

Avaliação histopatológica do tecido cardíaco de ratas *Wistar* alcoólatras e/ou tabagistas crônicas

Histopathological evaluation of cardiac tissue from alcoholic and/or chronic smoker *Wistar* rats

Evaluación histopatológica de tejido cardíaco de ratas *Wistar* alcohólicas y/o fumadoras crónicas

DOI:10.34119/bjhrv7n3-013

Submitted: April 01st, 2024

Approved: April 22nd, 2024

Cleisla Caroline Maria Reis

Mestranda pelo Programa de Odontologia

Instituição: Universidade de Uberaba

Endereço: Uberaba, Minas Gerais, Brasil

E-mail: cleislacarolinemreis@gmail.com

Carlos Paulino dos Santos Júnior

Graduando em Medicina

Instituição: Universidade de Uberaba

Endereço: Uberaba, Minas Gerais, Brasil

E-mail: carlosjunior.cpsj@gmail.com

Matheus Lima Pereira

Pós-Graduando em Implantodontia

Instituição: Universidade de Uberaba

Endereço: Uberaba, Minas Gerais, Brasil

E-mail: mlimapereiraa@gmail.com

Rodrigo César Rosa

Doutor em Medicina

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Uberaba, Minas Gerais, Brasil

E-mail: rodrigocesarosa@gmail.com

Renata Margarida Etchebere

Doutora em Patologia

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Endereço: Ubebara, Minas Gerais, Brasil

E-mail: renataetch@hotmail.com

Camilla Christian Gomes Moura

Doutora em Imunologia e Parasitologia

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia

Endereço: Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

E-mail: camillamoura@ufu.br

Sanivia Aparecida de Lima Pereira
Doutora em Patologia
Instituição: Universidade de Uberaba
Endereço: Uberaba, Minas Gerais, Brasil
E-mail: sanivia.pereira@uniube.br

RESUMO

O etanol e o tabaco são drogas legalizadas, amplamente distribuídas e utilizadas na sociedade, mas provocam danos ao organismo, incluindo alterações cardíacas. Realizar avaliação histopatológica no coração de ratas *Wistar* submetidas à inalação passiva do tabaco e ao alcoolismo. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: Grupo C: grupo controle (n=8); Grupo T: grupo de ratas tabagistas (n=11); Grupo A: grupo de ratas alcoólatras (n=8); Grupo AT: grupo de ratas alcoólatras e tabagistas (n=10). Após indução do alcoolismo e tabagismo os animais foram eutanasiados e os corações foram processados histologicamente a fim de investigar processos patológicos como necrose, inflamação, fibrose e poliploidia. Para análise estatística foi utilizado o teste exato de Fisher ($p < 0,05$). Não foram observados inflamação, congestão, degeneração, necrose, trombose ou infarto em nenhum dos folhetos cardíacos analisados. Foram observados fibrose e poliploidia, porém sem diferença estatística entre os grupos. Não foram observadas diferenças significativas com relação aos aspectos histopatológicos do coração no alcoolismo e/ou tabagismo provavelmente devido ao pouco tempo de exposição ao etanol e ao tabaco. Portanto, diante dos variados efeitos negativos à saúde cardiovascular do etanol e do tabaco, sugerimos que sejam realizados novos estudos, utilizando protocolos com maior tempo de exposição e/ou técnicas mais sensíveis às alterações cardíacas, a fim de se compreender melhor os mecanismos deletérios do etilismo e do tabagismo, bem como sugerir protocolos eficientes tanto para triagem das populações expostas, quanto para intervenções precoces, a fim possibilitar maior longevidade e qualidade de vida aos pacientes.

Palavras-chave: etanol, tabaco, coração, ratas *Wistar*.

ABSTRACT

Ethanol and tobacco are legalized drugs, widely distributed and used in society, but they cause damage to the body, including cardiac changes. Objective: To perform histopathological evaluation on the hearts of Wistar rats subjected to passive tobacco inhalation and alcoholism. The animals were randomly distributed into 4 groups: Group C: control group (n=8); Group T: group of smoking rats (n=11); Group A: group of alcoholic rats (n=8); Group AT: group of alcoholic and smoking rats (n=10). After induction of alcoholism and smoking, the animals were euthanized and the hearts were processed histologically in order to investigate pathological processes such as necrosis, inflammation, fibrosis and polyploidy. For statistical analysis, Fisher's exact test was used ($p < 0.05$). No inflammation, congestion, degeneration, necrosis, thrombosis or infarction were observed in any of the cardiac leaflets analyzed. Fibrosis and polyploidy were observed, but without statistical differences between the groups. No significant differences were observed regarding the histopathological aspects of the heart in alcoholism and/or smoking, probably due to the short time of exposure to ethanol and tobacco. Therefore, given the varied negative effects of ethanol and tobacco on cardiovascular health, we suggest that new studies be carried out, using protocols with longer exposure times and/or techniques that are more sensitive to cardiac changes, in order to better understand the deleterious mechanisms of ethanol, alcoholism and smoking, as well as suggesting efficient protocols both for screening exposed populations and for early interventions, in order to enable greater longevity and quality of life for patients.

Keywords: etanol, tobacco, heart, *Wistar* rats.

RESUMEN

El etanol y el tabaco son drogas legalizadas, ampliamente distribuidas y utilizadas en la sociedad, pero causan daños al organismo, incluyendo alteraciones cardíacas. Objetivo: Realizar evaluación histopatológica en corazones de ratas *Wistar* sometidas a inhalación pasiva de tabaco y alcoholismo. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 4 grupos: Grupo C: grupo control (n=8); Grupo T: grupo de ratas fumadoras (n=11); Grupo A: grupo de ratas alcohólicas (n=8); Grupo AT: grupo de ratas alcohólicas y fumadoras (n=10). Después de inducirles el alcoholismo y el tabaquismo, los animales fueron sacrificados y los corazones fueron procesados histológicamente para investigar procesos patológicos como necrosis, inflamación, fibrosis y poliploidía. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba exacta de Fisher ($p < 0,05$). No se observó inflamación, congestión, degeneración, necrosis, trombosis o infarto en ninguna de las valvas cardíacas analizadas. Se observó fibrosis y poliploidía, pero sin diferencias estadísticas entre los grupos. No se observaron diferencias significativas respecto a los aspectos histopatológicos del corazón en alcoholismo y/o tabaquismo, probablemente debido al corto tiempo de exposición al etanol y al tabaco. Por ello, dados los variados efectos negativos del etanol y el tabaco sobre la salud cardiovascular, sugerimos realizar nuevos estudios, utilizando protocolos con tiempos de exposición más largos y/o técnicas más sensibles a los cambios cardíacos, para comprender mejor los mecanismos deletéreos del alcoholismo y el tabaquismo, además de sugerir protocolos eficientes tanto para el cribado de las poblaciones expuestas como para las intervenciones tempranas, con el fin de permitir una mayor longevidad y calidad de vida de los pacientes.

Palabras clave: etanol, tabaco, corazón, ratas *Wistar*.

1 INTRODUÇÃO

O consumo de álcool faz parte da rotina em várias das sociedades contemporâneas, sendo utilizado frequentemente como acompanhamento em interações sociais. Entretanto, o uso abusivo de etanol é tratado como fator de risco ao desenvolvimento social pelos Estados-Membros das Nações Unidas (Who, 2019). Essa preocupação se deve a três principais efeitos do consumo abusivo de álcool: o efeito tóxico da substância em diversos órgãos e tecidos, a dependência física e psicológica causada pelo álcool e os efeitos psicoativos gerados após seu consumo (Babor *et al.*, 2010).

Dentre os efeitos tóxicos do álcool, podem-se destacar diversos acometimentos cardiovasculares, tais como aterosclerose, cardiomiopatia dilatada alcoólica e arritmias (Fernández-Solà, 2020; Coelho *et al.*, 2021). A toxicidade do etanol é dose dependente sendo que baixas doses podem ser associadas a efeitos cardioprotetores, porém esse limite não é bem estabelecido na literatura. Dessa maneira, o consumo de álcool pela população deve ser desencorajado, devido à variedade de riscos do etilismo, envolvendo diversos órgãos e sistemas,

como fígado, pâncreas, cérebro e o próprio miocárdio (Federico *et al.*, 2015; Fernandez-Sola, 2015; Obad *et al.*, 2018).

Apesar de existirem casos descritos de pacientes com cardiomiopatia dilatada e insuficiência cardíaca (IC) com histórico de etilismo e de não haver uma dose de risco bem estabelecida, doses acima de 80 a 100 gramas de etanol por dia têm indicado maior propensão ao desenvolvimento de patologias cardíacas, que cursam com a IC. Entretanto, é necessária cautela ao fixar o etilismo como causa de um quadro cardíaco, uma vez que se corre o risco de ignorar outras etiologias, como as de causa genética (Rehm *et al.*, 2017; Andersson *et al.*, 2022).

A cardiomiopatia alcoólica dilatada (CAD) é uma doença causada pela ação tóxica do etanol sobre o miocárdio. A CAD é caracterizada por dilatação do ventrículo esquerdo (VE), espessura normal ou reduzida da parede do VE, aumento da massa do VE e redução da fração de ejeção do VE em estágios mais avançados. É importante salientar que não existem biomarcadores imunológicos específicos para CAD, de modo que seu diagnóstico é presuntivo. A fisiopatologia da CAD é complexa e envolve fatores decorrentes da ação do álcool sobre o músculo cardíaco que podem levar ao remodelamento cardíaco, tais como estresse oxidativo, apoptose, estresse mitocondrial e desbalanço no metabolismo e no transporte de ácidos graxos. (Piano; Phillips, 2014).

O estresse oxidativo do miocárdio em resposta ao etanol pode ocorrer pela indução direta da produção celular aumentada de radicais livres ou pela ativação de sistemas hormonais, como aumento da síntese de angiotensina II. O estresse oxidativo leva à apoptose e, conseqüentemente, à fibrose (Piano; Phillips, 2014). Existem diversos marcadores de estresse oxidativo, como o aumento da expressão e da atividade da enzima catalase, que já foi documentado em miocardiócitos, tanto de humanos com CAD, quanto de camundongos etilistas (Vikhert; Tsiplenkova; Cherpachenko, 1986; Fahimi *et al.*, 1979).

Além disso, sabe-se que o estresse oxidativo relaciona-se diretamente com fibrose no miocárdio e, inversamente, com a fração de encurtamento e o débito cardíacos (Piano; Phillips, 2014). Entretanto, a administração de etanol em camundongos *Knockout* para o gene do receptor AT1 de angiotensina II não gera apoptose e remodelamento nos ventrículos cardíacos, como ocorre em camundongos selvagens, demonstrando a importância da angiotensina II nos danos morfológicos mediados pelo estresse oxidativo (Tan *et al.*, 2012).

Outro dano gerado pelo estresse oxidativo é a lesão de estruturas mitocondriais, bem como a redução da fosforilação oxidativa e, conseqüentemente, da quantidade de adenosina trifosfato (ATP) produzida por miocardiócitos (Hibbs *et al.*, 1965; HU *et al.*, 2013). Essas lesões ocorrem porque o material genético mitocondrial apresenta maior fragilidade, quando

comparado ao nuclear, uma vez que não possui a organização nem os mecanismos de reparo dos quais dispõe o DNA nuclear (Marzetti *et al.*, 2013).

Além disso, outro mecanismo de dano mitocondrial é o aumento de ácidos graxos nos miocardiócitos. Ésteres de ácidos graxos (EAG), que são produtos da esterificação de ácidos graxos e etanol, podem se associar à mitocôndria e prejudicar sua função. Os níveis séricos de EAG encontram-se aumentados em pacientes etilistas crônicos ou que se intoxicaram agudamente com etanol (Kaphalia *et al.*, 2004).

Sabe-se ainda que a captação de ácidos graxos de cadeia longa, pelos miocardiócitos de camundongos, aumenta de forma dose dependente à ingestão de etanol e que se relaciona diretamente ao aumento de triglicerídeos no músculo cardíaco. Esses achados estão ainda correlacionados à redução da síntese de ATP pelos miocardiócitos, evidenciando o dano mitocondrial pelo desbalanço lipídico (Hu *et al.*, 2013).

A depleção de ATP, a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativo estimulam positivamente a via de autofagia de proteínas em miocardiócitos, levando à perda proteica no músculo cardíaco (Piano; Phillips, 2014). Além disso, a síntese proteica em miocardiócitos também é reduzida no etilismo crônico (Vary; Deiter, 2005).

Dessa maneira, a análise histopatológica do coração de um etilista crônico pode apresentar apoptose, fibrose e perda muscular no miocárdio. Além disso, a miocardite crônica pode ser um achado em coração de etilista, exibindo infiltrado mononuclear e áreas focais de necrose (Wilke *et al.*, 1996).

O tabagismo também é uma causa importante de danos cardiovasculares. O hábito de fumar eleva o risco de fibrilação atrial, falência cardíaca, hipertensão arterial sistêmica (HAS) e eventos tromboembólicos (Kondo *et al.*, 2019). Os efeitos cardíacos do tabaco podem ocorrer por via direta; gerando isquemia, necrose e fibrose no músculo cardíaco; ou indireta, que ocorre secundariamente à elevação da pressão arterial, do colesterol sérico, da viscosidade plasmática, da agregação plaquetária e do perfil inflamatório (Leone, 2005).

Assim, pode-se concluir que as ações do cigarro no sistema cardiovascular são amplas, levando desde disfunção endotelial à HAS. Os danos ao endotélio devem-se à ação de espécies reativas do oxigênio e de citocinas pró-inflamatórias, cujos aumentos se relacionam ao tabagismo, que prejudicam a liberação de fatores vasodilatadores, como óxido nítrico (NO) e prostaciclina (Kondo *et al.*, 2019).

O estresse oxidativo é um outro mecanismo importante de lesão miocárdica, assim como no alcoolismo, o aumento de radicais livres leva a danos mitocondriais e à lesão celular (Kondo *et al.*, 2019). Ademais, as lesões mitocondriais também podem ser causadas por lipotoxicidade,

uma vez que o tabagismo também aumenta as concentrações de triglicerídeos no miocárdio (Santos *et al.*, 2014).

As repercussões do tabagismo à saúde cardiovascular ocorrem tanto de forma aguda, quanto crônica. Por exemplo, a pressão arterial sofre um aumento agudo de cerca de 20 mmHg após se fumar apenas um cigarro, isso resulta da estimulação do sistema nervoso autonômico simpático. Por outro lado, a longo prazo, o tabagismo é capaz de causar rigidez arterial, que pode se prolongar por até uma década após cessar o hábito de fumar (Kondo *et al.*, 2019).

Além disso, o tabagista crônico possui um perfil imunológico altamente inflamatório, isso pode ser devido ao aumento de radicais livres, que atuam como ativadores de importantes cascatas pró-inflamatórias de sinalização celular (Kondo *et al.*, 2019; Mossman; Lounsbury; Reddy, 2006).

Por outro lado, a poliploidia é definida como a presença, em uma célula, de três ou mais cópias completas de seu genoma. Em mamíferos, esse fenômeno é associado à restauração de tecido danificado, bem como à proteção frente a potenciais danos oncogênicos ou genotóxicos (Bailey *et al.*, 2021). Dessa forma, em um tecido cardíaco agredido por tabagismo e/ou etilismo; além de achados histopatológicos clássicos, como necrose, infiltrado inflamatório, hipertrofia e fibrose; é possível que a poliploidia também seja um indicador de sofrimento do tecido cardíaco.

Portanto levantamos a hipótese de que o tabagismo e alcoolismo provocam alterações microscópicas no coração de ratas. Portanto, o objetivo do presente estudo foi realizar avaliação histopatológica do coração de ratas Wistar submetidas à inalação passiva do tabaco e ao alcoolismo crônico.

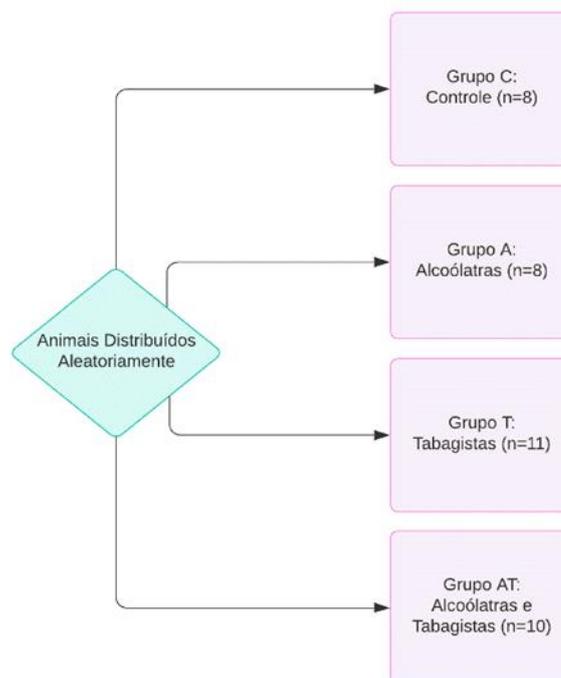
2 METODOLOGIA

2.1 ANIMAIS E AGRUPAMENTO

No estudo foram utilizadas 37 ratas albinas (*Rattus Norvegicus*) da linhagem *Wistar*, com massa corporal inicial média de 150 g (± 10 g). Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, e alojados em gaiolas padrão no Biotério do Laboratório de Anatomia, do Departamento de Biologia Estrutural (DBE/ICBN) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, onde permaneceram durante todo o período experimental.

Os animais foram mantidos em temperatura ambiente de 20° C a 24° C, controle de luminosidade (claro/escuro: 12 x 12 horas), umidade relativa do ar em 55% ($\pm 10\%$), e sem restrição de acesso à ração e à água. Para ambientação, os animais permaneceram durante uma semana nas mesmas condições ambientais dos experimentos definitivos, sem sofrerem intervenções específicas. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: Grupo C: grupo controle (n=8); Grupo T: grupo de ratas tabagistas (n=11); Grupo A: grupo de ratas alcoólatras (n=8); Grupo AT: grupo de ratas alcoólatras e tabagistas (n=10) (Figura 1).

Figura 1. Distribuição dos grupos.



Fonte: Imagem criada pelo autor, 2024.

2.2 EXPOSIÇÃO À FUMAÇA DO TABACO

A exposição à fumaça do tabaco foi realizada com base no método proposto por Wang *et al.* (1999) e utilizado por Freitas *et al.* (2004). O equipamento para inalação da fumaça é composto por quatro tubos cilíndricos construídos em acrílico transparente (10 cm de diâmetro x 25 cm de comprimento) abertos nas extremidades. Um lado é completamente aberto e foi utilizado para a introdução dos animais, mas contém um restritor físico regulável para impedir o recuo dos animais uma vez dentro do cilindro. A outra extremidade é afunilada para a conexão com recipiente que distribuiu a fumaça e o ar ambiente para os compartimentos. Os “*puffs*” de

fumaça, intercalados com ar ambiente, foram retirados de um cigarro por sucção de uma bomba peristáltica (Provitec – modelo: AWG 5.000 AX-D).

Essa bomba possui temporizador que permite controlar o tempo de injeção do ar ambiente e da fumaça no interior dos tubos, com ciclos de 30 segundos de exposição ao ar ambiente e 15 segundos de exposição à fumaça. Todos os equipamentos, exceto a bomba, estavam contidos no interior de uma caixa isolante retangular de acrílico transparente, conectada a um exaustor para promover a limpeza do ar ambiente. Quatro animais foram expostos simultaneamente à fumaça do cigarro.

Os animais passaram por fase de ambientação nessa caixa, sem fumaça, por 20 minutos, duas vezes ao dia (seis horas de intervalo), no período da manhã e da tarde, durante sete dias consecutivos. Os 20 minutos correspondem ao tempo de futura exposição a dois cigarros (ciclos de 30 segundos de exposição ao ar ambiente e 15 segundos de exposição à fumaça).

Após esse período, as ratas foram expostas à fumaça de dois cigarros no período da manhã e mais dois cigarros no período da tarde, com intervalo de 6 horas, por 60 dias.

Uma vez a cada sete dias, a porcentagem de monóxido de carbono dentro de cada câmara cilíndrica foi medida com um medidor portátil de monóxido de carbono (Instrupemp ITMCO-1500, SP, Brasil).

O cigarro queimado foi da marca comercial Marlboro (Phillips Morris), sendo que cada unidade contém: 0,8 mg de nicotina, 10 mg de alcatrão e 10 mg de monóxido de carbono (valores aferidos por amostragem no Laboratório Labstat - Canadá, segundo o rótulo do produto).

2.3 PROTOCOLO DE INDUÇÃO AO CONSUMO CRÔNICO DE ÁLCOOL (PIA)

O PIA foi efetuado conforme metodologia escrita por Tirapelli *et al.* 2008 e Rosa *et al.* 2019. Os animais foram expostos ao consumo crônico de álcool pelo método semivoluntário, como única opção de dieta hídrica. Foi oferecida solução alcoólica em crescentes concentrações, obtida pela mistura de água e álcool etílico absoluto, seguindo o protocolo de indução, em que: na primeira semana as ratas receberam solução de água e álcool etílico 5%, na semana subsequente, solução alcoólica 10% e, na terceira e quarta semanas, solução alcoólica 20%. Após o período de indução, iniciou-se o período experimental, sendo mantida a concentração de 20%, por 60 dias.

2.4 EUTANÁSIA, RETIRADA DO CORAÇÃO, PROCESSAMENTO E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO MIOCÁRDIO

Ao final do experimento, os animais foram submetidos à eutanásia com dose excessiva (3 mL/100 g) de Tiopental (tiopentato de sódio, solução 1,25%) via intraperitoneal. Após a eutanásia, foram coletados os corações das ratas e armazenados em formaldeído a 10%. Após fixação das amostras em formaldeído, essas foram desidratadas em etanol, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Em seguida, foram realizados cortes histológicos de 3 micrômetros de espessura, sendo uma das lâminas coradas pela hematoxilina e eosina e a outra pelo Tricrômico de Masson.

Nas lâminas coradas pela hematoxilina e eosina (HE), analisou-se a presença de processos patológicos como inflamação, congestão, degeneração, necrose, fibrose, trombose e infarto. As lâminas coradas pelo Tricrômico de Masson foram utilizadas para avaliar a intensidade de colágeno no estroma cardíaco. Todas as avaliações foram realizadas de maneira semiquantitativa, adotando-se um escore de zero a três, no qual zero representa ausência do processo patológico e três, a maior intensidade do processo patológico analisado.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos programas Graphpad Prism 5.0 e BioEstat 5.0, por meio dos quais foi aplicado o teste de normalidade Shapiro-Wilks para a avaliação da normalidade. O teste exato de Fisher foi utilizado para comparação dos parâmetros entre os grupos. Todas as análises estatísticas foram realizadas adotando nível de significância de 5% ($\alpha < 0,05$).

3 RESULTADOS

Ao analisar os cortes histológicos do coração observou-se, em intensidades variáveis, a presença de poliploidia e de fibrose (Figura 2). Não foram observados inflamação, congestão, degeneração, necrose, trombose ou infarto em nenhum dos folhetos cardíacos analisados.

Diante da análise da fibrose e da poliploidia adotamos um escore de zero a três, no qual zero representa ausência do processo patológico e três, a maior intensidade do processo patológico analisado. Dessa forma, como em todos os casos nos quais houve alterações, essas

foram graduadas como grau 1, em cada caso adotamos presença ou ausência do processo histopatológico observado.

Ao se comparar fibrose no epicárdio, miocárdio e endocárdio, observamos que não houve diferença estatística entre nenhum dos grupos: Controle *versus* Álcool ; Controle *versus* Tabaco; Controle *versus* Álcool+Tabaco; Álcool *versus* Tabaco; Álcool *versus* Álcool+Tabaco e nem entre os grupos Tabaco *versus* Álcool+Tabaco (P=1.0000; p>0,05) (Tabela 1).

Em relação à poliploidia no miocárdio, também não observamos diferença estatística entre nenhum dos grupos: Controle *versus* Álcool; Controle *versus* Tabaco; Controle *versus* Álcool+Tabaco; Álcool *versus* Tabaco; Álcool *versus* Álcool+Tabaco e nem entre os grupos Tabaco *versus* Álcool+Tabaco (P=1.0000; p>0,05) (Tabela 1).

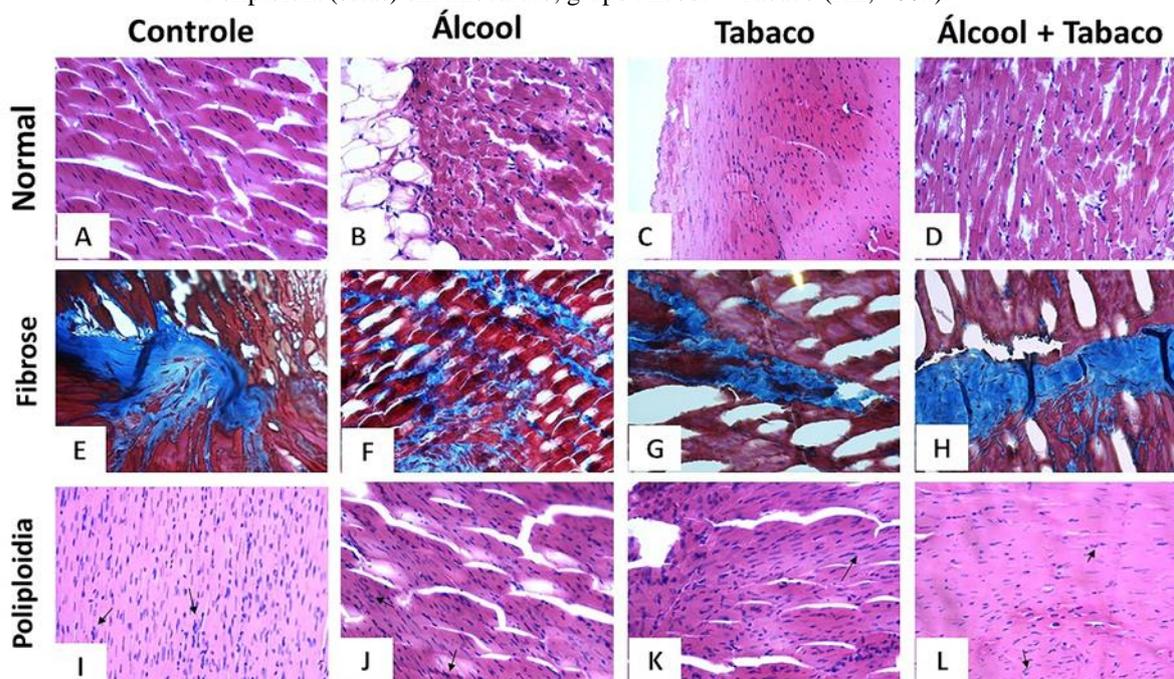
Tabela 1. Frequência de fibrose no epicárdio, miocárdio e endocárdio e de poliploidia no miocárdio de ratas *Wistar* alcoólatras e/ou tabagistas.

| | Fibrose | | | Poliploidia miocárdica |
|----------------------------------|-----------|-----------|------------|------------------------|
| | Epicárdio | Miocárdio | Endocárdio | |
| Controle n = 8 (100%) | 4 (50%) | 1 (12,5%) | 2 (25%) | 7 (87,5%) |
| Álcool n = 8 (100%) | 1 (12,5%) | 1 (12,5%) | 0 (0%) | 4 (50%) |
| Tabaco n = 11 (100%) | 4 (36,4%) | 1 (9,1%) | 1 (9,1%) | 7 (63,6%) |
| Álcool + Tabaco n = 10 (100%) | 2 (20%) | 2 (20%) | 1 (10%) | 7 (70%) |

Teste Exato de Fisher; P=1.0000; p>0,05)
Fonte: Tabela criada pelo autor, 2024.

Figura 2. Cortes histológicos do coração de ratas Wistar demonstrando tecido cardíaco normal, com fibrose e com poliploidia nos grupos Controle, Álcool, Tabaco e Álcool+ Tabaco.

A) Miocárdio normal, grupo Controle (HE, 400x). B) Epicárdio e miocárdio normais, grupo Álcool (HE, 400x). C) Endocárdio e miocárdio normais, grupo Tabaco (HE, 400x). D) miocárdio normal, grupo Álcool + Tabaco (HE, 400x). E) Fibrose em azul no miocárdio do grupo Controle (tricroômico de Masson, 400x). F) Fibrose em azul no miocárdio do grupo Álcool (tricroômico de Masson, 400x). G) Fibrose em azul no miocárdio do grupo Tabaco (tricroômico de Masson, 400x). H) Fibrose em azul no miocárdio do grupo Álcool + Tabaco (tricroômico de Masson, 400x). I) Poliploidia (setas) em miocárdio do grupo Controle (HE, 400x). J) Poliploidia (seta) em miocárdio do grupo Álcool (HE, 400x). K) Poliploidia (seta) em miocárdio do grupo Tabaco (HE, 400x). L) Poliploidia (setas) em miocárdio, grupo Álcool + Tabaco (HE, 400x).



Fonte: Criada pelo autor, 2024.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A relação entre doença cardiovascular e consumo de álcool é controversa. Existem evidências associando o consumo baixo e moderado de etanol à melhora do perfil lipídico, com aumento de lipoproteína de alta densidade (HDL) e redução de lipoproteína de baixa densidade (LDL), além de redução de mediadores pró-inflamatórios, como a interleucina 6 (IL-6) (Huang *et al.*, 2017). Por outro lado, os riscos relacionados ao etilismo superam seus benefícios, sobretudo quando a média de consumo diário é igual ou superior a 10 gramas de etanol, já que, a partir desse nível, há aumento importante da incidência de hipertensão arterial sistêmica, fibrilação atrial, arritmias e cardiomiopatia alcoólica dilatada (CAD) (Day; Rudd, 2019). Além disso, é importante destacar a possibilidade de acúmulo, com o passar dos anos, da dose ingerida de etanol, que pode atingir o limiar, em pessoas susceptíveis, para o desenvolvimento de CAD (Fernández-Solà, 2015).

Quanto à fisiopatologia da CAD, sabe-se que tanto o álcool quanto seu metabólito acetaldeído causam danos ao miocárdio, levando à redução da função cardíaca e à cardiomegalia, por meio de mecanismos de autofagia, apoptose e necrose miocárdicas e, conseqüentemente, fibrose. Dentre os mecanismos de lesão, podem-se destacar estresse oxidativo, redução da sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio, descoordenação dos processos de excitação e contração cardíacos e permeabilização da membrana mitocondrial (Hajnóczky *et al.*, 2005; Piano; Phillips, 2014; Ren; Wold, 2008). Com a perda celular, o tecido cardíaco passa a desenvolver fibrose, uma vez que o próprio etanol reduz a capacidade regenerativa do coração, bem como aumenta o processo de deposição de colágeno (Fernández-Solà, 2020).

O tabagismo também causa diversos danos ao sistema cardiovascular, tanto em fumantes ativos, quanto em passivos. Dentre as principais conseqüências do tabagismo ao coração e aos vasos, podem-se citar infarto agudo do miocárdio, aterosclerose coronariana, hipertrofia ventricular e arritmias. A fisiopatologia dos eventos tromboembólicos e ateroscleróticos envolve aumento de inflamação, disfunção endotelial e dislipidemia (Benowitz; Liakoni, 2021).

Como não encontramos estudos que avaliaram os processos histopatológicos no coração de ratas alcoólatras e/ou tabagistas, o presente estudo é pioneiro nessa investigação. O fato de não termos observado diferença estatística entre fibrose e poliploidia nas amostras analisadas, nós hipotetizamos que o tempo do experimento foi curto para o desenvolvimento dos processos histopatológicos no coração, em resposta aos estímulos de consumo de etanol e de inalação passiva da fumaça de cigarro, que pudessem ser detectados pelas técnicas empregadas neste estudo, dado o desenvolvimento prolongado das lesões cardíacas relacionadas a essas drogas. Haja vista, o fato de que o período de abuso de etanol necessário para impactar na função cardíaca em humanos, ainda de maneira subclínica, pode levar mais de 10 anos (Guzzo-Merello *et al.*, 2015; Ram *et al.*, 2018).

Apesar de existirem correlações controversas, na literatura, entre o tempo de vida de ratos e de humanos, alguns trabalhos mostraram uma aproximação de 2,5 anos humanos para cada mês de vida do roedor. Considerando esse dado, o tempo de exposição dos animais, no presente trabalho, corresponderia a cerca de 5 anos em humanos (Andreollo *et al.*, 2012).

Os achados histopatológicos relacionados ao tabagismo também se desenvolvem em um período mais longo, embora alguns efeitos funcionais sejam imediatos, como o aumento da pressão arterial (Dimitriadis *et al.*, 2022). Um estudo descreveu fibrose intersticial mais evidente nos grupos de cachorros *Beagle* expostos à nicotina por 22 meses quando comparados

ao grupo controle, embora os autores não tenham encontrados outros processos histopatológicos ou redução da função cardíaca nos animais expostos (Ahmed *et al.*, 1976).

Apesar disso, há diversas evidências na literatura de impactos do tabagismo às funções cardíacas. Um estudo ratificou o cigarro como importante fator de risco para disfunção sistólica, hospitalização por insuficiência cardíaca e hipertrofia ventricular esquerda, em afro-americanos (Kamimura *et al.*, 2018).

Recentemente, técnicas pouco invasivas, como exames laboratoriais e de imagem, estão sendo empregadas, tanto em pesquisas, quanto na clínica, para triagem de disfunções cardíacas em populações que apresentam maior risco no desenvolvimento dessas doenças. Um trabalho, utilizando ultrassonografia com Doppler, evidenciou alterações significativas na função miocárdica diastólica em jovens tabagistas crônicos, aparentemente saudáveis (Gulel *et al.*, 2007). Nesse ínterim, um outro estudo, utilizando biomarcadores séricos, além de exames de imagem, demonstrou, em humanos tabagistas crônicos, maior perfil de inflamação, lesão e estresse miocárdicos, além de piora das funções sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo (Gottdiener *et al.*, 2022).

5 CONCLUSÃO

Portanto, não foram observadas diferenças significativas com relação aos aspectos histopatológicos do coração no alcoolismo e/ou tabagismo provavelmente devido ao pouco tempo de exposição ao etanol e ao tabaco. Dessa maneira, diante dos variados efeitos negativos à saúde cardiovascular do etanol e do tabaco, sugerimos que sejam realizados novos estudos, utilizando protocolos com maior tempo de exposição e/ou técnicas mais sensíveis às alterações cardíacas, a fim de se compreender melhor os mecanismos deletérios do etilismo e do tabagismo, bem como sugerir protocolos eficientes tanto para triagem das populações expostas, quanto para intervenções precoces, a fim possibilitar maior longevidade e qualidade de vida aos pacientes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio recebido do CEFORES/Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM); do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica/PIBIC, do Programa de Mestrado em Odontologia da Universidade de Uberaba (UNIUBE), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq; da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais/FAPEMIG e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERÊNCIAS

- AHMED, S. S. et al. Cardiovascular effects of long-term cigarette smoking and nicotine administration. **The American Journal of Cardiology**, v. 37, n. 1, p. 33–40, 1 jan. 1976.
DOI: 10.1016/0002-9149(76)90496-3.
- ANDERSSON, C. et al. Alcohol Intake in Patients With Cardiomyopathy and Heart Failure: Consensus and Controversy. **Circulation: Heart Failure**, v. 15, n. 8, ago. 2022.
DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.121.009459
- ANDREOLLO, N. A. et al. Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 25, n.1, p. 49-51, 2012.
DOI: 10.1590/S0102-67202012000100011
- BABOR, T. F. et al. Alcohol: no ordinary commodity: research and public policy. 2010. DOI: 10.1093/acprof:oso/9780199551149.001.0001
- BAILEY, E. C. et al. Polyploidy in Tissue Repair and Regeneration. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 13, n. 10, p. a040881, 1 out. 2021.
DOI: 10.1101/cshperspect.a040881
- BENOWITZ, N. L.; LIAKONI, E. Tobacco Use Disorder and Cardiovascular Health. **Addiction**, v. 117, n. 4, 29 set. 2021.
DOI: 10.1111/add.15703
- COELHO, A. B. et al. Os impactos do iam para o sistema único de saúde e para o Brasil. v.4, n.4, p.15091-15102 jul./aug. 2021
DOI:10.34119/bjhrv4n4-057
- DAY, E.; RUDD, J. H. F. Alcohol use disorders and the heart. **Addiction**, v. 114, n. 9, p. 1670–1678, 15 jul. 2019.
DOI: 10.1111/add.14703
- DIMITRIADIS, K. et al. Acute Effects of Electronic and Tobacco Cigarette Smoking on Sympathetic Nerve Activity and Blood Pressure in Humans. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 6, p. 3237, 9 mar. 2022.
DOI: 10.3390/ijerph19063237
- FAHIMI, H. D. et al. Increased myocardial catalase in rats fed ethanol. **The American Journal of Pathology**, v. 96, n. 2, p. 373, 1979.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2042443>
PMID: 474705
- FEDERICO, A. et al. The effects of alcohol on gastrointestinal tract, liver and pancreas: evidence-based suggestions for clinical management. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v.19, n.10, p. 1922-1940 2015.
<https://www.europeanreview.org/article/8968>
PMID: 26044241

FERNANDEZ-SOLA, J. Cardiovascular risks and benefits of moderate and heavy alcohol consumption. **Nature Reviews Cardiology**, v. 12, n. 10, p. 576-587, 2015.
DOI: 10.1038/nrcardio.2015.91

FERNÁNDEZ-SOLÀ, J. The effects of ethanol on the heart: alcoholic cardiomyopathy. **Nutrients**, v. 12, n. 2, p. 572, 2020.
DOI: 10.3390/nu12020572

GOTTDIENER, J. S. et al. Relation of Cigarette Smoking and Heart Failure in Adults ≥ 65 Years of Age (From the Cardiovascular Health Study). **The American Journal of Cardiology**, v. 168, p. 90–98, 1 abr. 2022.
DOI: 10.1016/j.amjcard.2021.12.021

GULEL, O. et al. Longitudinal Diastolic Myocardial Functions Are Affected by Chronic Smoking in Young Healthy People: A Study of Color Tissue Doppler Imaging. **Echocardiography**, v. 24, n. 5, p. 494–498, maio 2007.
DOI: 10.1111/j.1540-8175.2007.00421.x

GUZZO-MERELLO, G. et al. Natural History and Prognostic Factors in Alcoholic Cardiomyopathy. **JACC: Heart Failure**, v. 3, n. 1, p. 78–86, jan. 2015.
DOI: 10.1016/j.jchf.2014.07.014

HAJNÓCZKY, G. et al. Alcohol and Mitochondria in Cardiac Apoptosis: Mechanisms and Visualization. **Alcoholism: Clinical & Experimental Research**, v. 29, n. 5, p. 693–701, maio 2005.
DOI: 10.1097/01.alc.0000163493.45344.7^a

HIBBS, R. G. et al. Alcoholic cardiomyopathy. An electron microscopic study. **American Heart Journal**, v. 69, n. 6, p. 766-779, 1965.
DOI: 10.1016/0002-8703(65)90450-3

HUANG, Y. et al. Moderate alcohol consumption and atherosclerosis : Meta-analysis of effects on lipids and inflammation. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 129, n. 21-22, p. 835–843, 1 nov. 2017.
DOI: 10.1007/s00508-017-1235-6

HU, C. et al. Chronic ethanol consumption increases cardiomyocyte fatty acid uptake and decreases ventricular contractile function in C57BL/6J mice. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 59, p. 30-40, 2013.
DOI: 10.1016/j.yjmcc.2013.02.005

KAMIMURA, D. et al. Cigarette Smoking and Incident Heart Failure. **Circulation**, v. 137, n. 24, p. 2572–2582, 12 jun. 2018.
DOI: 10.1161/CIRCULAÇÃOAHA.117.031912

KAPHALIA, B. S. et al. Fatty acid ethyl esters: markers of alcohol abuse and alcoholism. **Alcohol**, v. 34, n. 2-3, p. 151-158, 2004.
DOI: 10.1016/j.álcool.2004.07.013

KONDO, T. et al. Effects of tobacco smoking on cardiovascular disease. **Circulation Journal**, v. 83, n. 10, p. 1980-1985, 2019.
DOI: 10.1253/circj.CJ-19-0323

LEONE, Aurelio. Biochemical markers of cardiovascular damage from tobacco smoke. **Current pharmaceutical design**, v. 11, n. 17, p. 2199-2208, 2005.
DOI: 10.2174/1381612054367391

MARZETTI, E. et al. Role of mitochondrial dysfunction and altered autophagy in cardiovascular aging and disease: from mechanisms to therapeutics. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 305, n. 4, p. H459-H476, 2013.
DOI: 10.1152/ajpheart.00936.2012

MOSSMAN, B. T.; LOUNSBURY, K. M.; REDDY, S. P. Oxidants and signaling by mitogen-activated protein kinases in lung epithelium. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 34, n. 6, p. 666-669, 2006.
DOI: 10.1165/rcmb.2006-0047SF

OBAD, Adam et al. Alcohol-mediated organ damages: heart and brain. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 81, 2018.
DOI: 10.3389/fphar.2018.00081

PIANO, M. R.; PHILLIPS, S. A. Alcoholic cardiomyopathy: pathophysiologic insights. **Cardiovascular toxicology**, v. 14, n. 4, p. 291-308, 2014.
DOI: 10.1007/s12012-014-9252-4

RAM, P. et al. National trends in hospitalizations and outcomes in patients with alcoholic cardiomyopathy. **Clinical Cardiology**, v. 41, n. 11, p. 1423-1429, nov. 2018.
DOI: 10.1002/clc.23067

REHM, J. et al. Quantifying the contribution of alcohol to cardiomyopathy: A systematic review. **Alcohol**, v. 61, p. 9-15, jun. 2017.
DOI: 10.1016/j.alcohol.2017.01.011

REN, J.; WOLD, L. E. Mechanisms of alcoholic heart disease. **Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease**, v. 2, n. 6, p. 497-506, 30 set. 2008.
DOI: 10.1177/1753944708095137

SANTOS, Priscila P. et al. The role of lipotoxicity in smoke cardiomyopathy. **PLoS One**, v. 9, n. 12, p. e113739, 2014.
DOI: 10.1371/journal.pone.0113739

TAN, Y. et al. Angiotensin II plays a critical role in alcohol-induced cardiac nitrative damage, cell death, remodeling, and cardiomyopathy in a protein kinase C/nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-dependent manner. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 59, n. 16, p. 1477-1486, 2012.
DOI: 10.1016/j.jacc.2011.12.034

VARY, Thomas C.; DEITER, Gina. Long-term alcohol administration inhibits synthesis of both myofibrillar and sarcoplasmic proteins in heart. **Metabolism**, v. 54, n. 2, p. 212-219, 2005.

DOI: 10.1016/j.metabol.2004.08.015

VIKHERT, Anatoli M.; TSIPLINKOVA, Valeria G.; CHERPACHENKO, Nina M. Alcoholic cardiomyopathy and sudden cardiac death. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 8, n. 1S1, p. 3A-11A, 1986.

DOI: 10.1016/s0735-1097(86)80023-7

WILKE, A. et al. Alcohol and myocarditis. **Herz**, v. 21, n. 4, p. 248-257, 1996.

<https://europepmc.org/article/med/8805005>

PMID: 8805005

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on alcohol and health 2018.**

World Health Organization, 2019.

DOI: 10.1111/add.14234