI).

Após verificação do efeito desejado da anestesia, o tórax foi submetido à abertura mediana extensa com tesoura cirúrgica. A seguir, a aorta ascendente foi dissecada e reparada com fios de seda; a veia cava inferior foi clampeada com uma pinça hemostática com o intuito de diminuir o retorno venoso. Um clipe hemostático foi colocado momentaneamente no início da aorta ascendente a fim de evitar lesão da valva aórtica durante a canulação retrógrada do vaso.

Uma pequena incisão foi realizada na aorta ascendente e cânula metálica (número 15, 23 x 1,5 mm) foi introduzida retrogradamente e conectada ao aparato de perfusão por meio de tubo de *silastic*. Esse procedimento permitiu o início da perfusão miocárdica estando o coração ainda *in situ*, após a retirada do clipe arterial e da pinça da veia cava inferior (figura 5).

A perfusão miocárdica foi realizada com a solução de Krebs-Henseleit modificada. Essa solução foi continuamente impulsionada para dentro de reservatório de vidro de dupla parede onde circulava água deionizada a 37° C, mantendo constante a temperatura da solução. A oxigenação foi efetuada com mistura gasosa (95% O₂, 5% CO₂) mantendo-se a pressão parcial de oxigênio entre 550-600 mmHg e pH

entre 7,3 e 7,4. A pressão de perfusão coronariana foi mantida em 75 mmHg e monitorizada com auxílio do transdutor de pressão Stathan P23 XL acoplado ao aparato.

A seguir, o coração foi cuidadosamente removido do tórax e montado no equipamento de coração isolado. O átrio foi aberto e o ápice do VE puncionado com agulha, de modo a drenar a cavidade ventricular, evitando-se acúmulo de líquido no seu interior. Um balão de borracha, tipo látex, atado o tubo rígido de duplo lúmen foi colocado na cavidade ventricular, com as bordas do balão para fora da cavidade ventricular (figura 6). Uma das comunicações do tubo rígido foi conectada ao transdutor de pressão (STATHAN P₂₃ X L) e a outra, a seringa de 1 ml.

O transdutor foi acoplado ao amplificador modelo 1205 de polígrafo VR-12 *Eletronics for Medicine*. A pressão do VE, obtida por este sistema manométrico, foi utilizada para determinar a derivada de pressão (dp/dt) por meio de diferenciador RC-1 com constante de tempo de 0,01s e resposta linear até 200 hertz.

A musculatura atrial direita, compreendendo a região do nódulo sinoatrial, foi extirpada e eletrodo de marcapasso artificial foi colocado no miocárdio do ventrículo direito (VD) para se manter, artificialmente, a frequência cardíaca em torno de 200 batimentos por minuto.

A seguir, curvas de *Starling* foram obtidas com infusão de líquido no balão, que permitiu variar a pressão diastólica (PD) do VE de 0 a 25 mmHg, através de incrementos graduais de 5 mmHg, registrando-se a pressão sistólica (PS) correspondente a cada variação de volume (figura

6). Em preparações assim concebidas, em que o coração opera em contrações isovolumétricas, a PS é considerada um bom indicador da capacidade contrátil. A primeira derivada de pressão ($+dp/dt$) e a derivada negativa de pressão ($-dp/dt$), também, foram registradas e serviram como parâmetros de função sistólica e diastólica do VE, respectivamente.

Para calibrar o registro das pressões sistólicas e diastólicas do VE foi utilizado manômetro de coluna de mercúrio. Os traçados correspondentes a 0 e 100 mmHg foram registrados no papel fotográfico, para posterior calibração dos valores pressóricos.

As seguintes variáveis do coração isolado foram estudadas:

- PS: pressão sistólica;
- PS_{Max.}: pressão sistólica máxima;
- $+dp/dt$: derivada de pressão positiva;
- $+dp/dt$ _{Max.}: derivada de pressão positiva máxima;
- $-dp/dt$: derivada de pressão negativa;
- $-dp/dt$ _{Max.}: derivada de pressão negativa máxima;

4.6. Estudo Morfométrico do Coração

Após o estudo funcional, os corações foram retirados do aparelho de perfusão e secos com papel filtro. Os ventrículos direito e esquerdo (incluindo o septo ventricular) foram separados e pesados. Assim, pela pesagem direta, obtivemos a massa do VE e massa do VD.

4.6.1. Percentual de Água

Fragmentos do VE e VD foram pesados em balança analítica de precisão (modelo B-6000 da Micronal), correspondendo ao peso úmido. Em seguida, os fragmentos foram colocados em estufa, previamente regulada em 80°C, por 48 horas. Depois deste período de permanência na estufa, os fragmentos já desidratados foram novamente pesados, obtendo-se assim o peso seco de cada fragmento de VE e VD. Desse modo, pudemos obter o percentual de água. Procedimento semelhante foi utilizado para o fígado e os pulmões.

Para todos os tecidos, o teor de água foi calculado com a seguinte fórmula:

$$\text{Percentual de Água} = \frac{\text{Peso Úmido} - \text{Peso Seco}}{\text{Peso Úmido}} \times 100$$

4.7. Análise Estatística

As variáveis com distribuição normal foram apresentadas como médias e erro padrão e as comparações entre os grupos (C com F e 2 meses com 6 meses) foram efetuadas pelas análises de variâncias (ANOVA - Duas Vias), seguidas de testes de comparações múltiplas de *Tukey*. As análises foram efetuadas por meio de pacote estatístico *SigmaStat for Windows*, versão 3.1 (SPSS, San Raphael, CA, USA), admitindo-se nível de significância de 5%.

Quando os dados tinham distribuição não normal, assim, não sendo possível a aplicação do teste de variância (ANOVA - Duas Vias), as comparações entre os grupos foram feitas par a par (C2 com F2, C6 com F6 e F2 com F6). Para os pares com distribuição normal, utilizou-se o teste *t* de *Student* com média e desvio padrão, complementado pelo teste de Bonferroni. Para os dados com distribuição não normal, utilizou-se o teste *U* Mann-Whitney, complementado pelo teste de Bonferroni. Nesse caso, os dados foram expressos em mediana, inclusive amplitude entre quartílica.

4.8. Figuras



Figura 1 - Aparato de Fumar



Figura 2 - Câmara de Contenção



Figura 3 - Coleta de Sangue



Figura 4 - Pressão Sistólica Caudal



Figuras 5 - Extração do Coração



Figura 6 - Inserção do Balão

5. Resultados

Os dados ilustrativos do PC dos animais no final do período experimental, o efeito da EFC na PAS e na concentração de COHb são mostrados nas figuras 7 a 9. Considerando a análise ANOVA de 2 vias, em relação ao PC, não foi observada diferença significativa entre o grupo C ($450,162\text{g} \pm 5,848\text{g}$) e o grupo F ($438,985\text{g} \pm 5,530\text{g}$) e foi observada diferença entre o grupo 2 meses ($409,145\text{g} \pm 50,530\text{g}$) e o grupo 6 meses ($480,002\text{g} \pm 5,848\text{g}$). Em adição, não houve interação significativa entre os fatores (tempo e fumo), sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo (figura 7). Considerando da análise do teste *t* de *Student*, em relação a PAS caudal observamos diferença ($p=0,006$) na média entre o grupo C2 ($113,75 \pm 15,03\text{mmHg}$) e o grupo F2 ($127,22 \pm 13,19\text{mmHg}$). Do mesmo modo, considerando a análise do teste *U* de *Mann-Whitney*, foi observada diferença ($p=0,001$) entre o grupo C6 ($110,00\text{mmHg}$) comparado com o grupo F6 ($120,00\text{mmHg}$). Não houve diferença significativa entre o grupo F2 comparado com o grupo F6, sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo (figura 8). O resultado hemogasométrico para concentração de COHb é mostrado na figura 9 houve diferença ($p=0,001$) na média entre os grupos C ($0,219\% \pm 0,079\%$) e o grupo F ($2,391\% \pm 0,072\%$). Adicionalmente, o grupo 2 meses apresentou concentração elevada em relação ao grupo 6 meses ($p=0,026$). Em relação a essa variável, houve interação estatística ($p=0,001$) entre os fatores (tempo e fumo), sugerindo que o tempo de EFC influenciou as ações do fumo.

As análises ecocardiográficas são mostradas nas figuras 10 a 13. Considerando a análise ANOVA de 2 vias, em relação ao AE, foi observada diferença ($p=0,005$) entre o grupo C (valores menores) comparado com o grupo F (valores maiores). Do mesmo modo, foi observada diferença ($p=0,001$) entre o grupo 2 meses (valores menores) comparado com o grupo 6 meses (valores maiores). Em adição, não houve interação significativa entre os fatores (tempo e fumo), sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo (figura 10). O mesmo ocorreu com o AE, normalizado pela dimensão da aorta (figura 11). Para o AE corrigido pelo peso do corpo (AE/PC), foi observada diferença ($p=0,001$) no grupo C (valores menores), quando comparado com o grupo F (valores maiores). Adicionalmente, não houve interação significativa entre os fatores (tempo e fumo) (figura 12). Em relação ao DDVE corrigido pelo peso do corpo dos animais (DDVE/PC), foi observada diferença ($p=0,023$) entre o grupo C (valores menores) em comparação ao grupo F (valores maiores). Do mesmo modo, foi observada diferença ($p=0,048$) entre o grupo 2 meses (valores maiores) comparado com o grupo 6 meses (valores menores). Em adição, houve interação significativa ($p=0,010$) entre os fatores (tempo e fumo), indicando ação deletéria acentuada aos 2 meses (figura 13). Na figura 14, está representada o aumento da massa do VE ($p=0,048$) encontrada no grupo C em comparação ao grupo F. Não houve interação significativa entre os fatores (tempo e fumo), sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo.

Para as variáveis relacionadas à retenção hídrica, considerando a análise do teste *U* de *Mann-Whitney*, foi observada diferença significativa, para o VD, entre o grupo C6 (valores menores) e o grupo F6 (valores maiores). Não foi observada diferença significativa entre o grupo F2 comparado com o grupo F6, sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo (figura 15).

As variáveis morfométricas cardíacas são mostrados nas figuras 16 a 18. Considerando a análise do teste *t* de *Student*, em relação ao VE/PC, foi observada diferença ($p=0,001$) entre o grupo C2 (valores menores) e o grupo F2 (valores maiores). Do mesmo modo, foi observada diferença significativa entre o grupo C6 (valores menores) e o grupo F6 (valores maiores). Em adição, não houve diferença significativa entre o grupo F2 comparado com o grupo F6, sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo (figura 16). Em relação ao VD, considerando a análise do teste *t* de *Student*, encontramos diferença ($p=0,009$) em relação ao VD/PC entre o grupo C2 (valores menores) e o grupo F2 (valores maiores). Do mesmo modo, considerando a análise do teste *U* de *Mann-Whitney*, foi observada diferença significativa entre o grupo C6 (valores menores) e o grupo F6 (valores maiores). Em adição, não houve diferença entre o grupo F2 comparado com o grupo F6, sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo (figura 17). A figura 18, considerando a análise do teste *t* de *Student*, mostra a diferença ($p=0,001$) em relação ao VE+VD/PC, entre o grupo C2 (valores menores) e o grupo F2 (valores maiores). Do mesmo modo, considerando a análise

do teste *U* de *Mann-Whitney*, foi observada diferença significativa entre o grupo C6 (valores menores) e o grupo F6 (valores maiores). Em adição, houve diferença entre o grupo F2 comparado com o grupo F6, sugerindo que o tempo de EFC influenciou as ações do fumo.

As análises para o estudo funcional, do coração isolado são mostradas nas figuras 19 a 21. O comportamento da pressão sistólica (PS), correspondente às pressões diastólicas (PD) para os incrementos 0 a 25 mmHg, entre o grupo Controle e o grupo Fumante, são apresentados na figura 19 e entre o grupo 2 meses e o grupo 6 meses na figura 20. Em relação a PS máxima foi observada diferença ($p=0,034$) entre o grupo C (valores maiores) e o grupo F (valores menores). Porém, não houve interação significativa entre os fatores (tempo e fumo), sugerindo que o tempo de EFC não influenciou as ações do fumo (figura 21). Em relação às outras variáveis estudadas, não foram encontradas diferenças significantes e seus valores encontram-se em apêndices (tabelas 1, 2, 3 e 4).

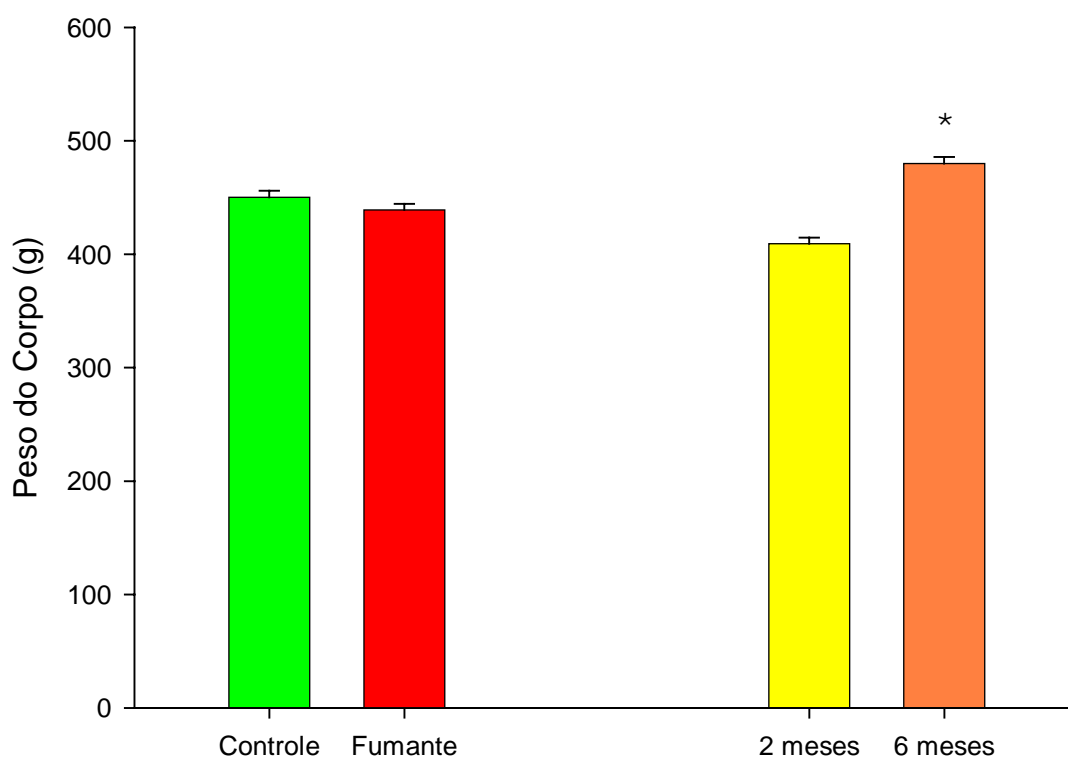


Figura 7- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm erro padrão, do Peso do Corpo dos ratos, do grupo Controle, grupo Fumante, grupo dois meses e grupo seis meses da análise do teste de variância - ANOVA de duas vias.

* $p < 0,05$, efeito do tempo

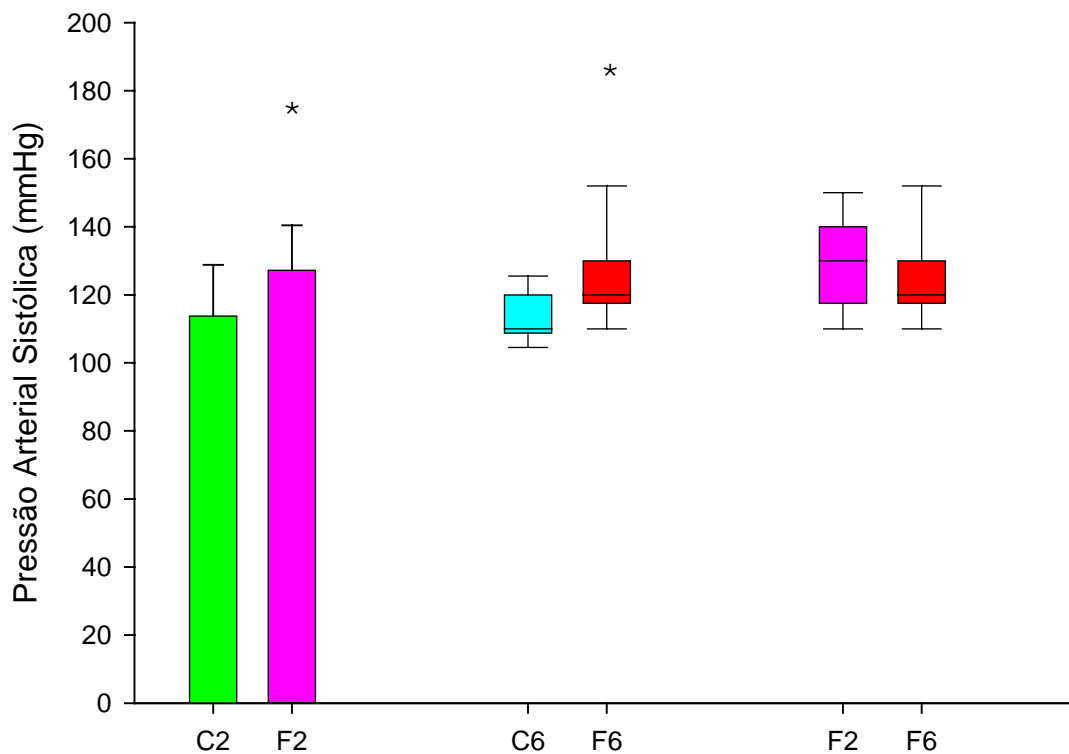


Figura 8- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm desvio padrão da análise do teste *t* de *Student*, da pressão arterial sistólica caudal dos ratos, do grupo Controle dois meses e grupo Fumante dois meses. Na forma de caixas, com mediana e amplitude entre quartílica da análise do teste *U* de *Mann-Whitney*, do grupo controle seis meses, grupo Fumante seis meses, grupo Fumante dois meses e Fumante seis meses.

* $p < 0,05$, efeito da EFC

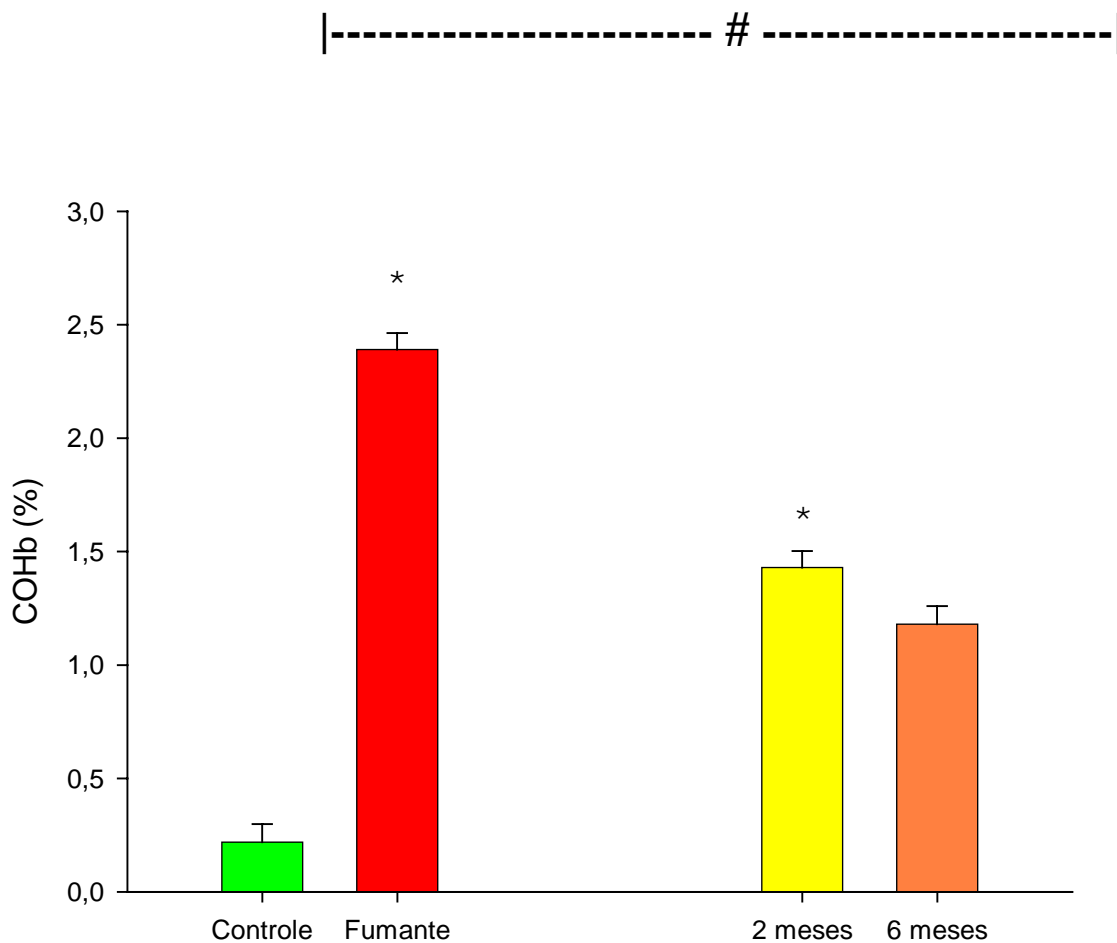


Figura 9- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm erro padrão, da concentração sanguínea de carboxiemoglobina dos ratos, do grupo Controle, grupo Fumante, grupo dois meses e grupo seis meses da análise do teste de variância - ANOVA de duas vias.

* $p < 0,05$, efeito da EFC e do tempo

Como interação estatística entre a EFC e o tempo

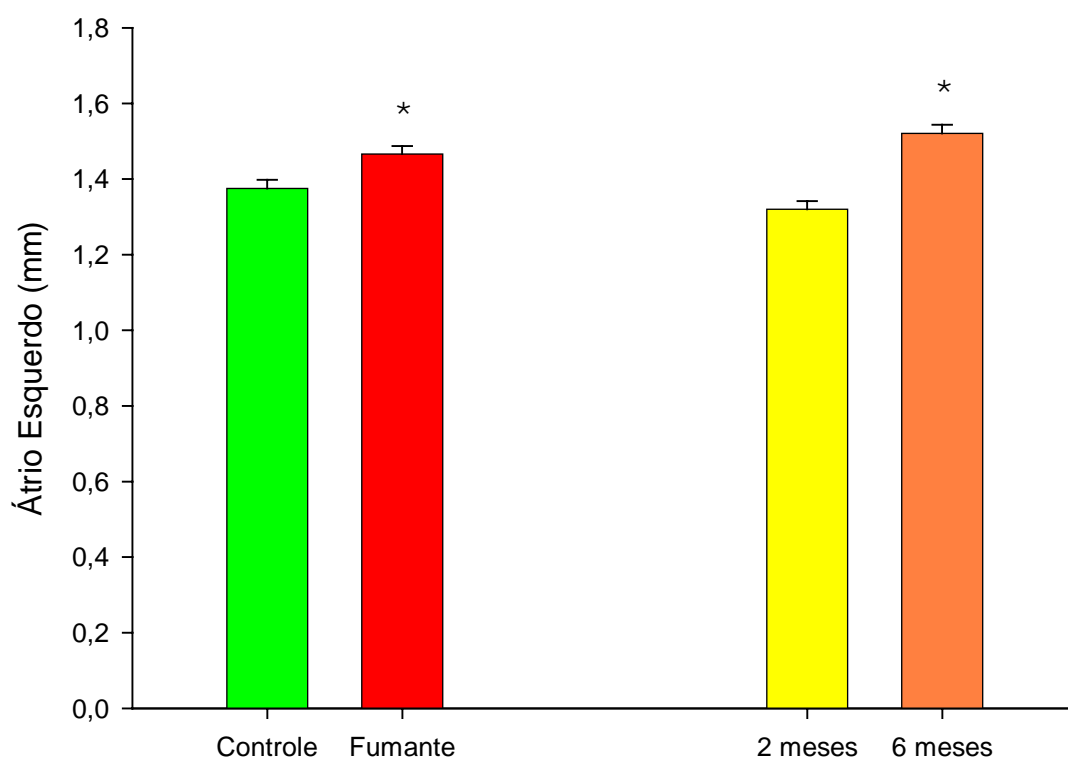


Figura 10- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm erro padrão, do átrio esquerdo dos ratos, do grupo Controle, grupo Fumante, grupo dois meses e grupo seis meses da análise do teste de variância - ANOVA de duas vias.

* $p < 0,05$, efeito da EFC e do tempo

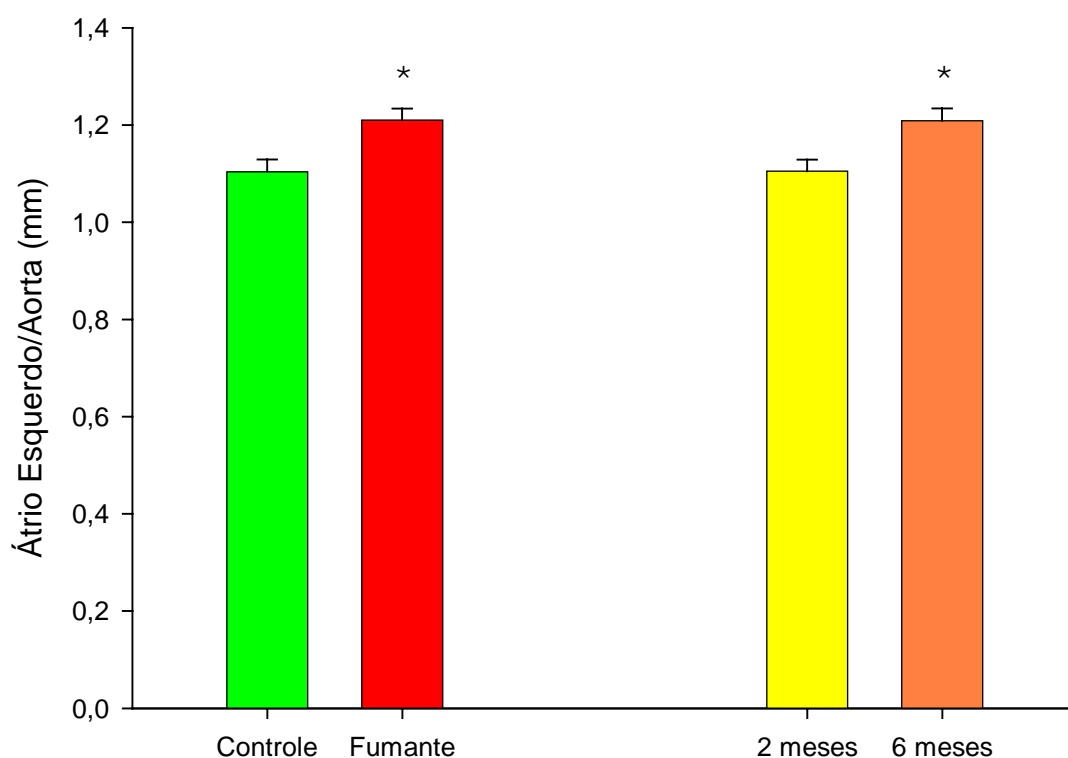


Figura 11- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm erro padrão, átrio esquerdo normalizado pela dimensão da aorta, do grupo Controle, grupo Fumante, grupo dois meses e grupo seis meses da análise do teste de variância - ANOVA de duas vias.

* $p < 0,05$, efeito da EFC e do tempo

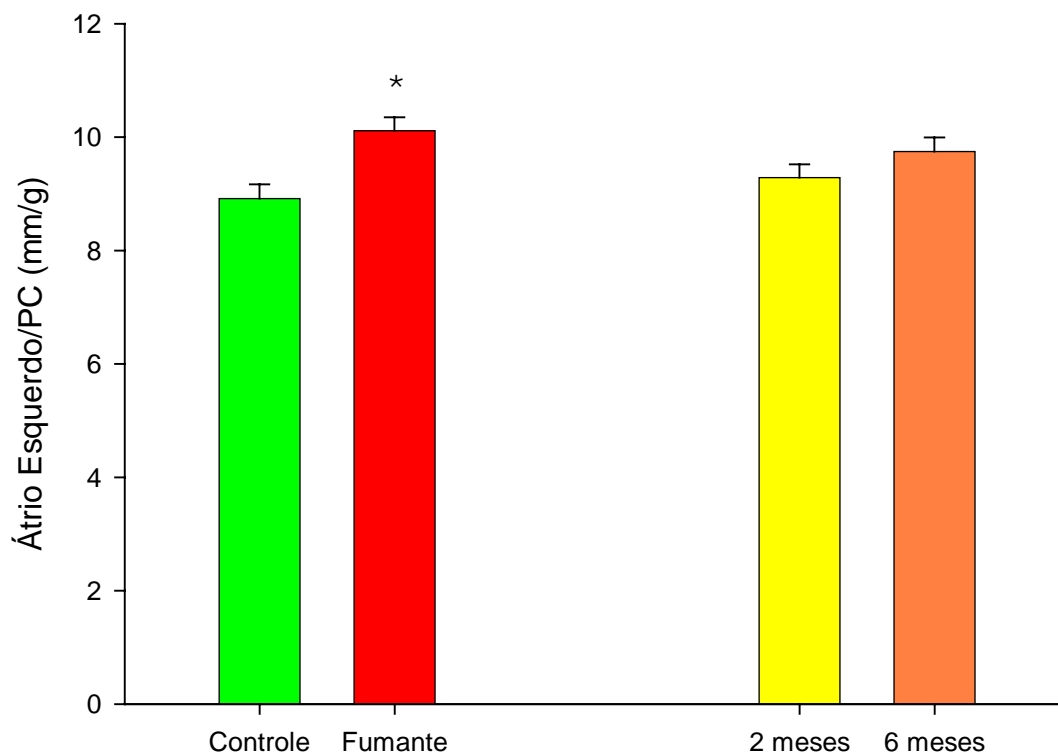


Figura 12- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm erro padrão, átrio esquerdo corrigido pelo peso do corpo, do grupo Controle, grupo Fumante, grupo dois meses e grupo seis meses da análise do teste de variância - ANOVA de duas vias.

* $p < 0,05$, efeito da EFC

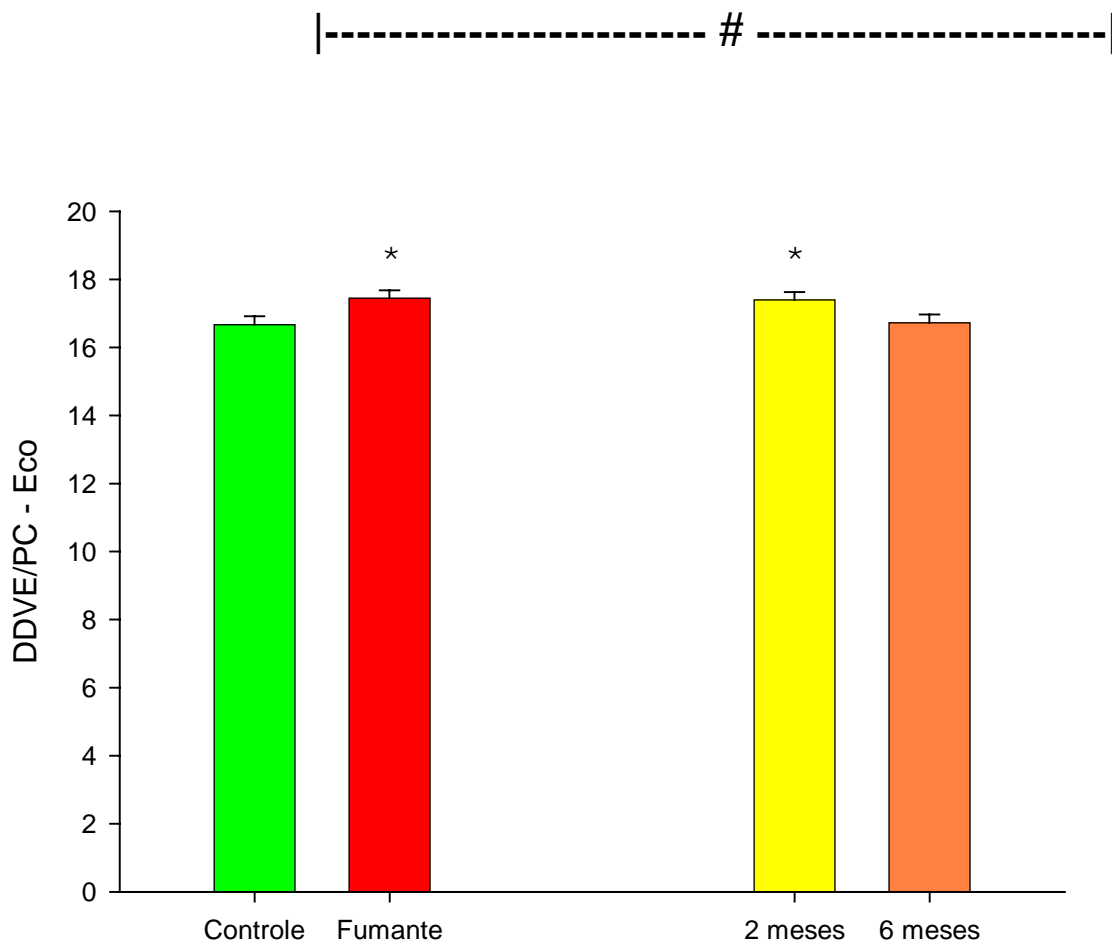


Figura 13- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm erro padrão, do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo corrigido pelo peso do corpo, do grupo Controle, grupo Fumante, grupo dois meses e grupo seis meses da análise do teste de variância - ANOVA de duas vias.

* $p < 0,05$, efeito da EFC e do tempo

Como interação estatística entre a EFC e o tempo

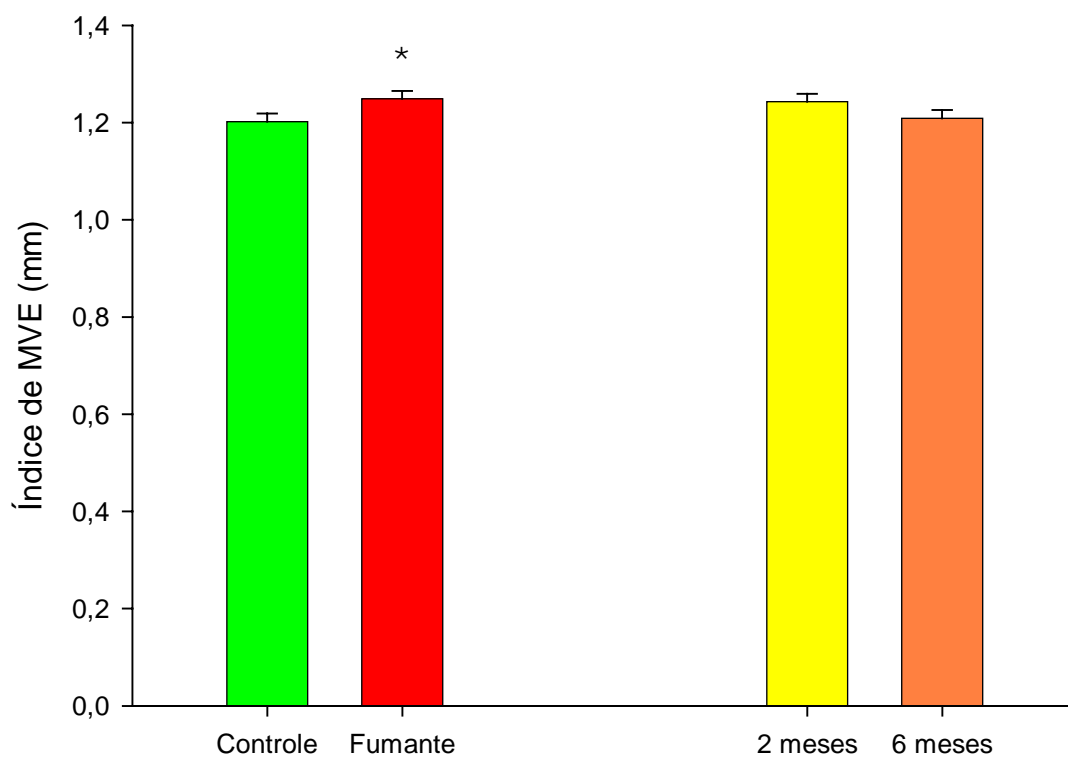


Figura 14- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm erro padrão, do índice de massa do ventrículo esquerdo, do grupo Controle, grupo Fumante, grupo dois meses e grupo seis meses da análise do teste de variância - ANOVA de duas vias.

* $p < 0,05$, efeito da EFC

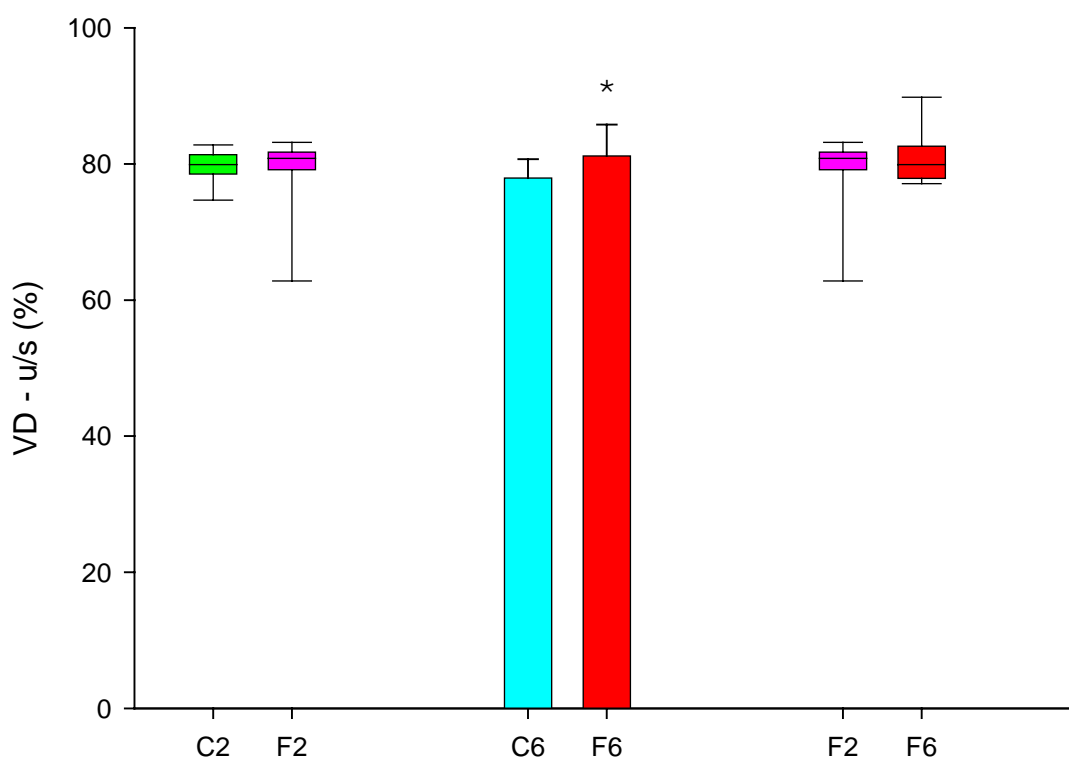


Figura 15- Representação gráfica, na forma de caixas, com mediana e amplitude entre quartílica da análise do teste *U* de *Mann-Whitney*, do percentual de água no ventrículo direito dos ratos, do grupo Controle dois meses e grupo Fumante dois meses. Na forma de barras, com média \pm desvio padrão da análise do teste *t* de *Student*, do grupo Controle seis meses e grupo Fumante seis meses. Na forma de caixas, com mediana e amplitude entre quartílica, para o grupo Fumante dois meses e Fumante seis meses.

* $p < 0,05$, efeito da EFC

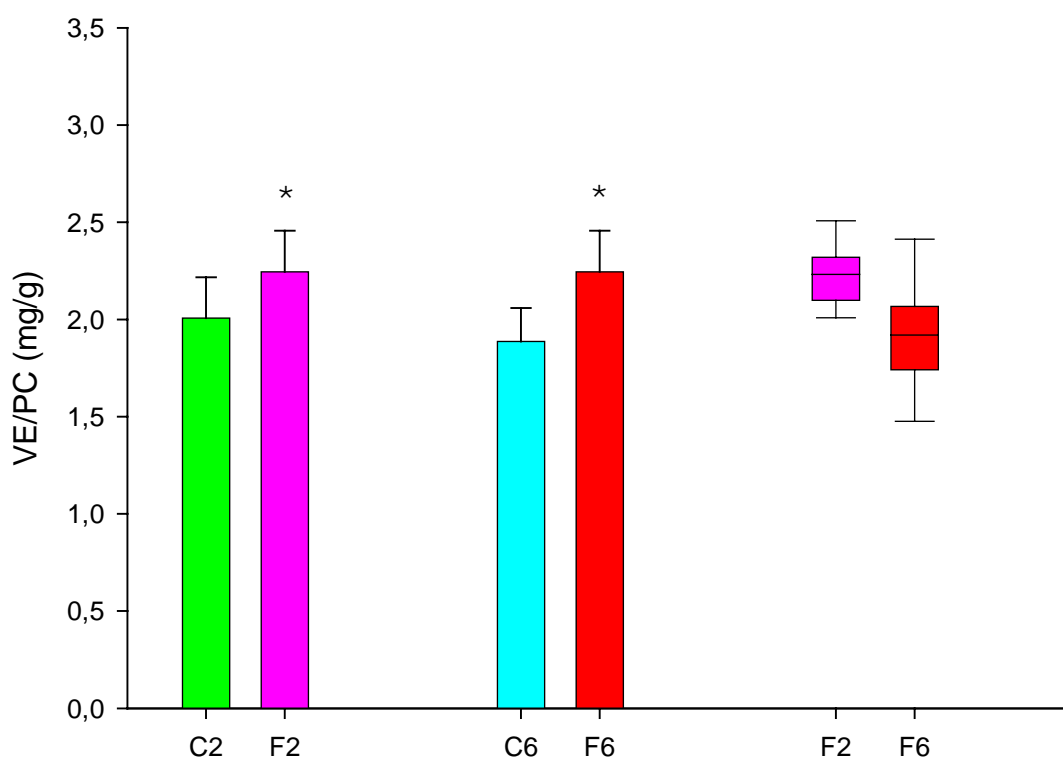


Figura 16- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm desvio padrão da análise do teste *t* de *Student*, do ventrículo esquerdo normalizado pelo peso do corpo dos ratos, do grupo Controle dois meses, grupo Fumante dois meses, Controle seis meses e Fumante seis meses. Na forma de caixas, com mediana e amplitude entre quartílica da análise do teste *U* de *Mann-Whitney*, para o grupo Fumante dois meses e grupo Fumante seis meses.

* $p < 0,05$, efeito da EFC

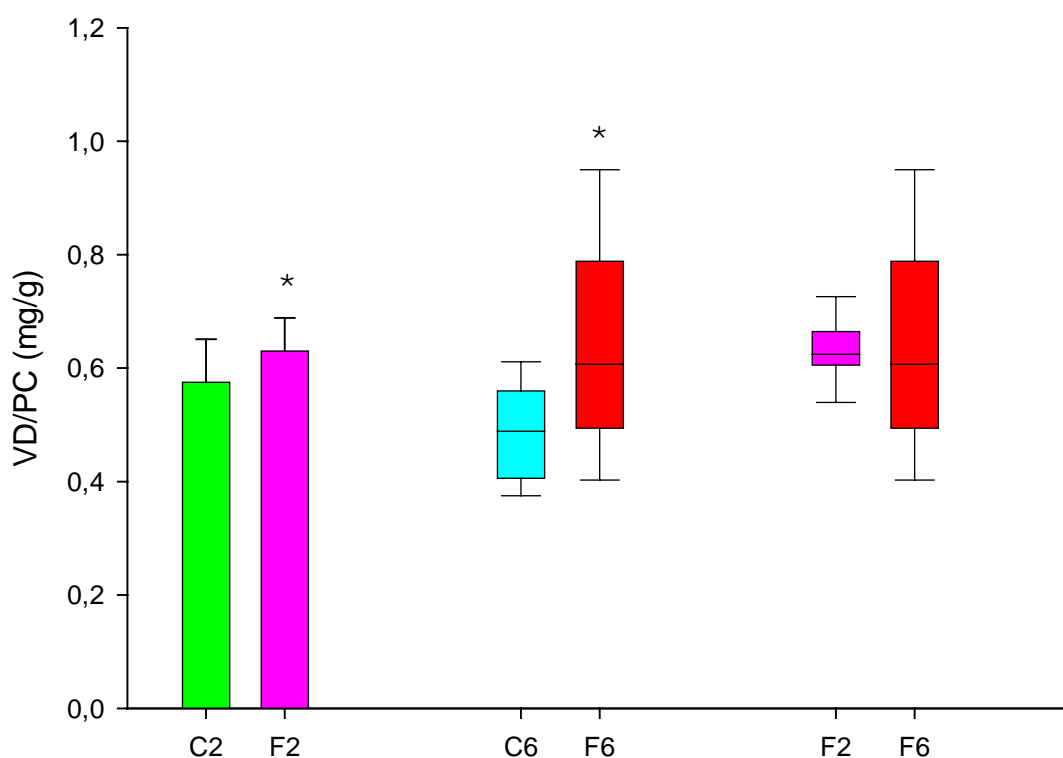


Figura 17- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm desvio padrão da análise do teste *t* de *Student*, do ventrículo direito normalizado pelo peso do corpo dos ratos, do grupo Controle dois meses e grupo Fumante dois meses. Na forma de caixas, com mediana e amplitude entre quartílica da análise do teste *U* de *Mann-Whitney*, para o grupo Controle seis meses, Fumante seis meses, Fumante dois meses e grupo Fumante seis meses.

* $p < 0,05$, efeito da EFC

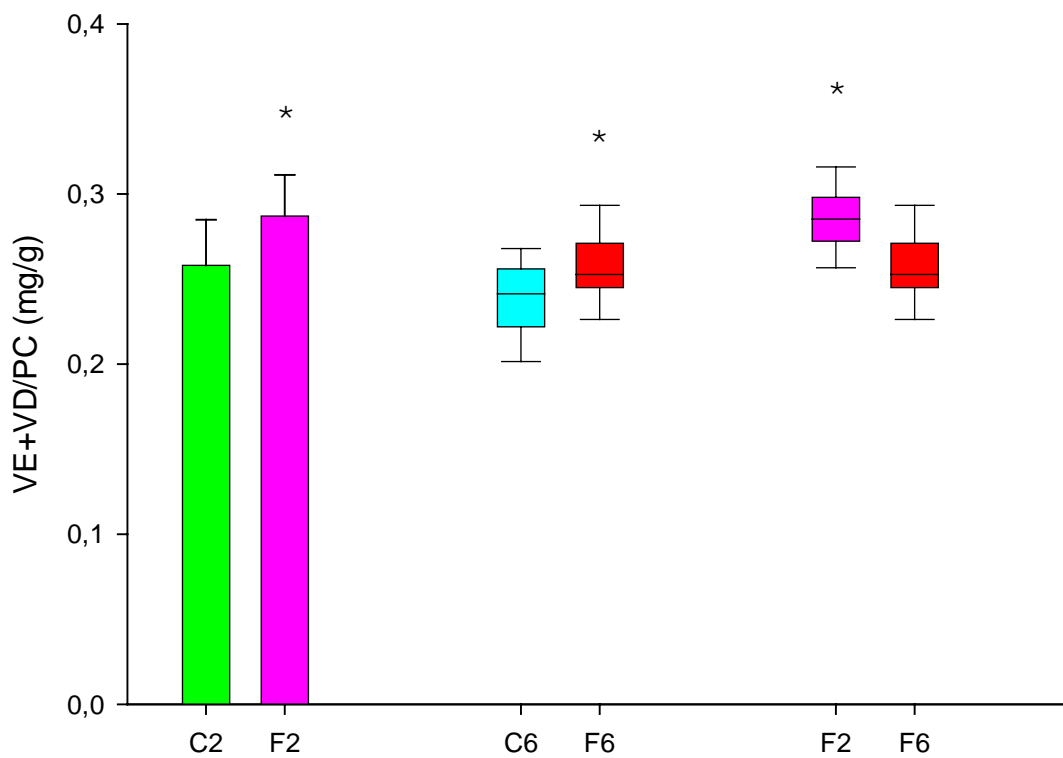


Figura 18- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm desvio padrão da análise do teste *t* de *Student*, do peso do ventrículo esquerdo somado com peso do ventrículo direito normalizado pelo peso do corpo dos ratos, do grupo Controle dois meses e grupo Fumante dois meses. Na forma de caixas, com mediana e amplitude entre quartílica da análise do teste *U* de *Mann-Whitney*, para o grupo Controle seis meses, Fumante seis meses, Fumante dois meses e grupo Fumante seis meses.

* $p < 0,05$, efeito da EFC e do tempo

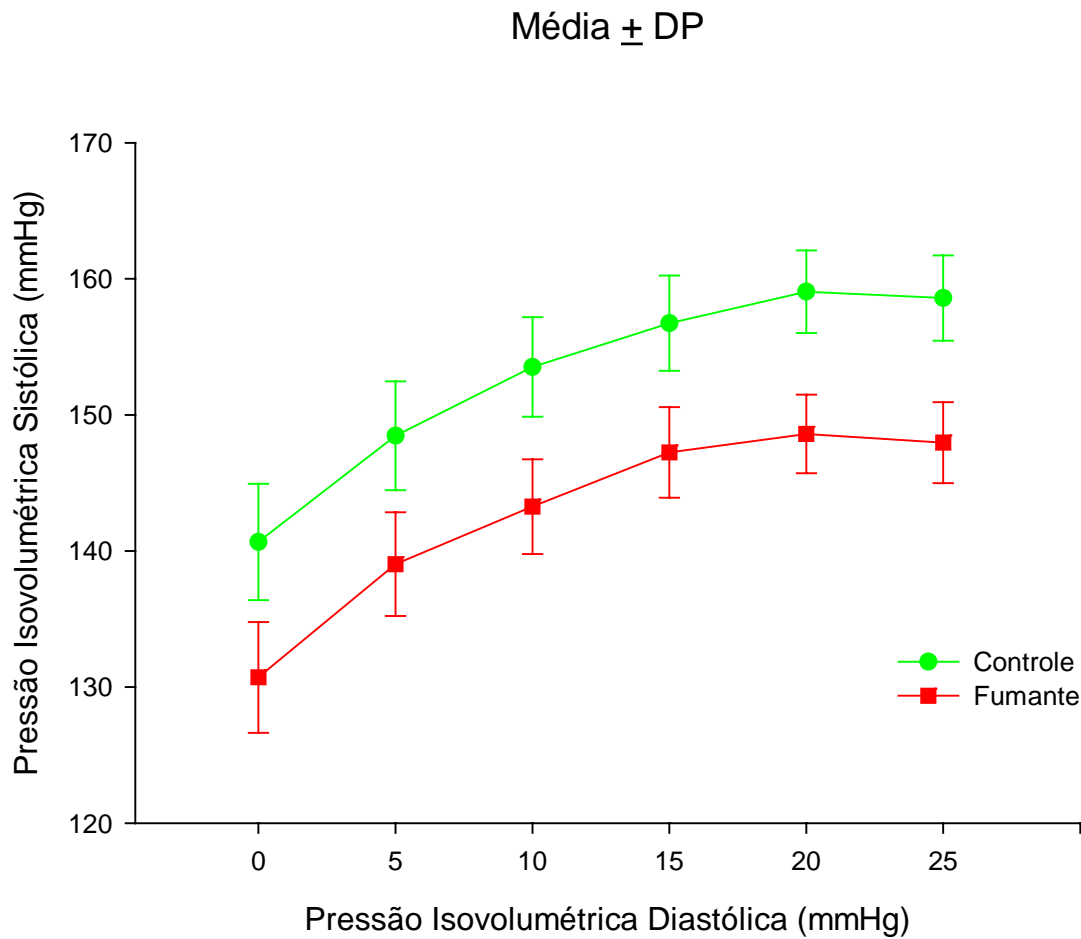


Figura 19- Representação gráfica, na forma de curvas, do estudo funcional, da pressão sistólica, utilizada como parâmetro de contratilidade, do grupo Controle e grupo Fumante.

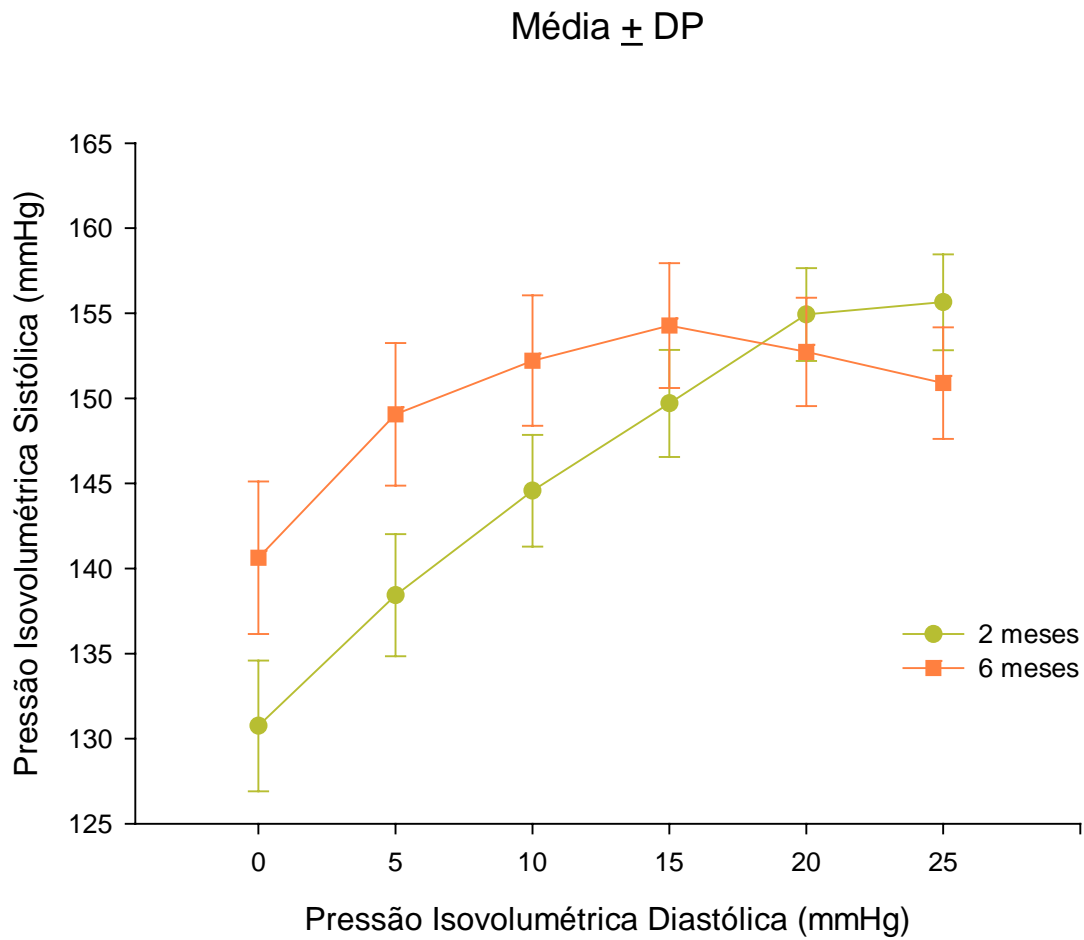


Figura 20- Representação gráfica, na forma de curvas, do estudo funcional, da pressão sistólica, utilizada como parâmetro de contratilidade, do grupo dois meses e grupo seis meses.

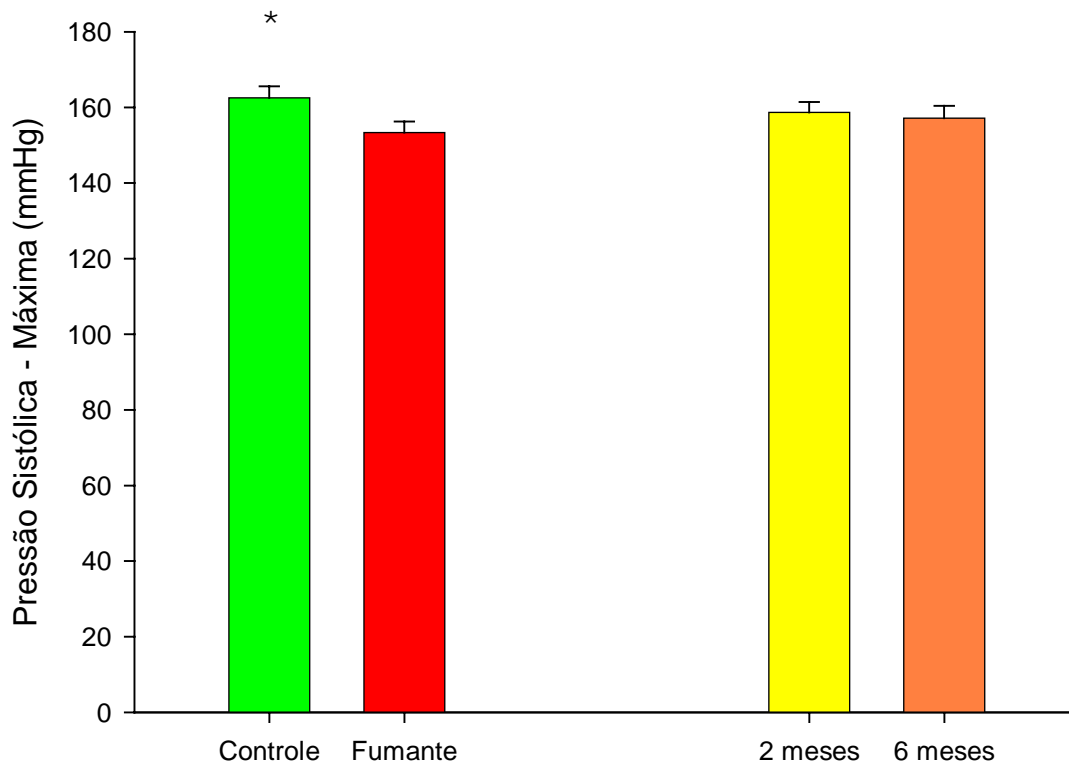


Figura 21- Representação gráfica, na forma de barras, com média \pm erro padrão, da pressão sistólica máxima, utilizada como parâmetro de contratilidade, do grupo Controle, grupo Fumante, grupo dois meses e grupo seis meses da análise do teste de variância - ANOVA de duas vias.

* $p < 0,05$, efeito da EFC

6. DISCUSSÃO

6.1. Os Métodos Utilizados

6.1.1. Dieta

Em estudo realizado por Okoshi et al. (2001), ratos submetidos à desnutrição energético-protéica por 90 dias, apresentaram lesões ultra-estruturais no miocárdio, acarretando alterações funcionais nos corações. Resultado similar, também, foi observado por Sugisaki et al. (2005).

Assim, a oferta de ração para os ratos do grupo controle foi cuidadosamente controlada. Considerando-se, ainda, que os ratos expostos à fumaça de cigarro podem ingerir quantidades inferiores de ração, pelo fato do fumo ser inibidor de apetite, o grupo fumante foi utilizado como referencial na ingestão de ração para o presente estudo. Desse modo, a oferta de ração para os ratos do grupo controle foi de forma que todos os animais ingerissem a mesma quantidade de ração.

6.1.2. Evolução do Peso Corporal

Os ratos foram pesados semanalmente e os dados passados para uma planilha eletrônica (*Excel*). Assim, pôde-se acompanhar o desenvolvimento dos animais. Dessa forma, seria possível detectar qualquer irregularidade entre os grupos, como, por exemplo, disputas pelo alimento ou a presença de doenças em algum dos animais. Entretanto,

durante o período experimental, não houve nenhuma intercorrência entre os animais do estudo.

6.1.3. Manipulação dos Animais

O efeito do estresse causado aos animais foi minimizado pelas seguintes medidas: manejo, coleta de sangue e aferição da pressão arterial foram realizados no mesmo dia e de forma consecutiva, imediatamente após a aferição da pressão arterial foi feita a coleta de sangue.

Com o intuito de permitir aos animais a recuperação plena do estresse causado pela realização desses procedimentos, por ocasião da eutanásia a aferição da pressão arterial e a coleta de sangue foram realizadas com um mês e aos cinco meses de exposição à fumaça de cigarro, tendo assim, mais um mês para sua recuperação antes de suas respectivas eutanásia.

Pelo mesmo motivo, os ratos não foram expostos à fumaça de cigarro antes dos estudos funcionais.

6.1.4. Hemogasimetria

A hemogasimetria possibilitou mostrar que não ocorreu hipoxemia crônica nos animais expostos à fumaça de cigarro, pois, pressão de oxigênio, pressão de dióxido de carbono e saturação de oxigênio não diferiram significativamente entre os grupos. Entretanto, encontramos concentrações de COHb estatisticamente mais elevadas no grupo fumante

em comparação com o grupo controle, mostrando, assim, que os ratos do grupo fumante foram realmente expostos à fumaça de cigarro.

6.1.5. Ecocardiograma

O ecocardiograma é método de imagem não invasivo que permite a obtenção de informações sobre estrutura e função cardíacas. Atualmente, este método é largamente aplicado em ratos submetidos aos mais variados modelos experimentais de agressão cardíaca (Okoshi et al., 2004; Sugisaki et al., 2005; Zornoff et al., 2006). Portanto, torna-se possível a avaliação cardíaca, *in vivo*, em condições muito próximas às fisiológicas. Porém, deve-se ressaltar que os índices de função sistólica do VE, obtidos por esse método, refletem simplesmente a capacidade ventricular de ejetar. A ejeção depende da contratilidade miocárdica, das condições de carga em que opera o ventrículo e da frequência cardíaca que, por sua vez, sofrem influência do sistema neurohumoral (Opie, 1998).

Para a realização adequada do ecocardiograma em ratos, é necessário que o animal permaneça completamente imóvel e respirando espontaneamente durante o procedimento. No presente estudo, os animais foram anestesiados com associação de cloridrato de cetamina e cloridrato de xilidino por via intramuscular (Litwin et al., 1994 e 1995). Na dose utilizada, essa associação possibilitou anestesia leve, de início rápido e duração de cerca de 20 a 30 minutos (Flecknell, 1996) e, portanto, apropriada para o estudo ecocardiográfico. Uma vez que todos os ratos

receberam a mesma associação de drogas, portanto, assumimos que, no caso de haver alguma influência nos resultados, esta foi semelhante em todos os grupos experimentais (C2, F2, C6 e F6).

Do ponto de vista técnico, não houve dificuldade na obtenção dos traçados ecocardiográficos e nenhum animal precisou ser descartado pela impossibilidade do exame.

6.1.6. Método do Coração Isolado

Entre os diversos métodos disponíveis para o estudo do desempenho mecânico do coração, destacam-se as preparações de coração isolado, pela facilidade de manuseio. A mais divulgada das técnicas foi desenvolvida por Langendorff, em 1895, que consiste na perfusão coronariana retrógrada, com solução nutriente ou sangue, por meio de uma cânula inserida na aorta ascendente.

A técnica de Langendorff pode ser aplicada à várias espécies de animais como: cão, gato, rato e coelho. A escolha de uma ou outra espécie freqüentemente é empírica e baseia-se na tentativa de reproduzir condições fisiológicas apropriadas e na experiência dos pesquisadores.

É preciso considerar que nesse tipo de preparação pode ocorrer edema miocárdico, com conseqüente deterioração da função ventricular (Tabayshi et al., 1991). O desenvolvimento ou não do edema do miocárdio depende, entre outros, de vários fatores como: pH e temperatura do líquido nutriente; oxigenação da solução; pressão de

perfusão coronariana e duração do experimento (Doring & Dehnert, 1988).

No presente estudo o líquido nutriente foi constituído de solução modificada de Krebs-Henseleit acrescida de manitol, na concentração de 8 mM, para diminuir o grau de edema de forma a assegurar melhor preservação miocárdica (Zornoff et al., 1995). Esta solução foi aquecida a 37 °C, tamponada em pH variando entre 7,3 e 7,4 e oxigenada com mistura gasosa de 95% de oxigênio e 5% de gás carbônico. A pressão de perfusão coronariana foi mantida em 75 mmHg durante a aplicação do protocolo experimental para estudo da função cardíaca. Esse valor de pressão de perfusão vem sendo utilizado há vários anos em nosso laboratório, com boa confiabilidade (Zornoff et al., 1995; Paiva et al., 2003).

A função ventricular foi avaliada submetendo o coração a aumento progressivo do volume de líquido de um balão colocado dentro da cavidade ventricular esquerda.

Permitiu-se tempo de estabilidade de, aproximadamente, cinco minutos, após a colocação do coração no aparelho de perfusão. O tempo total destinado à realização do estudo funcional foi de, no máximo, 20 minutos. Conforme Doring & Dehnert (1988), esse protocolo não causa deterioração por problemas relacionados com formação de edema e com hipóxia prolongada. Tomando esses cuidados acreditou-se que, na preparação utilizada no presente estudo, não houve edema suficiente para

prejudicar a função cardíaca. Por outro lado, se o edema ocorreu, assumi-se que sua influência foi semelhante nos quatro grupos estudados.

A frequência cardíaca é outro parâmetro que deve ser controlado nesse tipo de avaliação funcional. Na literatura é descrita a relação entre frequência de contração e força desenvolvida pelo músculo cardíaco (Woodworth, 1902). Essa relação, conhecida como efeito Bowditch, estabelece-se ao nível da membrana celular miocárdica, de forma que com o aumento da frequência de estimulação, há maior entrada de íons sódio para o meio intracelular, o que contribui para a elevação da concentração de cálcio intracelular e conseqüente aumento da contratilidade (Vatner & Braunwald, 1975). Por esse motivo, optou-se por estabelecer controle da frequência cardíaca dos animais por meio da retirada de parte da musculatura atrial direita e implantação de marcapasso artificial de forma a manter a frequência cardíaca de 180 a 200 bpm.

6.2. Discussão do Estudo

O objetivo desse estudo foi analisar a influência do tempo de exposição à fumaça de cigarro na remodelação ventricular em ratos. Os resultados mostraram que a EFC, durante período de dois ou seis meses, resultou em hipertrofia do miocárdio com diminuição da capacidade funcional ventricular. Desse modo, os efeitos cardíacos diretos, freqüentemente negligenciados, podem promover dano suplementar aos fumantes agredidos pela fumaça inalada. Esse efeito seria adicional aos

efeitos bem conhecidos no endotélio vascular e pulmões, entre outros (Klein et al., 1983; Maouad et al., 1984; Zhu & Parmley, 1995; Hays et al., 1998).

Um dos achados importantes no presente estudo foi que a EFC resultou em aumento da massa tanto do VE, como do VD, bem como do DDVE. Alterações da geometria, volume, massa e constituição do coração em resposta à agressão miocárdica têm sido estudadas com o nome de remodelação cardíaca (Pfeffer et al., 1985; Pfeffer & Braunwald, 1990; Cohn et al., 2000). Apesar de não termos estudados todas as variáveis envolvidas nesse processo, como por exemplo, constituição celular, estrutura tecidual e matriz intersticial, nossos resultados identificaram alterações morfológicas que caracterizam a remodelação ventricular esquerda. Está bem estabelecido que a hipertrofia corresponde a importante aspecto da remodelação. O realinhamento dos miócitos pode levar a padrão excêntrico ou concêntrico de crescimento celular, dependendo do estímulo para o processo hipertrófico. Sobrecargas de pressão resultam no desenvolvimento de hipertrofia concêntrica, caracterizadas por aumento da espessura da parede ventricular, em consequência da replicação dos sarcômeros em paralelo. Assim, há diminuição da relação entre o volume da cavidade e a espessura da parede. De outra maneira, sobrecargas de volume resultam na replicação em série dos sarcômeros, caracterizando a hipertrofia ventricular do tipo excêntrica. Podemos identificar esse fenômeno pelo encontro da relação aumentada entre volume da cavidade e espessura da parede (Carabello et

al., 1992). Embora tenhamos encontrado DDVE/PC aumentado no grupo fumante, não foi observado aumento na relação entre DDVE e a espessura de parede posterior do VE (DDVE/EPP). Desse modo, podemos concluir que a exposição à fumaça de cigarro induziu o crescimento celular, porém, com manutenção da geometria do coração.

Uma das características mais marcantes da remodelação cardíaca é que esse processo resulta, invariavelmente, em queda progressiva da função ventricular. Inicialmente, em consequência do crescimento celular, a remodelação pode contribuir para manter ou restaurar a função cardíaca. Cronicamente, entretanto, ocorrem alterações bioquímicas, genéticas e estruturais que vão resultar em disfunção ventricular progressiva (Pfeffer et al., 1985; Pfeffer & Braunwald, 1990; Cohn et al., 2000). Em consonância com esse conceito, em nosso estudo, nos ratos EFC, o processo de remodelação foi acompanhado por queda significativa da função sistólica, avaliada pela queda da pressão isovolumétrica sistólica, pressão isovolumétrica sistólica máxima e, conseqüentemente, da pressão isovolumétrica desenvolvida.

A preparação do coração isolado possibilitou análise direta da função miocárdica excluindo as influências dos efeitos indiretos da EFC no coração (carga hemodinâmica e variações na frequência cardíaca). Os dados da pressão isovolumétrica sistólica indicaram decréscimo na capacidade de desenvolver força no grupo fumante. Assim, os dados morfométricos e funcionais indicam que a EFC está associado com remodelação ventricular. O nosso estudo não mostrou alterações na

função diastólica, pelo menos as variáveis avaliadas pelo fluxo transmitral e pela $-dp/dt$.

Outro aspecto relevante de nosso estudo foi que, apesar da disfunção do ventrículo esquerdo, não conseguimos identificar edema tecidual ventricular esquerdo ou hepático nos animais expostos à fumaça do cigarro, sugerindo ausência de fenômeno congestivo. Isso ocorre porque a remodelação é um processo evolutivo. Inicialmente, temos a agressão ao coração (estágio A). Com o passar do tempo, identificamos alterações estruturais, sem qualquer alteração funcional (estágio B). Conforme o processo progride, aparece a disfunção ventricular assintomática, sem sinais/sintomas congestivos ou de baixa pressão de perfusão (Jessup & Brozena, 2003). Os sinais/sintomas congestivos aparecem apenas nas fases mais avançadas (estágio C) da remodelação. Assim, acreditamos que a ausência de maior teor de água nos órgãos dos animais fumantes sugere processo patológico que ainda não se encontra em seu estágio mais avançado. Porém, foi obtido alto valor da relação peso úmido ajustado pelo peso seco no VD, para os ratos EFC por seis meses, indicando, assim, início de retenção hídrica tecidual ao final do período experimental.

Em nosso laboratório, os efeitos da exposição à fumaça de cigarro sobre as variáveis cardíacas em corações normais de ratos foram avaliados em quatro estudos. Primeiramente (Paiva et al., 2003), ratos Wistar foram alocados em dois grupos, grupo controle e grupo exposto à fumaça de cigarro. Ao final de um mês, os animais foram submetidos ao

estudo ecocardiográfico e, após sofrerem eutanásia, foi realizado estudo do músculo papilar para avaliação da função mecânica do coração e estudo das variáveis corpóreas, entre elas os pesos das câmaras cardíacas. Nesse primeiro estudo foi observada redução da função sistólica nos animais submetidos à exposição à fumaça de cigarro, avaliada por meio de variáveis ecocardiográficas: diminuição da fração de ejeção e da fração de encurtamento sistólico. Em adição, foi verificada diferença estatística no DSVE. Não houve diferença nas outras variáveis ecocardiográficas estudadas.

Em relação ao estudo funcional por meio da avaliação do músculo papilar, não foram encontradas diferenças entre os grupos. A principal característica desse método é que ele avalia a função miocárdica sem interferência de fatores externos, como a frequência cardíaca e a pré e pós-carga. Desse modo, podemos concluir que não houve alteração nas propriedades mecânicas intrínsecas do miocárdio. Por outro lado, no estudo ecocardiográfico, observamos aumento do diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo no grupo fumante, acompanhado por menor fração de ejeção e encurtamento sistólico. Esses dados sugerem que apesar da preservação da função muscular, os ratos expostos à fumaça do cigarro têm diminuição da função sistólica da câmara ventricular. Uma das explicações prováveis para este fato diz respeito à estimulação adrenérgica e a liberação de endotelina provocada pela nicotina, que podem causar retenção de sódio e água. Em consequência, haveria alteração nas condições de carga a que o coração é submetido.

Entretanto, neste estudo não houve diferença entre os grupos quanto ao peso corporal dos animais e na relação peso seco e peso úmido dos diferentes órgãos estudados (coração, pulmão e fígado). Assim, acreditamos que a retenção de sódio e água não teve influência em nossos resultados. Outra explicação possível diz respeito à vasoconstrição relacionada ao tabagismo. A administração de nicotina em ratos conscientes resultou em vasoconstrição. Na tentativa de explicar esse achado, a simpactomia aboliu os efeitos vasoativos da nicotina (Marano et al., 1999). No mesmo modelo, à fumaça de cigarro causou elevação dos níveis de endotelina 1 (Haak et al., 1994) e a administração de antagonista seletivo dos receptores A da endotelina atenuaram a resposta pressórica induzida pela nicotina (Tanus-Santos et al., 2000). Em outro estudo, a administração de nicotina diminuiu a síntese de prostaciclina pelo endotélio vascular (Klein, 1984). Outro fato que pode contribuir para os efeitos vasculares da EFC é a vasopressina, já que a administração de antagonista da vasopressina atenuou a vasoconstrição induzida pela nicotina nos vasos sanguíneos da pele (Khosla et al., 1994). Dessa forma, existem diversas evidências indicando que a EFC induz vasoconstrição, em consequência de desequilíbrio neuro-humoral.

Portanto, embora a contratilidade permaneça inalterada, a depressão da função ventricular esquerda poderia resultar das alterações no tônus vascular, com consequente aumento da pós-carga.

Novo estudo foi, então, realizado com delineamento semelhante, com o objetivo de avaliar se esse efeito nas variáveis cardíacas se

mantinha após a exposição crônica à fumaça do cigarro por quatro meses (Castardeli et al., 2005). Neste estudo, ao analisarmos as variáveis corporais, observamos menor relação entre o peso úmido e peso seco do VE nos ratos fumantes, em relação aos animais controle. Não houve diferença quanto às outras variáveis corporais estudadas (peso corporal, peso do VE, peso do VD, peso VE ajustado ao peso corporal, peso do VD ajustado ao peso corporal, relação entre peso seco e úmido do VD, relação entre peso úmido e seco do fígado). No estudo ecocardiográfico, encontramos aumento do átrio esquerdo, aumento nos diâmetros ventriculares sistólicos e diastólicos nos ratos fumantes, mesmo após ajuste para o peso corporal. Novamente, foi observado que a fração de ejeção e fração de encurtamento sistólico foram maiores no grupo controle. Em relação à avaliação da função diastólica, não houve diferença na onda E, onda A e na relação E/A entre os dois grupos. Dessa forma, após a exposição prolongada à fumaça do cigarro quatro meses, observamos alterações morfológicas e funcionais no coração, comprovando os efeitos deletérios do fumo já demonstrados com a exposição por um mês. Nesse estudo, dado interessante foi que os níveis pressóricos foram avaliados e o grupo exposto à fumaça de cigarro apresentou, após três meses de exposição, aumento da pressão sistólica caudal, em relação ao grupo controle ($F=118\pm 15\text{mmHg}$, $C=103\pm 16\text{mmHg}$; $p<0,05$). Considerando os mecanismos pelos quais a exposição à fumaça de cigarro resulta em alterações morfológicas e funcionais cardíacas, nosso estudo não observou alterações no PO_2 e na

porcentagem de saturação da hemoglobina. Assim, hipoxemia crônica e alterações na viscosidade sanguínea secundária a hipóxia provavelmente não tiveram participação na fisiopatologia das alterações induzidas pelo cigarro. Outra possibilidade seria a participação de fatores hemodinâmicos, particularmente a vasoconstrição arterial. Esse fenômeno poderia ser resultado de substâncias (catecolaminas, endotelina, vasopressina, entre outros) liberadas pelo estresse dos animais em consequência da inalação da fumaça de cigarro. Além de alterações hemodinâmicas, a ativação neurohormonal poderia, por mecanismos autócrinos ou endócrinos, resultar em alterações em vias sinalizadoras intracelulares. Nosso estudo encontrou diferenças na pressão arterial entre os grupos. Assim, apesar dos níveis pressóricos não serem tão altos como em outros modelos, nossos dados sugerem que a ativação de fatores neurohormonais pode, pelo menos em parte, explicar as alterações morfológicas e funcionais encontradas nesse trabalho.

Um outro potencial mecanismo proposto para a remodelação ventricular induzida pelo fumo diz respeito ao estresse oxidativo, já que este tem participação na disfunção endotelial, e também, no envolvimento molecular que controla a inflamação e pode induzir alterações funcionais e estruturais nos miócitos. Assim, para testar a hipótese da modulação do estresse oxidativo, analisamos, em outro trabalho (Zornoff et al., 2005), o efeito da exposição à fumaça do cigarro por um mês em combinação com suplementação com beta-caroteno, que apresenta ação antioxidante. Os animais submetidos à exposição à fumaça do cigarro (F) apresentaram

menor débito cardíaco, maior diâmetro ventricular diastólico esquerdo e maior peso do átrio e do ventrículo esquerdo comparado ao controle (C). Com a suplementação de beta-caroteno nos animais submetidos à exposição à fumaça do cigarro (BC+F), ocorreu atenuação dos valores das variáveis: peso do VE, VD e átrio, corrigidas pelo peso corporal. As alterações ultra-estruturais foram avaliadas por meio da microscopia eletrônica. Nos animais fumantes foram encontradas as seguintes alterações: desorganização ou ausência de miofilamentos, irregularidades na membrana plasmática, dilatação do retículo sarcoplasmático, mitocôndrias polimórficas, edemaciadas e com diminuição de cristas. Entretanto, no grupo BC+F, a maioria das fibras apresentavam aspectos morfológicos normais, indicando que a suplementação com beta-caroteno atenuou as alterações morfológicas e ultra-estruturais induzidas pela fumaça do cigarro. Em relação às variáveis do estresse oxidativo, os animais fumantes apresentaram níveis elevados de lipoperóxidos no fígado, em relação aos animais controle. Em contraste, nos animais BC+F, os níveis de lipoperóxidos não foram diferentes dos animais controle. Portanto, o mecanismo pelo qual o beta-caroteno atenuou o processo de remodelação induzida pelo fumo não está completamente elucidado, mas poderia estar relacionado com seu efeito em reduzir o estresse oxidativo do miocárdio.

Alguns estudos clínicos, também, analisaram os efeitos cardíacos do tabagismo. Assim, a inalação aguda da fumaça de cigarro foi acompanhada por distúrbios da função diastólica, em pacientes com

documentada doença arterial coronariana (Kyriakides et al., 1992; Stork et al., 1992). No estudo observacional CARDIA, fumantes tiveram maior massa ventricular esquerda em comparação com não fumantes, avaliados por ecocardiograma (Gidding et al., 1995). Então, o conjunto dos dados disponíveis sugere que o tabagismo pode induzir alterações no coração.

Um dado interessante de nosso trabalho refere-se ao fato de que as alterações morfológicas e funcionais cardíacas, em resultado da exposição à fumaça de cigarro, ocorreram independentemente do tempo de exposição. Apesar de aparentemente surpreendentes, esses resultados vão ao encontro de dados observados em modelos experimentais e clínicos, que não encontraram relação entre o número de cigarros fumados e os efeitos cardiovasculares. Por exemplo, em recente estudo clínico, fumantes pesados apresentaram a mesma diminuição na síntese de óxido nítrico e o mesmo grau de disfunção endotelial que fumantes leves (Bsrua et al., 2002). Portanto, esses dados sugerem que os processos bioquímicos e celulares envolvidos na modulação dos efeitos da exposição à fumaça de cigarro podem tornar-se saturados com pequena exposição (Ambrose et al., 2004). Esse fenômeno explicaria a relação dose-dependente não linear dos efeitos cardiovasculares do tabagismo.

Em conclusão, apesar dos mecanismos pelos quais a EFC produz efeitos cardíacos adversos não estarem totalmente esclarecidos, o presente estudo mostrou que a EFC resultou em remodelação ventricular cardíaca com diminuição da capacidade funcional ventricular, independente do tempo de exposição (dois ou seis meses).

7. Conclusões

O conjunto de nossos dados permite as seguintes conclusões:

1. A exposição crônica à fumaça de cigarro, durante os períodos de dois e seis meses, resultou em remodelação ventricular.
2. O processo de remodelação ventricular foi associado com diminuição da capacidade funcional ventricular.
3. Nesse modelo experimental, as alterações miocárdicas ocorreram precocemente e não se intensificaram com o tempo de exposição à fumaça de cigarro.

8. REFERÊNCIAS*

Ambrose JA, Barua Rs. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43(10): 1731-7.

Aronow WS, Dendinger J, Rokaw SN. Heart rate and carbon monoxide level after smoking hight, low non nicotine cigarette. *Ann Inst Med* 1971; 74:697-702.

Aurerbach O, Carter HW, Garfinkell F, Hammond EC. Cigarette smoking and coronary artery disease. A macroscopy and microscopy study. *Chest* 1976; 70:697-705.

Baldi A, Abbate A, Bussani R, Patti G, Melfi R, Angelini A, et al. Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34:165-74.

Barros RA, Okoshi MP, Cicogna AC. Via beta-adrenérgica em corações normais e hipertrofiados. *Arq Bras Cardiol* 1999; 72:641-8.

Bennett MR. Apoptosis in the cardiovascular system. *Heart* 2002; 87:480-7.

Bertolami MC. A conexão entre as lipoproteínas e a aterosclerose. *Rev Soc Cardiol Estado São Paulo* 2000; 6:694-9.

Brooks WW, Ekblom B, Bing OH. Comparative response of 2-week and 6-month old rat myocardium to hypoxia. *J Dev Physiol* 1985; 7(4):229-40.

Brooks WW, Ingwall JS, Conrad CH, Holubarsch C, Bing OH. Tolerance to hypoxia of myocardium from adult and aged spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 1987; 252(6 Pt 2):H1096-104.

Brooks WW, Bing OH, Boluyt MO, Malhotra A, Morgan JP, Satoh N, et al. Altered inotropic responsiveness and gene expression of hypertrophied myocardium with captopril. *Hypertension* 2000; 35(6):1203-9.

Brooks WW, Bing OH, Gaasch WH, Karlinsky JB, Goldstein RH, Conrad CH. Comparison of contractile function of diaphragm and cardiac muscle in response to paired electrical stimulation.

* Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniformes para originais submetidos a revistas biomédicas. *Ann Intern Med* 1997; 126:36-47.

National Library of Medicine. List of journals indexed in Index Medicus. Washington, 2003. 240p.

Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 2002; 133(1):53-62.

Brower GL, Henegar JR, Janicki JS. Temporal evaluation of left ventricular remodeling and function in rats with chronic volume overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996; 40:H2071-8.

Bsrua RS, Ambrose JÁ, Eales-Reymonds LJ, DeVoc MC, Zervas JG, Saha DC. Heavy and light cigarette smokers have similar dysfunction of endothelial vasoregulatory activity: an in vivo and in vitro correlation. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1758-63.

Castardeli E, Paiva SAR, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS, et al. A exposição crônica à fumaça do cigarro resulta em remodelação cardíaca e prejuízo da função ventricular em ratos. *Arq Bras Cardiol* 2005; 84:320-4.

Carabello BA, Zile MR, Tanaka R, Cooper G. Left ventricular hypertrophy due to volume overload versus pressure overload. *Am J Physiol* 1992; 263: H1137-H44.

Cicogna AC, Okoshi MP, Okoshi K. História natural da remodelação miocárdica: da agressão aos sintomas. *Rev Soc Cardiol Estado São Paulo* 2000; 1:6-16.

Cleutjens JPM. The role of matrix metalloproteinases in heart disease. *Cardiovasc Res* 1996; 32: 816-21.

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: A consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 569-82.

Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipoprotein concentrations: and analys of published data. *Br Med J* 1989; 298:784-8.

Doring HJ, Dehnert H. The isolated warm-blooded heart according to Langendorff. In: Doring C, editor. *Methods in experimental physiology and pharmacology*. German: Biological measurement techniques; 1988.

Doll R, Peto R, Wheathey R, Gray R, Sutherland I. Mortality in relation to smoking: 40 years observation on male British doctors. *Br Med J* 1994; 309:901-11.

Dube M, Green CR. Methods of collection of smoke for analytical purpose. *Recent Adv Tobacco Sci* 1982; 2:42.

Flecknell PA. Anaesthesia of common laboratory species. In: Flecknell PA, editor. *Laboratory animal anaesthesia*. 2nd ed. London: Academic Press; 1996. p. 159-223.

Gaudron P, Kugler L, Hu K, Bauer W, Eilles C, Erti G. Time course of cardiac structural, functional and electrical changes in asymptomatic patients after myocardial infarction: their inter-relation and prognostic impact. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:33-40.

Gidding SS, Xie X, Liu K, Manolio T, Flack JM, Gardin JM. Cardiac function in smokers and nonsmokers: the CARDIA study. The Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26:211-6.

Green CR, Rodgmana. The tobacco chemist research for conference a half-century forum for advances analytical methodology of tobacco and produs. *Recent Adv Tobacco Sci* 1996; 22:131.

Greenspan K, Edmands RE, Knoebel SB, Fish C. Some effects of nicotine on cardiac automaticity, conduction, and inotropy. *Arch Intern Med* 1969; 707-12.

Haak T, Jungmann E, Raab C, Usadel KH. Elevated endothelin-1 levels after cigarette smoking. *Metabolism* 1994; 43: 267-9.

Hasenfus G, Meyer M, Schillinger W, Preus M, Pieske B, Just H. Calcium handling proteins in the failing human heart. *Basic Res Cardiol* 1997; 92:87-93.

Hays JT, Dale LC, Hurt RD, Croghan IT. Trends in smoking-related diseases: why smoking cessation is still the best medicine. *Postgrad Med* 1998; 104: 56-66.

Hein S, Kostin S, Heling A, Maeno Y, Schaper J. The role of the cytoskeleton in the heart failure. *Cardiovasc Res* 2000; 45:273-8.

Houdi AA, Dowell RT, Diana JN. Cardiovascular responses to cigarette smoke exposure in restrained conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275(2):646-53.

Howard G, Wagenknecht LE, Burke GL, Diez-Roux A, Evans GW, McGovern P, et al. Tabagismo e progressão da aterosclerose. *J Am Med Assoc Br* 1998; 279:119-24.

Iwanaga Y, Aoyama T, Kihara Y, Onozawa Y, Yoneda T, Sasayama S. Excessive activation of matrix metalloproteinases coincides with left ventricular remodeling during transition from hypertrophy to heart failure in hypertensive rats. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39:1384-91.

Jessup M, Brozena S. Heart failure. *N Engl J Med* 2003; 348: 2007-18.

Khosla S, Laddu A, Ehrenpreis S, Somberg JC. Cardiovascular effects of nicotine: relation to deleterious effects of cigarette smoking. *Am Heart J* 1994; 127: 1669-72.

Klein LW, Pichard AD, Holt J, Smith H, Gorlin R, Teichholtz LE. Effects of chronic tobacco smoking on coronary circulation. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1: 421-6.

Klein LW. Cigarette smoking, atherosclerosis and the coronary hemodynamic response: a unifying hypothesis. *J Am Coll Cardiol* 1984; 4: 972-4.

Kyriakides ZS, Kremastinos DT, Rentoukas E, Mavrogheni S, Kremastinos DI, Toutouzas P. Acute effects of cigarette smoking on left ventricular diastolic function. *Eur Heart J* 1992; 13: 743-8.

Litwin S, Katz S, Morgan J, Douglas P. Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. *Circulation* 1994; 89: 345-54.

Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial echocardiographic-doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy: chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation* 1995; 91: 2642-54.

Loennechen JP, Beisvag V, Arbo I, Waldum HL, Sandvik AK, Knardah S, et al. Chronic carbon monoxide exposure in vivo induces myocardial endothelin-1 expression and hypertrophy in rat. *Pharmacol Toxicol* 1999; 85: 192-7.

MacNee W. Oxidants/Antioxidants and COPD. *Chest* 2000; 117: 303-17.

Maouad J, Fernandez F, Barrillon A, Gerbaux A, Gay J. Diffuse or segmental narrowing (spasm) of the coronary arteries during smoking demonstrated on angiography. *Am J Cardiol* 1984; 53: 354-5.

Marano G, Ramirez A, Mori I, Ferrari AU. Sympathectomy inhibits the vasoactive effects of nicotine in conscious rats. *Cardiovasc Res* 1999; 42: 201-5.

Matsubara BB, Ferreira ALA, Matsubara LS. Aspectos anatomopatológicos da disfunção ventricular. *Rev Soc Cardiol Estado São Paulo* 2002; 3: 361-70.

Norton GR, Woodiwitss AJ, Gaasch WH, Mela T, Chung ES, Aurigemma GP, et al. Heart failure in pressure overload hypertrophy: the relative roles of ventricular remodeling and myocardial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39:664-71.

Okoshi MP, Okoshi K, Pai VD, Pai-Silva MD, Matsubara LS, Cicogna AC. Mechanical, biochemical, and morphological changes in the heart from chronic food-restricted rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2001; 79(9):754-60.

Okoshi K, Fioretto JR, Bonato RC, Tornero MTT, Tucci PJF. Influence of the elevation of the left ventricular diastolic pressure on the first temporal derivative of the ventricular pressure (dP/dt). *Arq Bras Cardiol* 1999; 73:42-6.

Okoshi K, Fioretto JR, Okoshi MP, Cicogna AC, Aragon FF, Matsubara LS, et al. Food restriction induces in vivo ventricular dysfunction in spontaneously hypertensive rats without impairment of in vitro myocardial contractility. *Braz J Med Biol Res* 2004; 37(4):607-13.

Opie LH. Myocardial contraction and relaxation. In: Opie LH, editor. *The heart physiology, from cell to circulation*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998. p. 209-31.

Paiva SAR, Zornoff LAM, Okoshi MP, Okoshi K, Cicogna AC, Campana AO. Comportamento de variáveis cardíacas em animais expostos à fumaça de cigarro. *Arq Bras Cardiol* 2003; 81:221-4.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left-ventricle of the rat. *Circ Res* 1985; 57: 84-95.

Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial-infarction - experimental-observations and clinical implications. *Circulation* 1990; 81: 1161-72.

Ridker PM, Genest J, Libby P. Risk factors for atherosclerotic disease. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, editors. *Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine*. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 1010-39.

Simani AS, Inoue S, Hoggs JC. Penetration of the respiratory epithelium of guinea pigs following exposure to cigarette smoke. *Lab Invest* 1974; 31: 75-81.

Smith CJ, Fisher TH. Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001; 158: 257-67.

Spinale FG. Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart. *Circ Res* 2002; 90:520-30.

Stedman RL. The chemical composition of tobacco and tobacco smoke. *Chem Rev* 1968:153-207.

Stork T, Eichstadt H, Mockel M, Bortfeldt R, Muller R, Hochrein H. Changes of diastolic function induced by cigarette smoking: an echocardiographic study in patients with coronary artery disease. *Clin Cardiol* 1992; 15: 80-6.

Sugisaki MM, Pai-Silva MD, Carvalho RF, Padovani CR, Bruno A, Nascimento AF, et al. Exercise training increases myocardial inotropic response in food restricted rats. *Int J Cardiol* 2006; 112(12):191-201.

Sugisaki MM, Carvalho RF, Aragon FF, Padovani CR, Okoshi K, Okoshi MP, et al. Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to morphological damage in normotensive middle-aged rats. *J Biomed Sci* 2005; 12(4):641-9.

Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 1999; 79:215-62.

Tabayashi K, Mckeown PP, Miyamoto M, Luedke AE, Thomas R, Breazeale DG, et al. Diastolic mechanical properties of the left ventricle after global ischemia. *J Cardiovasc Surg* 1991; 32:250-8.

Tagawa H, Koide M, Sato H, Zile MR, Carabello BA, Cooper G. Cytoskeletal role in the transition from compensated to decompensated hypertrophy during adult canine left ventricular pressure overloading. *Circ Res* 1998; 82:741-61.

Tanus-Santos JE, Sampaio RC, Hyslop S, Franchini KG, Moreno Jr H. Endothelin ETA receptor antagonism attenuates the pressor effects of nicotine in rats. *Eur J Pharmacol* 2000; 396:33-7.

Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato EF, Shindo M, Inoue M. Smoking a single cigarette rapidly reduces combined concentrations of nitrate and nitrite and concentrations of antioxidants in plasma. *Circulation* 2002; 105:1155-7.

U. S. Department of Health and Human Service. The health consequences of smoking, Cardiovascular disease: a report of the Surgeon General. Washington; 1983.

Vatner SF, Braunwald E. Cardiovascular control mechanisms in the conscious state. *N Engl J Med* 1975; 239:970-6.

Villarreal FJ, Hong D, Omens J. Nicotine-modified postinfarction left ventricular remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999; 276: H1103-H6.

Wang X-D, Liu C, Bronson RT, Smith DE, Krinsky NI, Russel RM. Retinoid signaling and activator protein-1 expression in ferrets given β -carotene supplements and exposure to tobacco smoke. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 60-6.

Weber KT, Sun Y, Guntaka RV. Rebuilding and remodeling following myocardial infarction: the good, the bad, and the ugly of tissue repair. *Dial Cardiovasc Med* 1999; 4:3-19.

Weber KT. Cardioreparation in hypertensive heart disease. *Hypertension* 2001; 38(suppl 3):588-91.

Woodworth RS. Maximal contraction, "staircase" contraction, refractory period and compensatory pause of the heart. *Am J Physiol* 1902; 8:213-49.

Zannad F, Dousset B, Alfa F. Treatment of congestive heart failure: interfering the aldosterone-cardiac extracellular matrix relationship. *Hypertension* 2001; 38:1227-32.

Zhu B-Q, Parmley WW. Hemodynamic and vascular effects of active and passive smoking. *Am Heart J* 1995; 130: 1270-5.

Zornoff LAM, Cicogna AC, Paiva SAR, Spadado J. Remodelamento e seu impacto na progressão da disfunção ventricular. *Rev Soc Cardiol Estado São Paulo* 2002; 3: 371-8.

Zornoff LAM, Paiva SAR, Tornero MTT, Carvalho MSS, Tucci PJF. Influência do acréscimo de manitol à solução nutriente no desempenho mecânico e no grau de edema miocárdico de corações isolados de ratos. *Arq Bras Cardiol* 1995; 64:225-9.

Zornoff LA, Matsubara LS, Matsubara BB, Okoshi MP, Okoshi K, Pai-Silva MD, et al. Beta-carotene supplementation attenuates cardiac remodeling induced by one-month tobacco-smoke exposure in rats. *Toxicol Sci* 2006; 90(1):259-66.

Zornoff LA, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS, Camapanha AO, et al. A exposição à fumaça de cigarro intensifica a remodelação ventricular após o infarto agudo do miocárdio. *Arq Bras Cardiol* 2006; 86:276-82.

Tabela 1 – Estudo funcional e estrutura ecocardiográfico

Grupos Variáveis	Controle 2 Meses	Fumante 2 Meses	Controle 6 Meses	Fumante 6 Meses
VSVE (mm)	1,50±1,08	1,44±1,04	2,57±0,15	2,58±0,14
FC (bpm)	299,63±34,17	303,83±41,26	282,62±35,43	267,83±51,97
DC (L/min)	0,06±0,01	0,05±0,01	0,07±0,01	0,07±0,02
VAo (cm/s)	78,27±12,03	84,23±9,27	86,70±13,02	86,92±10,93
Onda E (cm/s)	69,16±9,51	70,71±7,83	68,75±7,16	65,19±11,35
Onda A (cm/s)	43,97±9,39	43,86±11,00	48,84±14,92	41,24±12,31
Aorta (mm)	3,42±0,19	3,44±0,28	3,83±0,20	3,83±0,29
Átrio E (mm)	3,71±0,60	3,85±0,47	4,29±0,45	4,97±0,83
DDVE (mm)	6,91±0,52	7,25±0,65	8,05±0,48	7,92±0,58
DSVE (mm)	3,27±0,53	3,50±0,58	4,00±0,52	3,96±0,59
EPP (mm)	1,40±0,17	1,39±0,21	1,26±0,09	1,33±0,16
IC (l/min)	0,13±0,02	0,13±0,02	0,15±0,03	0,14±0,05
E/A	1,61±0,27	1,70±0,43	1,49±0,32	1,68±0,50
AE/Aorta	1,08±0,17	1,13±0,15	1,12±0,13	1,29±0,19
EPP/DDVE	0,20±0,03	0,19±0,04	0,16±0,01	0,17±0,03
DDVE/PC	16,56±1,52	18,23±1,88	16,77±1,07	16,67±1,67
AE/PC	8,87±1,34	9,70±1,33	8,97±1,14	10,52±2,25
Ao/PC	8,21±0,69	8,65±0,90	8,01±0,85	8,09±1,02
DDVE/Ao	2,02±0,19	2,12±0,23	2,11±0,19	2,08±0,19
Massa VE (g/m ²)	0,62±0,12	0,66±0,16	0,69±0,10	0,72±0,13
IMVE (g/m ²)	1,47±0,29	1,65±0,35	1,44±0,19	1,50±0,25
% Encut. (%)	52,93±4,96	52,00±5,35	50,38±4,86	50,09±5,14
Fração Ej.	0,89±0,03	0,89±0,04	0,87±0,04	0,87±0,04

Resultado expresso em média e desvio padrão; VSVE: via de saída do ventrículo esquerdo; FC: frequência cardíaca; DC: débito cardíaco; VAo: velocidade na aorta; Átrio E: Átrio Esquerdo; DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE: diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; EPP: espessura de parede posterior do ventrículo esquerdo; IC: índice cardíaco; E/A: relação entre a onda E e a onda A; AE/Aorta: relação entre o átrio esquerdo e a aorta; EPP/DDVE: relação entre espessura de parede posterior do ventrículo esquerdo e o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DDVE/PC: relação entre diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo e o peso do corpo; AE/PC: relação entre o átrio esquerdo e o peso do corpo; Ao/PC: relação entre a aorta e o peso do corpo; DDVE/Ao: relação entre diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo e a aorta; Massa VE: massa do ventrículo esquerdo; IMVE: índice de massa do ventrículo esquerdo; % Encut.: porcentagem de encurtamento; Fração Ej.: fração de ejeção.

Tabela 2 – Estudo morfométrico

Grupos Variáveis	Controle 2 Meses	Fumante 2 Meses	Controle 6 Meses	Fumante 6 Meses
PC (g)	418,88±29,52	399,41±32,08	479,88±38,83	481,17±49,31
PVE (g)	0,84±0,11	0,89±0,09	0,90±0,08	0,92±0,20
PVD (g)	0,24±0,04	0,25±0,03	0,24±0,05	0,30±0,11
VE/PC	2,01±0,21	2,24±0,21	1,89±0,17	1,92±0,38
VD/PC	0,58±0,08	0,63±0,06	0,49±0,09	0,63±0,21
VE+VD/PC	0,26±0,03	0,29±0,02	0,24±0,02	0,25±0,04
VE-U/S	79,64±3,35	78,70±7,40	79,80±1,36	80,66±3,44
VD-U/S	79,49±3,71	78,89±8,11	77,92±2,79	81,16±4,62
Fíg-U/S	68,74±5,92	69,45±1,90	68,71±1,30	69,15±2,80
Pul-U/S	78,16±4,91	79,34±2,73	78,04±2,02	79,31±3,04

Resultado expresso em média e desvio padrão; PC: peso do corpo; PVE: peso do ventrículo esquerdo; PVD: peso do ventrículo direito; VE/PC: ventrículo esquerdo corrigido pelo peso do corpo; VD/PC: ventrículo direito corrigido pelo peso do corpo; VE+VD/PC: soma do ventrículo esquerdo com o ventrículo direito corrigido pelo peso do corpo; VE-U/S: relação peso úmido e peso seco do ventrículo esquerdo; VD-U/S: relação peso úmido e peso seco do ventrículo direito; Fíg-U/S: relação peso úmido e peso seco do fígado; Pul-U/S: relação peso úmido e peso seco do pulmão.

Tabela 3 – Estudo hemogasométrico e pressórico

Grupos Variáveis	Controle 2 Meses	Fumante 2 Meses	Controle 6 Meses	Fumante 6 Meses
PO ₂ (mmHg)	65,31±40,30	85,83±73,15	64,37±11,32	59,70±9,44
PCO ₂ (mmHg)	36,18±9,24	32,43±7,62	35,47±3,99	34,59±3,10
SO ₂ (%)	86,38±6,76	86,87±7,45	88,64±7,98	87,37±8,24
COHb (%)	0,24±0,13	15,28±6,49	0,39±0,29	7,63±3,36
PAC (mmHg)	113,75±15,03	127,22±13,20	112,22±7,71	126,20±16,03
FC-PAC (bpm)	379,20±27,61	375,78±34,71	340,22±53,04	343,88±38,38

Resultado expresso em média e desvio padrão; PO₂: pressão parcial de oxigênio; PCO₂: pressão parcial de dióxido de carbono; SO₂: saturação de oxigênio; COHb: carboxiemoglobina; PAC: pressão arterial caudal; FC-PAC: frequência cardíaca no momento da aferição PAC.

Tabela 4 – Estudo funcional do coração isolado

Grupos Variáveis	Controle 2 Meses	Fumante 2 Meses	Controle 6 Meses	Fumante 6 Meses
PS(PD 0mmHg)	134,60±25,90	126,89±28,88	146,73±12,68	134,53±21,95
PS(PD 5mmHg)	142,70±24,14	134,16±25,70	154,23±14,56	143,91±21,17
PS(PD 10mmHg)	148,40±24,02	140,74±22,24	158,65±15,23	145,78±16,90
PS(PD 15mmHg)	153,68±22,60	145,74±20,69	159,81±14,81	148,75±17,58
PS(PD 20mmHg)	159,65±18,89	150,21±16,87	158,46±14,63	147,00±16,59
PS(PD 25mmHg)	160,08±20,10	151,24±16,00	157,12±14,93	144,69±17,93
PS Max.	162,58±18,75	154,79±16,76	162,50±14,25	151,88±18,06
+dp/dt (PD 0mmHg)	3237,50±806,94	2970,37±836,59	3557,69±1108,23	3124,94±550,14
+dp/dt (PD 5mmHg)	3390,60±754,89	3062,47±752,63	3802,77±1217,63	3355,38±520,90
+dp/dt (PD 10mmHg)	3493,65±764,71	3131,42±639,83	3923,00±1274,61	3363,19±412,87
+dp/dt (PD 15mmHg)	3587,45±746,03	3276,21±667,51	3995,15±1291,15	3421,75±425,53
+dp/dt (PD 20mmHg)	3671,80±650,04	3356,53±626,78	3947,08±1282,89	3355,38±354,18
+dp/dt (PD 25mmHg)	3597,35±631,38	3338,79±571,09	3913,38±1262,66	3328,06±372,59
+dp/dt Max.	3749,90±662,14	3483,53±671,21	4076,85±1266,94	3546,81±444,07
-dp/dt (PD 0mmHg)	2062,40±535,76	1914,32±544,62	1999,85±416,15	1953,00±426,56
-dp/dt (PD 5mmHg)	2121,75±480,95	1986,63±517,67	2023,85±417,37	2039,00±376,22
-dp/dt (PD 10mmHg)	2146,65±443,97	2039,32±457,93	2009,46±380,11	2027,25±281,29
-dp/dt (PD 15mmHg)	2178,00±420,18	2027,47±438,04	1985,46±321,90	2003,81±257,58
-dp/dt (PD 20mmHg)	2193,70±379,82	2026,21±383,19	1946,85±325,74	1925,63±212,99
-dp/dt (PD 25mmHg)	2131,10±352,89	1957,05±356,65	1898,85±294,97	1871,00±215,91
-dp/dt Max.	2278,00±430,39	2138,00±435,35	2096,08±372,95	2105,44±330,44

Resultado expresso em média e desvio padrão; PD: pressão diastólica; PS Max.: pressão sistólica máxima; +dp/dt: derivada de pressão positiva; +dp/dt Max.: derivada de pressão positiva máxima; -dp/dt: derivada de pressão negativa; -dp/dt Max.: derivada de pressão negativa máxima.