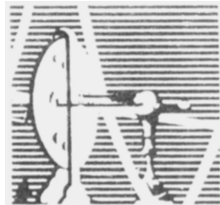


FABRÍCIO PASSOS RODRIGUES

**EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM EXTRATO DE VINHO TINTO SOBRE A
FUNÇÃO CARDIOVASCULAR DE RATOS COM HIPERTENSÃO ARTERIAL PULMONAR**

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (FISIOLOGIA)



**Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho**

2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Eletrofisiologia Cardíaca do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro sob orientação do Prof. José Hamilton Matheus Nascimento e contou com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Rodrigues, Fabrício Passos

Efeito do tratamento crônico com extrato de vinho tinto sobre a função cardiovascular de ratos com hipertensão arterial pulmonar/ Fabrício Passos Rodrigues. - Rio de Janeiro: UFRJ/ IBCCF, 2005
X: 58f.: il

Orientador: José Hamilton Matheus Nascimento
Dissertação de Mestrado para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Biológicas (Fisiologia) - UFRJ, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, 2005.
Referências Bibliográficas: f. 54-58

1.Monocrotalina. 2. Vinho. 3. Coração. 4. Hipertensão

I. Nascimento, José Hamilton Matheus. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Programa de Pós- graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia). III. Título

	ÍNDICE	
I	Introdução	1
	I.1 – Doenças cardiovasculares: aspectos gerais	1
	I.2 – Vinho e doenças cardiovasculares	2
	I.3 – O modelo experimental	7
II	Objetivos	8
III	Materiais e métodos.	9
	III.1 – Animais experimentais	9
	III.2 – Protocolo Experimental	9
	III.3 – Obtenção do extrato de vinho tinto	11
	III.4 – Teste cardiopulmonar	12
	III.5 – Registro eletrocardiográfico	13
	III.6 – Exame ecocardiográfico	13
	III.7 – Biometria dos animais	15
	III.8 – Sobrevivência	16
	III.9 – Análise estatística	16
IV	Resultados	17
	IV.1 – Peso dos animais	17
	IV.2 – Teste cardiopulmonar	19
	IV.3 – Eletrocardiograma	22
	IV.4 – Ecocardiograma	25
	IV.5 – Peso dos órgãos	33
	IV.6 – Sobrevivência	38
V	Discussão	43
VI	Conclusão	52
VII	Perspectivas	53
VIII	Referências bibliográficas	54

LISTA DE ABREVIATURAS

ECO – ecocardiograma

ECG – eletrocardiograma

ET-1 – endotelina-1

EVT – extrato de vinho tinto

FC – frequência cardíaca

HAP – hipertensão arterial pulmonar

HVD – hipertrofia ventricular direita

MCT – monocrotalina

ND – não determinado

ON – óxido nítrico

ONS – óxido nítrico sintase

PA – pressão arterial

PC – peso corporal

Pul – pulmões

SÂQRS – eixo médio de despolarização ventricular

TCP – teste cardiopulmonar

VD – ventrículo direito

VE – ventrículo esquerdo

VO₂máx – consumo máximo de oxigênio

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** ESTRUTURA QUÍMICA DOS FLAVONÓIDES.....5
- FIGURA 2.** RESUMO DO PROTOCOLO EXPERIMENTAL..... 10
- FIGURA 3.** LAUDO TÉCNICO ANALÍTICO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO VINHO TINTO UTILIZADO..... 11
- FIGURA 4.** EVOLUÇÃO DO PESO DOS ANIMAIS AO LONGO DO PROTOCOLO EXPERIMENTAL..... 18
- FIGURA 5.** TEMPO SUPORTADO DE TESTE CARDIOPULMONAR DOS ANIMAIS 21 DIAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA.....20
- FIGURA 6.** CONSUMO MÁXIMO DE OXIGÊNIO DOS ANIMAIS APÓS 21 DIAS DA ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA..... 21
- FIGURA 7** REPRESENTAÇÃO ESPACIAL DOS VALORES DE DI E AVF DOS ANIMAIS 22-23 DIAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA... 23
- FIGURA 8.** EIXOMÉDIO DE DESPOLARIZAÇÃO VENTRICULAR..... 24

FIGURA 9. RELAÇÃO PESO DO VENTRÍCULO DIREITO/PESO CORPORAL DOS ANIMAIS 23 DIAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA...	34
FIGURA 10. RELAÇÃO PESO DO VENTRÍCULO DIREITO/PESO DO VENTRÍCULO ESQUERDO MAIS SEPTO INTERVENTRICULAR DOS ANIMAIS 23 DIAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA.....	36
FIGURA 11. RELAÇÃO PESO DO VENTRÍCULO ESQUERDO MAIS SEPTO INTERVENTRICULAR/PESO CORPORAL DOS ANIMAIS 23 DIAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA.....	37
FIGURA 12. RELAÇÃO PESO DO PULMÃO/PESO CORPORAL DOS ANIMAIS 23 DIAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA.....	38
FIGURA 13. RELAÇÃO PESO DO FÍGADO/PESO CORPORAL DOS ANIMAIS 23 DIAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA.....	39
FIGURA 14. PORCENTAGEM DE SOBREVIVÊNCIA DOS ANIMAIS DO GRUPO MONOCROTALINA.....	40
FIGURA 14. PORCENTAGEM DE SOBREVIVÊNCIA DOS ANIMAIS DO GRUPO TRATADO COM EXTRATO DE VINHO TINTO.....	41
FIGURA 15. PORCENTAGEM DE SOBREVIVÊNCIA DAS FÊMEAS DOS GRUPOS CONTROLE E TRATADO COM EXTRATO DE VINHO TINTO.....	42
FIGURA 16. PORCENTAGEM DE SOBREVIVÊNCIA DOS MACHOS DOS GRUPOS CONTROLE E TRATADO COM EXTRATO DE VINHO TINTO.....	43

LISTA DE TABELAS

TABELA 2. PARÂMETROS ECOCARDIOGRÁFICOS DAS ESTRUTURAS DOS CORAÇÕES DOS ANIMAIS 22-23 DIAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA CORRIGIDOS PESO CORPORAL..... 26

TABELA 3. PARÂMETROS ECOCARDIOGRÁFICOS FUNCIONAIS E CARACTERÍSTICAS DE FLUXO DOS ANIMAIS 22-23 DIAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE MONOCROTALINA..... 31

RESUMO

Introdução: Estudos epidemiológicos têm revelado uma relação inversa entre consumo de vinho tinto e morte cardiovascular. Nosso objetivo foi avaliar se o tratamento crônico com extrato de vinho tinto poderia impedir as alterações cardiovasculares associadas ao desenvolvimento da hipertensão arterial pulmonar induzida pela administração de monocrotalina, em ratos.

Métodos e Resultados: Ratos Wistar de ambos os sexos foram divididos em dois grupos: MCT (controle) e EVT (tratado por 4 semanas com 500

mg/kg/d de extrato de vinho tinto). Ambos os grupos receberam uma injeção de monocrotalina (50 mg/kg), uma semana após o início do tratamento com extrato de vinho tinto. Ao final do tratamento, os animais foram avaliados por ecocardiograma (ECO), teste de esforço cardiopulmonar (TCP) e eletrocardiograma (ECG), além da taxa de sobrevivência e peso dos órgãos. O grupo EVT apresentou maior ganho de peso corporal ($173,4 \pm 8,5$ vs $113,6 \pm 7,9$ g, $P < 0,001$) e maior consumo de oxigênio das fêmeas pelo TCP ($VO_2\text{máx } 50,2 \pm 2,98$ vs $24,0 \pm 4,1$ ml/kg/min, $P < 0,01$). O ECO revelou melhor função cardíaca direita das fêmeas EVT (débito sistólico: $0,202 \pm 0,019$ vs $0,107 \pm 0,007$ ml, $P < 0,01$), mas não dos machos. O grupo EVT apresentou menor comprometimento da geometria do ventrículo direito (VD), com menor espessura de parede do VD ($0,0059 \pm 0,0003$ vs $0,0092 \pm 0,0007$ mm/g, $P < 0,001$) e menor diâmetro interno do VD ($0,0176 \pm 0,0011$ vs $0,0219 \pm 0,0013$ mm/g, $P < 0,05$). O eixo médio de despolarização ventricular do grupo MCT estava deslocado para a direita, mas a diferença em relação ao grupo EVT não foi significativa. O grupo EVT apresentou ainda menor peso do VD ($0,0011 \pm 0,0001$ vs $0,0017 \pm 0,0001$, $P < 0,05$), e pulmões ($0,013 \pm 0,002$ vs $0,025 \pm 0,003$, $P < 0,01$), porém não do fígado. Por fim, observamos maior porcentagem de sobrevivência nas fêmeas do grupo EVT ($P < 0,01$), mas não nos machos.

Conclusão: O tratamento crônico com EVT é capaz de amenizar as alterações cardiovasculares patológicas que se seguem à administração de MCT. As fêmeas foram mais susceptíveis à insuficiência cardíaca direita induzida pelo MCT.

ABSTRACT

Introduction: Epidemiological studies have demonstrated an inverse relationship between red wine consumption and cardiovascular deaths. The aim of this study was to evaluate if the chronic treatment with red wine extract could inhibit cardiovascular alterations associated with the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats.

Methods and Results: Wistar rats from both genders were divided in two groups: MCT (control) and RWE (treated for 4 weeks with 500 mg/kg/d of

red wine extract). Both groups received an injection of monocrotaline (50 mg/kg), one week after the beginning of the treatment with red wine extract. At the end of the treatment, animals were evaluated by echocardiogram (ECO), electrocardiogram (ECG), cardiopulmonary stress test (CXT), organs weight and survival rate. The RWE group gained more weight (173.4 ± 8.5 vs 113.6 ± 7.9 g, $P < 0.001$) and higher oxygen consumption in CXT ($VO_2\text{máx } 50.2 \pm 2.98$ vs 24.0 ± 4.1 ml/kg/min, $P < 0.01$). Right cardiac function derangement was markedly attenuated by red wine treatment in female (systolic output: 0.202 ± 0.019 vs 0.107 ± 0.007 ml, $P < 0.01$), but not in male rats, as shown by ECO. We found smaller right ventricle (RV) wall-thickness (0.0059 ± 0.0003 vs 0.0092 ± 0.0007 mm/g, $P < 0.001$), and internal diameter (0.0176 ± 0.0011 vs 0.0219 ± 0.0013 mm/g, $P < 0.05$) in RWE group, showing that the geometry of the RV was less compromised in this group. Mean electrical axis of ventricular depolarization was shifted to the right in the MCT group, although no statistical difference was shown. RWE group showed smaller RV weight (0.0011 ± 0.0001 vs 0.0017 ± 0.0001 , $P < 0.05$) and lungs weight (0.013 ± 0.002 vs 0.025 ± 0.003 , $P < 0.01$). Liver weight was not different among groups. Higher survival rates were observed in females from RWE group ($P < 0.01$), but not in male.

Conclusion: chronic treatment with RWE can ameliorate the pathologic cardiovascular alterations that follow the administration of MCT. Female were more susceptible to right cardiac failure induced by MCT.

I – INTRODUÇÃO

I.1 – DOENÇAS CARDIOVASCULARES: ASPECTOS GERAIS

As doenças do sistema cardiovascular são a causa predominante de morte nos países industrializados. Nos Estados Unidos da América, no ano 2002, mais de 927.000 pessoas morreram por doenças do aparelho circulatório, o que corresponde à cerca de 38% de todas as mortes (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2005), valor próximo ao dobro do número de todos os tipos de câncer juntos. Cálculos do Departamento de Saúde e Serviços Humanos Norte-Americano estimam em 393,5 bilhões de dólares os gastos diretos e indiretos com doenças cardiovasculares para o ano de 2005.

No Brasil esse perfil não é diferente. As doenças do aparelho circulatório ocupam o primeiro lugar das causas de morte no país, sendo responsáveis por aproximadamente 33% das mesmas. Dados da Organização Mundial de Saúde relatam mais de 260.000 óbitos somente no ano 2000.

Muito tem sido feito na tentativa de alterar essa estatística. A mais importante contribuição para o conhecimento da patogênese da aterosclerose, entidade responsável pelos infartos e derrames, vem do Framingham Heart Study, desenvolvido desde o final da

década de 1940 pelo governo americano. Este grande estudo, que acompanha com exames seriados milhares de moradores da cidade de Framingham, no estado de Massachussets, identificou alguns dos principais fatores de risco, como por exemplo, o tabagismo (1960), o hipercolesterolemia (1961), a hipertensão (1961), a obesidade (1967), e o diabetes (1974).

Modernamente, acredita-se que os fatores de risco agem, através de diferentes mecanismos, causando injúria e disfunção endotelial. Este modelo foi chamado de hipótese de resposta à injúria (ROSS, 1993). Na disfunção endotelial está a gênese do processo aterosclerótico. A característica básica da disfunção endotelial é a quebra do equilíbrio entre os fatores produzidos pelo endotélio, necessário para o bom funcionamento vasomotor e para a manter pérvios os vasos sanguíneos.

I.2 - VINHO E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

A publicação de Leger e cols em maio de 1979, de uma relação inversa entre o consumo de bebidas alcoólicas e morte cardiovascular, despertou o interesse da comunidade científica dando início a um grande número de publicações sobre o assunto. Seus dados responsabilizavam o vinho por praticamente todo o efeito cardioprotetor das bebidas alcoólicas. Em seu trabalho Leger comparou a mortalidade por doença isquêmica do coração - mais prevalente subgrupo das doenças cardiovasculares - entre 18 países, e encontrou que os franceses possuíam a menor taxa, apesar da dieta comparável à dos outros países. Este achado foi nomeado de Paradoxo Francês.

Estudos epidemiológicos posteriores confirmaram os achados de Leger (RIMM e cols, 1991; DOLL e cols, 1994; FUCHS e cols, 1995; KANNEL & ELISON, 1996; KEIL e cols, 1997; THUN e cols, 1997; KITAMURA e cols, 1998; VALMADRID e cols, 1999), inclusive o projeto MONICA, da Organização Mundial da Saúde, de monitorização mundial das doenças cardiovasculares. Mais recentemente foi demonstrado que pacientes que possuíam o hábito de consumir doses moderadas de vinho apresentaram uma menor taxa de complicações pós-infarto agudo do miocárdio (DE LORGERIL e cols, 2002).

Identificar os mecanismos responsáveis pelo efeito benéfico do consumo de vinho tinto tem sido o objetivo de muitos pesquisadores. Alguns importantes mecanismos foram descritos. Os primeiros trabalhos se concentraram na inibição da reatividade plaquetária (RENAUD e cols, 1984; RENAUD & LORGERIL, 1992). Dentre os fatores hemostáticos, a agregabilidade plaquetária possui um papel crucial na trombose coronariana. Mais tarde, em 2002, Gaetano e cols, observaram efeito antitrombótico direto em diferentes modelos animais. Segundo Mansvelt e cols, também em 2002, um período de 28 dias de consumo de vinho acarreta redução na viscosidade da membrana de plaquetas, e alteração favorável em fatores fibrinolíticos plasmáticos, em humanos.

O vinho se mostrou eficaz em inibir o desenvolvimento de placas de ateroma em hamsters em um estabelecido modelo de aterosclerose, onde animais são alimentados por 10 semanas com uma dieta rica em gordura saturada para induzir a formação de células espumosas (VINSON, 2001).

Um dos efeitos mais estudados é o antioxidante (TEDESCO e cols, 2000; FOLGLIANO e cols, 1999; MIYAGI e cols, 1997; FRANKEL e cols, 1993). Em 2002, após testarem por 3 diferentes testes a capacidade antioxidativa de vinhos argentinos feitos com 3 tipos de uvas, Actis-Goreta e cols, concluíram que todos os tipos de vinho possuíam forte capacidade antioxidativa (de 70 a 100% de inibição) e que havia forte correlação com a quantidade de polifenóis presentes nos vinhos.

O vinho tinto possui grande quantidade de compostos polifenólicos, aos quais são atribuídos grande parte dos efeitos benéficos. Dentre os polifenóides os mais importantes são os flavonóides. Os flavonóides são um grupo de cerca de 4 mil compostos, onipresentes nos vegetais (CARLO e cols, 1999). São importantes para o crescimento, desenvolvimento e defesa normais das plantas, além de ser os responsáveis pela coloração e proteção ultra-violeta das mesmas, dentre outras funções (HARBONE & WILLIANS, 2000).

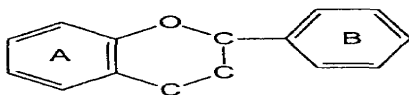


FIGURA 1. Estrutura química dos flavonóides. Modificado de Carlo, 1999.

O resveratrol, polifenol extensivamente investigado desde que encontrado no vinho, se mostrou capaz de exercer diferentes ações biológicas. Além de atividade antiinflamatória atribuída a inibição da ciclooxigenase-1 (JANG, 1997), estão listadas também as capacidades de proteger corações de ratos da injúria de isquemia e reperfusão (RAY e cols, 1999), anticancerígena (UENOBE, 1997; JANG e cols, 1997), além do interessante achado de Howitz e cols, da capacidade de aumentar o tempo de sobrevivência celular em 70%.

O vinho, quando comparado a outras fontes de polifenóis, é especial por vários motivos. Primeiro, o resveratrol e alguns outros polifenóis, são praticamente ausentes nas frutas e vegetais comumente consumidos, sendo o vinho praticamente a única fonte de obtenção destes compostos. Segundo, os processos envolvidos em sua produção enriquecem a quantidade de polifenóis. A composição química do vinho, entretanto, é profundamente alterada por fatores como o tipo de uva do qual é feito, o cultivo da uva, o tipo de vinho, a técnica utilizada na sua produção e as condições gerais do plantio, como incidência de luz solar e pragas (FRÉMONT, 2000). O fator determinante parece ser o tempo de fermentação em contato com as cascas das uvas, já que os polifenóis são produzidos pela casca e não pela polpa do fruto. Isso explica as baixas concentrações nos vinhos brancos. Somando-se a isso, o conteúdo alcoólico, resultado do processo de fermentação, possibilita enriquecimento ainda maior quantidade total de polifenóis, além de melhor solubilizá-los, resultando em maior biodisponibilidade (VRHOVSEK e cols, 1997).

Em dezembro de 2001, Corder e cols descreveram um novo efeito do vinho tinto. Ao testar 23 extratos de vinhos tinto, 4 extratos

de branco, um de rose e um de suco de uva, observaram que somente os extratos de vinhos tinto tinham a capacidade de inibir a síntese de endotelina-1 (ET-1) em células endoteliais da artéria aorta de boi.

A ET-1 foi originalmente descrita como um potente peptídeo vasoconstrictor (YANAGISAWA e cols, 1988). O aumento de sua produção é visto como fator chave para o desenvolvimento de doenças vasculares como a aterosclerose (CORDER, 2001) e a hipertensão arterial pulmonar (HAP) (MICHEL e cols, 2003).

Níveis plasmáticos aumentados de ET-1 foram reportados em pacientes com HAP (STEWART e cols, 1991) e apresentaram correlação com a extensão da doença (CODY e cols, 1992). Miyauchi e cols, em 1993, demonstraram claramente a contribuição da ET-1 para a progressão da hipertensão arterial pulmonar induzida quimicamente pela administração de monocrotalina (MCT) em ratos. Esse dado foi confirmado por outros pesquisadores ao inibirem o desenvolvimento da HAP em ratos tratados com antagonistas do receptor de ET (HILL e cols, 1997, YUYAMA e cols, 2004; NISHIDA e cols, 2004; NISHIDA e cols, 2004).

I.3 – O MODELO EXPERIMENTAL

Uma única injeção de MCT, alcalóide presente na semente da leguminosa *Crotalaria spectalaria*, produz HAP em ratos (HAYASHI e cols, 1967). Lesão das células endoteliais da vasculatura pulmonar, levando a aumento da permeabilidade capilar assim como edema alveolar e intersticial são induzidas após a injeção inicial, e afetam as artérias pulmonares de pequeno e médio calibres. Subseqüente remodelamento vascular ocorre por degeneração e hiperplasia endotelial, hipertrofia muscular da camada média das artérias pulmonares, neomuscularização de artérias não-musculares distais, e proliferação do tecido conectivo perivascular (MERKOW e cols, 1966; MEYRICK e cols, 1980; GHODSI e cols, 1981; BRUNER e cols, 1983; ROTH, 1991).

Para investigar a possível relação entre a capacidade do vinho tinto inibir a síntese de endotelina e seus efeitos benéficos contra as doenças cardiovasculares, escolhemos um modelo experimental de doença cardiovascular no qual ocorresse aumento dos níveis de endotelina-1. O modelo de HAP quimicamente induzida pela aplicação do alcalóide MCT, produz aumento da pós-carga do ventrículo direito com conseqüente hipertrofia ventricular direita.

II – OBJETIVOS DO ESTUDO

II.1 – Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo foi avaliar se o tratamento crônico com extrato de vinho tinto poderia impedir as alterações cardiovasculares associadas à hipertensão arterial pulmonar induzida pelo alcalóide monocrotalina em ratos.

II.2 – Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da administração crônica de extrato de vinho tinto na capacidade funcional de ratos com hipertensão arterial pulmonar.
- Avaliar o efeito da administração crônica de extrato de vinho tinto sobre as alterações estruturais, funcionais e hemodinâmicas dos corações de ratos com hipertensão arterial pulmonar.

III – MATERIAIS E MÉTODOS

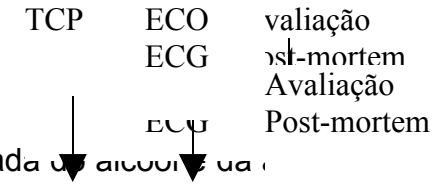
III.1 – Animais Experimentais

Foram utilizados ratos Wistar machos (n = 19) e fêmeas (n = 23) com idade inicial de cinco semanas, e peso médio de $76,1 \pm 1,7g$. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno, forradas com lascas de madeira esterilizada, em ambiente com temperatura entre 22° e 24°C e com ciclo claro/escuro natural, e possuíam ração e água *ad libidum*. Os grupos foram acompanhados no período setembro a dezembro de 2004. Foram respeitados os preceitos do “Guia para o Uso e Cuidado de Animais de Laboratório” (Publicação do NIH nº 85-23, revisada em 1985, USA).

III.2 – Protocolo Experimental

Todos os animais foram tratados com o alcalóide monocrotalina (MCT). O alcalóide foi administrado em dose única de 50mg/kg, via injeção intraperitoneal. A MCT foi dissolvida em solução salina PBS (Phosphate Buffered Saline) e o pH da solução ajustado para 7.4. Os animais foram separados em dois grupos: controle (MCT) e tratado com extrato de vinho tinto (EVT). Os animais pertencentes ao grupo EVT (8 fêmeas e 11 machos) foram tratados, durante 29 dias, com 500mg/kg/d de extrato de vinho tinto via gavagem (injetado diretamente no esôfago por meio de uma cânula introduzida pela cavidade oral). Todo o protocolo experimental está ilustrado na figura 2.

III.3 – Obtenção do Extrato de Vinho Tinto (EVT)



O extrato de vinho tinto foi obtido através do processo de liofilização (sublimação) para retirada da água, resultando em uma pasta espessa com forte odor e aparência de geléia. Optamos por utilizar extrato e não vinho para eliminarmos a influência do álcool. O vinho utilizado, disponível comercialmente em supermercados, era originário da região do Vale dos Vinhedos, Bento Gonçalves - RS, sendo composto de uvas Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir e Alicante Bouschet. A figura 3 mostra o laudo técnico analítico, com a composição do vinho tinto seco utilizado nos experimentos.

FIGURA 3. Composição do vinho tinto seco usado no tratamento do ratos. Laudo técnico analítico emitido pelo técnico responsável da Vinícola Miolo, localizada em Bento Gonçalves – RS.

LAUDO ANALITICO	
Miolo Seleção Tinto	
Vinho Tinto Seco Fino	
1 - Densidade (20°C).....	0,9957
2 - Grau Alcoólico (20°C).....	12,0 % vol
3 - Acidez Total (g/l em ácido tartárico)....	5,32 g/l
4 - Acidez Volátil(g/l em ácido acético).....	0,53 g/l
5 -Anidrido Sulfuroso Livre (g/l).....	0,040 g/l
6 -Anidrido Sulfuroso Total (g/l).....	0,086 g/l
7 -pH	3,80
8 -Açúcares reductores totais(g/l).....	2,49 g/l
9 -Taninos(mg/l).....	1.638 mg/l
10- Antocianos (mg/l)	406.87 mg/l
11- Índice de polifenóis totais (IPT)	0,561 mg/l
12- Cor: 420nm.....	0,317
13- Cor: 520nm.....	0,419
14- Cor: 620nm.....	0,094
15- Intensidade de cor.....	0,830
16- Extrato Seco Reduzido (g/l).....	22.92 g/l
17- Relação álcool extrato seco red.....	4,15
18- Exame Microbiológico:	Negativo
19- Exame Organoléptico :	Normal

De cada garrafa de 375 ml de vinho obtivemos aproximadamente 13 g de extrato. O extrato foi em seguida diluído em água destilada e conservado em geladeira comercial para posterior administração.

III.3 – Teste Cardiopulmonar (TCP)

Os testes foram conduzidos e analisados por um observador experiente, 21 dias após a administração do alcalóide monocrotalina. Os mesmos foram realizados em ambiente constante, com temperatura de 23° C. Visando à obtenção de dados que permitissem uma avaliação mais detalhada da capacidade funcional dos animais, realizamos a medida do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx). Os animais foram posicionados em uma esteira ergométrica contida numa câmara fechada (AccuScan Instruments, Model LC2/M, USA), conectada a um analisador de gases (Sable Systems FC-1B O₂ and CA-2A CO₂ Analyzers, USA). O fluxo de ar (entrada no analisador – saída da esteira) foi regulado para 680 m/min, fazendo com que ar ambiente alimentasse a câmara com mesma taxa. Na parte posterior da esteira uma grade de choque foi utilizada para estimulação à corrida. A estimulação variava de 0 a 2 mA. Os dados foram armazenados digitalmente para posterior análise.

O protocolo consistiu em um período de adaptação ao ambiente da esteira de 3 min, seguido de incrementos na velocidade de 2.5 cm/s a cada 3 min, a partir de uma velocidade inicial de 6.6 cm/s. A inclinação foi fixada em 10% durante todo o teste. Os testes eram interrompidos quando da incapacidade dos animais de continuar a correr apesar da estimulação elétrica máxima – 2 mA.

III.4 – Registro Eletrocardiografico (ECG)

O registro eletrocardiográfico foi realizado entre o 22º e o 23º dias após a administração do alcalóide. Após anestesia com éter os animais foram posicionados em decúbito dorsal e conectados ao eletrocardiógrafo (Cardimax FX-2111 – Fukuda Denshi) através de eletródios subcutâneos inseridos nos membros para obtenção dos registros nas seis derivações clássicas dos membros DI, DII, DIII, aVR, aVL e AVF. O posicionamento dos animais foi rigorosamente padronizado para diminuirmos a variabilidade dos registros. O aparelho foi calibrado para a velocidade de 25 mm/s e voltagem de 20 mm = 1 mV. O eixo médio de despolarização ventricular (SÂQRS) foi calculado com o software *Excel* (Microsoft), utilizando-se a amplitude do complexo QRS nas derivações DI e aVF, e as seguintes fórmulas: $90 - (\text{GRAUS}(\text{ATAN}(\text{DI}/\text{aVF})))$, se aVF fosse positiva; $180 + (\text{GRAUS}(\text{ATAN}(\text{aVF}/\text{DI})))$, se DI negativo e aVF negativo; e $(\text{GRAUS}(\text{ATAN}(\text{aVF}/\text{DI})))$, se DI positivo e aVF negativo.

III.5 – Exame Ecocardiográfico (ECO)

Os exames foram conduzidos e avaliados por um observador experiente, 22 a 23 dias após a administração de monocrotalina. Sob anestesia (quetamina/xilazina: 80/20 mg/kg, ip), os animais foram tricotomizados na região do tórax, e posicionados em decúbito lateral, visando à aquisição das imagens.

Para tanto foi utilizado um ecocardiograma bidimensional com Doppler (Esaote, modelo Caris Plus, USA), com transdutor de 10 MHz.

A análise da função ventricular esquerda e das dimensões cavitárias de ambos os ventrículos foram avaliadas por imagens obtidas em modo bi e unidimensional, respectivamente. O corte empregado para análise dos diâmetros e da função ventricular esquerda foi o paraesternal tranverso ao nível da musculatura papilar. As medidas de espessura da parede e diâmetro do ventrículo direito foram adquiridas no eixo paraesternal curto logo abaixo do nível da valva aórtica. Todos os valores expressos no que tange às mensurações cavitárias foram corrigidos pelo peso corporal dos animais.

A integral de velocidade, o tempo de aceleração e o tempo de ejeção dos fluxos aórtico e pulmonar foram obtidos com a técnica de

Doppler pulsátil. Para tanto, empregamos os corte apical 5 câmaras para detecção da amostra de fluxo aórtico e o corte paraesternal transverso ao nível da válvula aórtica para obtenção da amostra do fluxo pulmonar.

O débito sistólico do ventrículo esquerdo foi determinado multiplicando-se a integral do fluxo aórtico pelo diâmetro da via de saída do ventrículo esquerdo. De maneira equivalente, o débito sistólico direito correspondeu ao produto da integral de fluxo pulmonar pelo diâmetro da via de saída do ventrículo direito.

Todos os cortes e medidas foram realizados de acordo com o padrão da Sociedade Americana de Ecocardiografia e descrito por Sanh e cols (1978).

Todas as medidas foram adquiridas em triplicatas, sendo posteriormente calculados os valores médios que estão representados nas tabelas sob a forma de média \pm erro padrão.

III.6 – Biometria dos animais

O peso corporal e dos órgãos foram obtidos em balança digital (Marte, modelo A500, precisão de 0,01g). Todos os animais foram pesados semanalmente. Ao final do protocolo experimental, logo após a realização dos exames eco e eletrocardiográficos, os animais,

sob anestesia (éter), foram sacrificados por deslocamento cervical, para retirada dos pulmões, fígado e coração. Os pulmões e o fígado foram pesados inteiros, enquanto o coração foi dissecado em ventrículo direito (VD) e ventrículo esquerdo mais septo interventricular (VE+Septo).

O peso do fígado foi dividido pelo peso corporal e utilizado como índice de congestão venosa. O peso dos pulmões também foi dividido pelo peso corporal e utilizado como índice de processo inflamatório pulmonar. O peso do ventrículo direito foi relacionado ao peso corporal e ao peso do ventrículo esquerdo mais septo interventricular, sendo usado como índice de hipertrofia ventricular direita.

III.7 – Sobrevivência

Todos os animais foram acompanhados durante todo o protocolo experimental quanto ao dia e causa, se natural ou sacrifício, da morte.

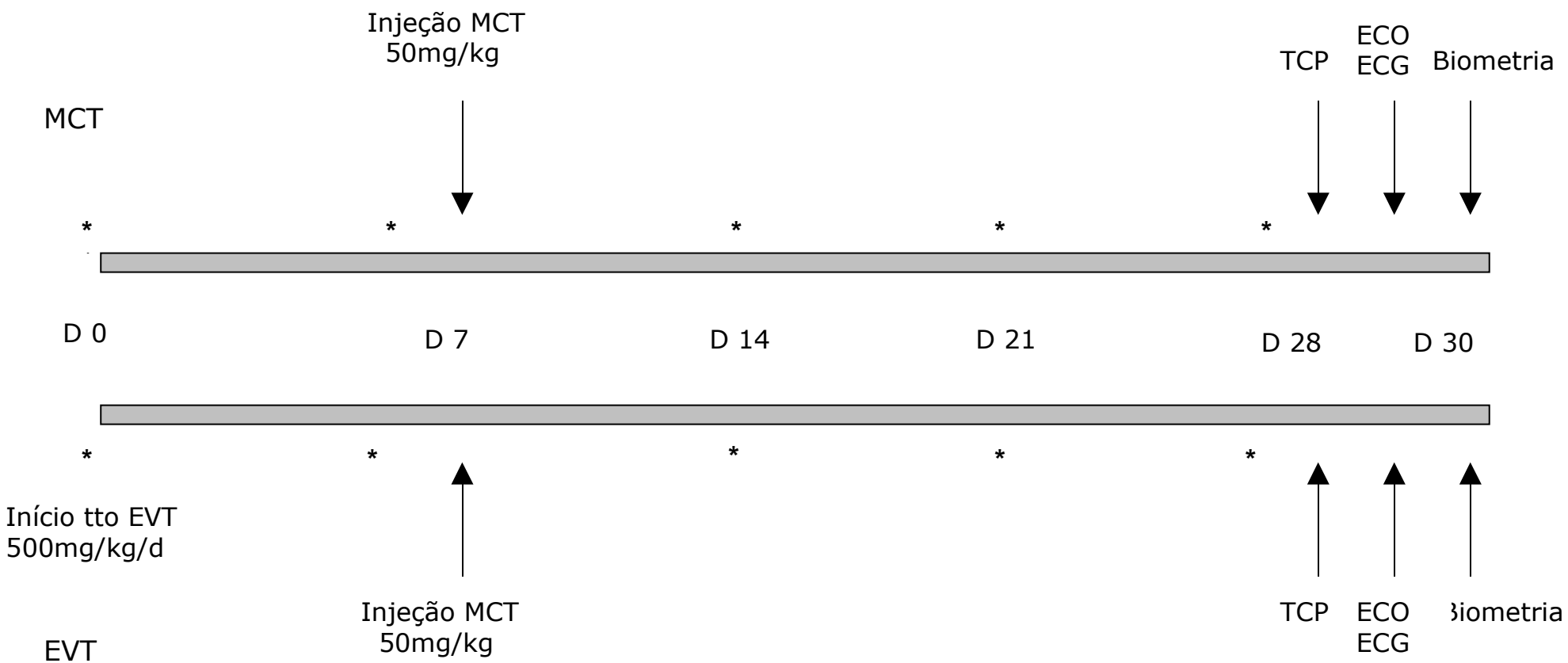
3.8 – Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com o software *Prism* v 4.0 (Graphpad Software). Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média. Valores de $P < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos. Diferenças entre os grupos e entre os sexos foram analisadas por 2way ANOVA, com pós-teste de Bonferroni.

A análise do peso corporal foi realizada também por 2way ANOVA.

As curvas de sobrevivência foram analisadas por Logrank Test.

A análise do ECG foi realizada com o software *Instat* (Graphpad Software) por teste de Fisher.



* pesagem semanal

FIGURA 2. Protocolo experimental. D = dias. MCT = monocrotalina. EVT = extrato de vinho tinto. tto = tratamento. TCP = teste cardiopulmonar. ECG = eletrocardiograma. ECO = ecocardiograma.

IV – RESULTADOS

IV.1 – Peso corporal

As figuras 4 e 5 mostram a evolução do peso corporal dos animais fêmeas e machos, repectivamente, dos dois grupos experimentais ao longo do protocolo experimental.

No início do protocolo as animais pertencentes aos dois grupos apresentavam peso corporal similares (MCT $75,4 \pm 2,4$, N=23 vs EVT $77,5 \pm 1,9$ g, N=19). Os animais tratados com EVT, entretanto, ganharam mais peso ao longo do experimento. A diferença entre os grupos se mostrou estatisticamente significativa na 3ª semana após a administração do alcalóide (MCT $122,9 \pm 8,465$, N=15 vs EVT $173,4 \pm 8,6$ g, N=17, $P < 0,01$). Os animais do grupo MCT apresentaram ganho de peso somente até a primeira semana após a aplicação do alcalóide, não ocorrendo diferença significativa entre os dias 7 e 14, nem 14 e 21. Já no grupo EVT o aumento de peso foi uma constante durante todo o período do protocolo experimental.

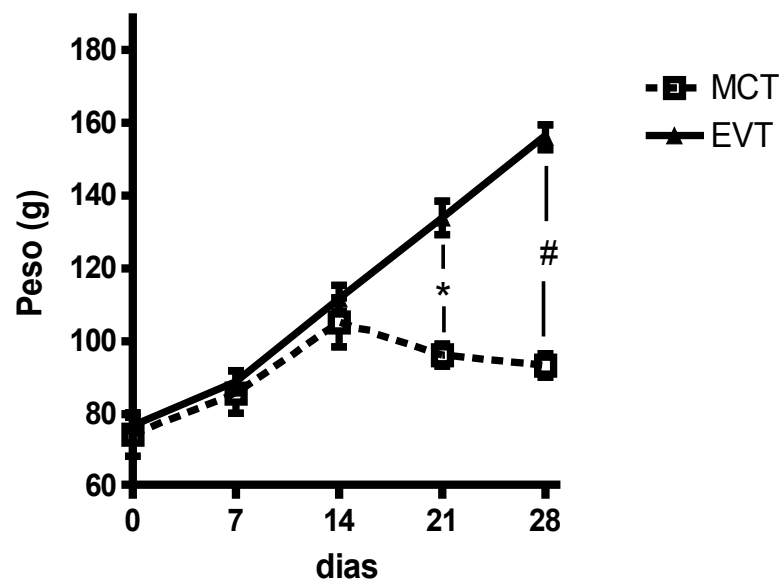


FIGURA 4. Evolução do peso das fêmeas ao longo do protocolo experimental. Note o constante ganho de peso dos animais do grupo EVT e a estagnação do grupo MCT a partir da segunda semana pós-aplicação da droga. * $P < 0,05$, MCT vs EVT, aos 21 dias. # $P < 0,001$.

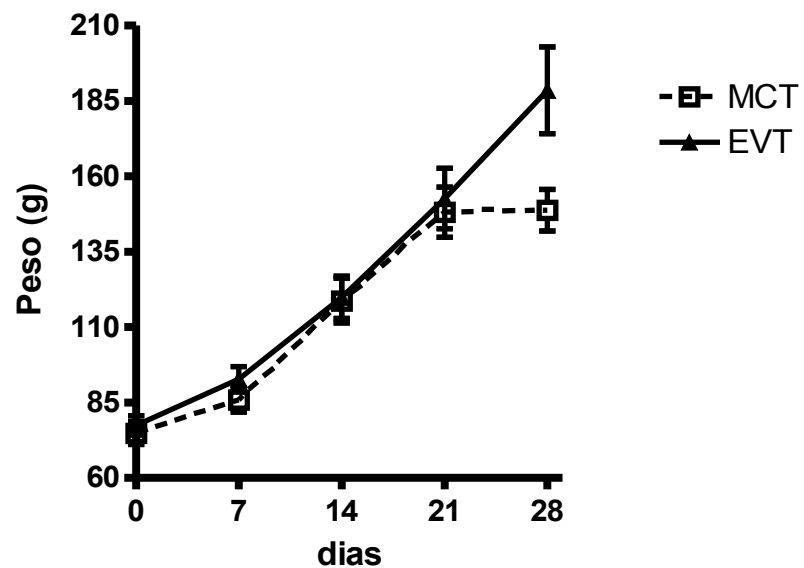


FIGURA 5. Evolução do peso dos machos ao longo do protocolo experimental. Note o surgimento de diferença, não estatisticamente significativa, na terceira semana pós-aplicação da monocrotalina.

IV.2 – Teste cardiopulmonar

O teste de esforço cardiopulmonar, ou teste ergoespirométrico, largamente utilizado na clínica, é um teste não invasivo que fornece, através de medida direta do gás expirado, uma série de informações sobre variáveis ventilatórias. Muitas questões da função cardiovascular e respiratória ficam sem resposta na sua ausência. É considerado o exame de escolha na avaliação do prognóstico e

determinação da classe funcional de pacientes com insuficiência cardíaca (WEBER & JANICKI, 1985; NYHA, 1994).

Escolhemos para análise as variáveis: tempo de teste e consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx).

Tempo de teste

A figura 5 mostra a duração média dos testes. Todos os teste foram máximos, ou seja, realizados até a exaustão do animal. Na comparação entre os grupos, independente do sexo, observamos que os animais do grupo EVT foram capazes de resistir a um maior tempo de teste em relação ao grupo MCT ($38,7 \pm 2,6$ vs $23,4 \pm 4,8$ min, $P < 0,0001$). As fêmeas foram as responsáveis por essa diferença, tendo sido a duração do teste das tratadas com EVT mais de 4 vezes maior que as do grupo MCT (EVT: $45,5 \pm 4,7$ vs MCT: $8,0 \pm 1,8$ min, $P < 0,001$).

Houve diferença significativa ainda quando comparados os tempos dos testes das fêmeas e machos do grupo MCT. As fêmeas resistiram a um tempo menor de teste ($8,0 \pm 1,8$ vs $36,3 \pm 3,1$ min, $P < 0,01$).

O tempo de teste nos dá uma idéia da resistência física do animal, e permite uma estimativa da capacidade funcional, sendo entretanto o VO_2 máx a variável fisiológica de escolha para esta avaliação.

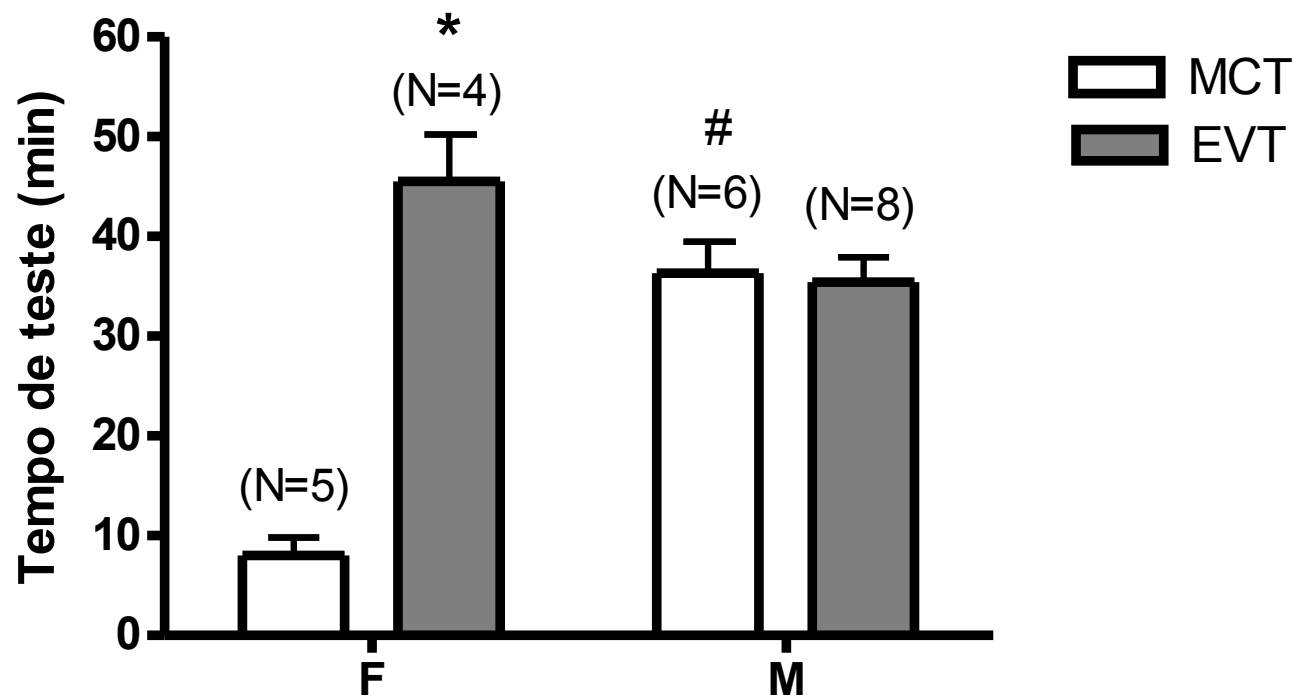


FIGURA 5. Tempo de teste. Note o maior tempo suportado de teste de esforço nas fêmeas tratadas com EVT em relação às do grupo MCT, e o maior tempo suportado pelos machos do grupo MCT quando comparados às fêmeas do mesmo grupo. * $P < 0,001$, em relação às fêmeas MCT, # $P < 0,01$, em relação às fêmeas MCT.

Consumo máximo de oxigênio

A figura 6 apresenta os dados referentes ao VO_2 máx dos animais. O comportamento observado da variável VO_2 máx foi igual ao do tempo de teste. As fêmeas do grupo EVT apresentaram maior VO_2 máx quando comparadas às fêmeas do grupo MCT ($50,24 \pm 2,98$ vs $23,99 \pm 4,11$ ml.kg⁻¹.min⁻¹, respectivamente, $P < 0,01$). A diferença entre o VO_2 máx dos machos dos grupos MCT e EVT ($55,86 \pm 3,00$ vs $43,31 \pm 5,87$ ml.kg⁻¹.min⁻¹), se aproximou da significância estatística ($P = 0,0625$). Os machos do grupo MCT apresentaram maior VO_2 máx na comparação com as fêmeas do mesmo grupo ($43,31 \pm 5,87$ vs $23,99 \pm 4,11$ ml.kg⁻¹.d⁻¹, $P < 0,05$).

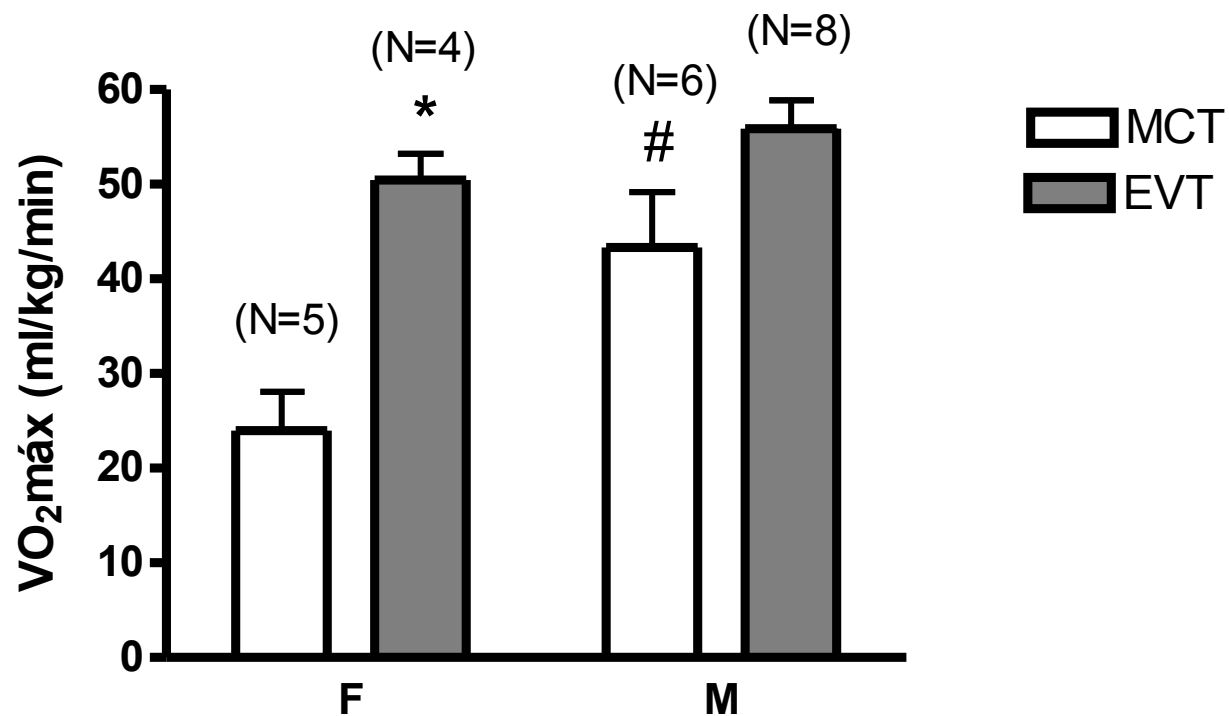


FIGURA 6. Consumo máximo de oxigênio. Segue o mesmo padrão do tempo de teste sendo maior o das fêmeas do grupo EVT que às do grupo MCT, e maior dos machos MCT em relação às fêmeas MCT. *P<0,01, em relação às fêmeas MCT, e #P<0,05 também em relação às fêmeas MCT.

IV.3 – Eletrocardiograma

O exame eletrocardiográfico é uma das formas de se registrar a atividade elétrica do coração. O registro obtido representa os

eventos elétricos de todo conjunto de células. Entretanto, apesar da despolarização dos ventrículos ocorrer simultaneamente, há normalmente um predomínio da massa muscular esquerda em relação à direita, o que faz com que o eixo médio de despolarização ventricular (SÂQRS) aponte para a esquerda (entre 0° e 90°). Estados patológicos que levam à hipertrofia da massa muscular do VD alteram o SÂQRS, desviando-o para a direita.

A comparação do SÂQRS foi realizada de maneira particular. Como descrito anteriormente (OLIVARES, 2002), excluímos os animais que apresentaram eixo anômalo (entre 0° e -90°). Este fato diminuiu nosso número de animais avaliados levando-nos a realizar a comparação entre os grupos somente de maneira independente do sexo.

A figura 7 mostra os valores de DI e aVF de cada animal avaliado. A análise estatística revelou uma forte tendência a apresentar diferença significativa na comparação entre os grupos (P=0.0574). O simples aumento do número de animais avaliados, mesmo mantendo-se as mesmas proporções, seria capaz de indicar significância estatística.

Na figura 8 observamos que no grupo MCT a maioria dos animais (8 de 13 animais) apresentaram desvio do eixo elétrico para a direita, ou seja, SÂQRS maior que 90°, enquanto no grupo tratado com EVT, dos 7 animais avaliados apenas 1 possuía desvio para a

direita, estando os outros 6 com SÂQRS normal.

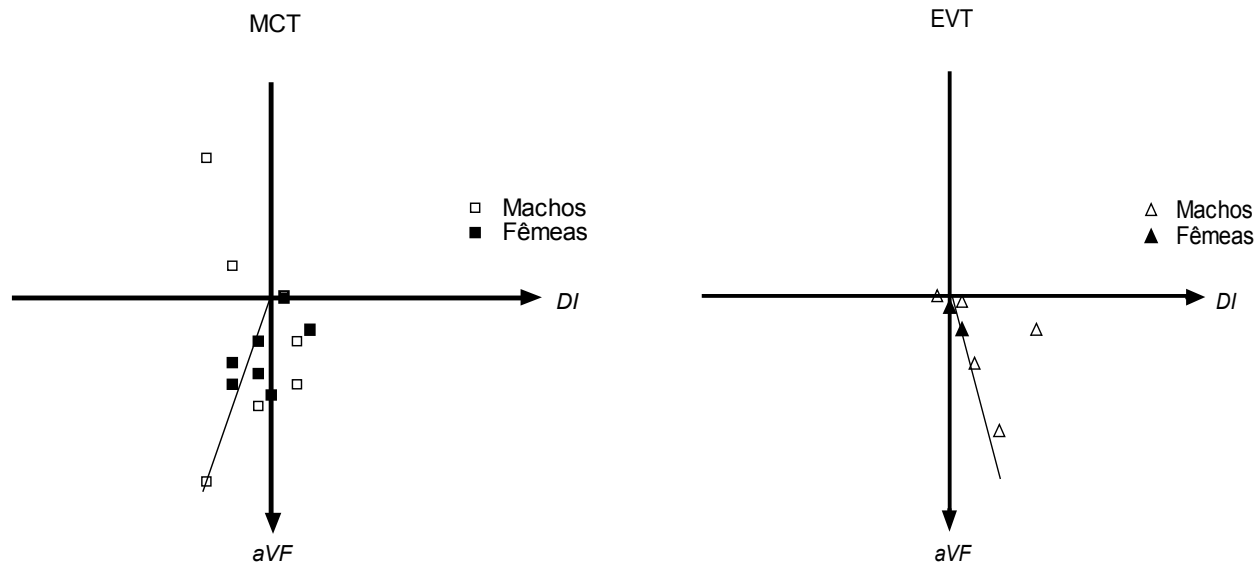


FIGURA 7. Representação espacial dos valores de DI e aVF de cada animal avaliado. As linhas representam o vetor médio de cada grupo.

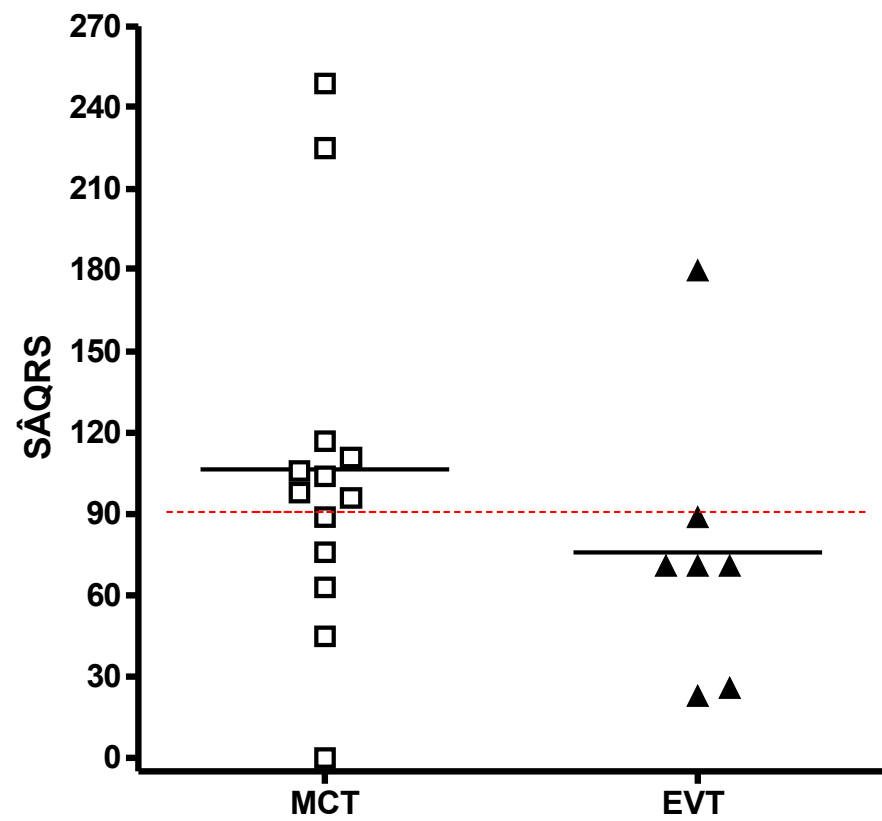


Figura 8. Valores do eixo médio de despolarização ventricular dos animais dos grupos MCT (N = 13) e EVT (N = 7). Note que o SÂQRS se encontra acima de 90° na maioria dos animais do grupo MCT (8 de 13), enquanto no grupo EVT apenas um animal apresentou ângulo maior que 90° , estando o restante (6 de 7) no 1º quadrante.

IV.4 – Ecocardiografia

Utilizando-se do princípio da reflexão do som, o ecocardiógrafo é capaz de produzir imagens das estruturas cardíacas em tempo real.

Todas as informações obtidas pelo exame ecocardiográfico estão expostas nas tabelas 1, e 2. Os dados referentes às estruturas

cardíacas encontram-se na tabela 1, corrigidos pelo peso corporal dos animais, dada a necessidade de correção devido à grande diferença de peso observada. Os dados referentes à função ventricular e às características do fluxo estão na tabela 2.

Estruturas cardíacas

Interessantes resultados foram obtidos com exame ecocardiográfico. Iniciaremos a descrição dos resultados pelas estruturas cardíacas esquerdas. As comparações abaixo descritas se referem aos valores corridos.

Espessura do septo interventricular em diástole

A espessura do septo interventricular apresentou-se menor nas fêmeas tratadas com EVT quando comparadas às não-tratadas ($0,0089 \pm 0,0007$ vs $0,0112 \pm 0,0005$ mm/g, $P < 0,05$). Não houve diferença entre os machos. As fêmeas do grupo MCT apresentaram maior espessura de septo interventricular quando comparadas aos machos do mesmo grupo ($0,0112 \pm 0,0005$ vs $0,0076 \pm 0,0005$ mm/g, $P < 0,0001$).

Espessura da parede posterior em diástole

Houve diferença significativa na espessura da parede posterior das fêmeas, estando menor nas do grupo EVT em relação às do grupo MCT ($0,0088 \pm 0,0006$ vs $0,0149 \pm 0,0018$ mm/g, $P < 0,001$). Observamos diferença também na comparação dentro do grupo MCT, estando maior nas fêmeas que nos machos ($0,0149 \pm 0,0018$ vs $0,0080 \pm 0,0005$ mm/g, $P < 0,0001$).

Diâmetro interno do ventrículo esquerdo

Não houve diferença significativa no diâmetro interno do VE em nenhuma comparação.

Diâmetro interno do átrio esquerdo

As fêmeas e os machos do grupo MCT apresentaram maior diâmetro interno no átrio esquerdo em relação aos seus pares do grupo EVT ($0,0281 \pm 0,0021$ vs $0,0178 \pm 0,0005$ mm/g, $P < 0,001$, e $0,0199 \pm 0,0006$ vs $0,0155 \pm 0,0009$ mm/g, $P < 0,01$, respectivamente). O diâmetro interno do átrio esquerdo das fêmeas do grupo MCT mostrou-se maior que o dos machos no mesmo grupo ($0,0281 \pm 0,0021$ vs $0,0199 \pm 0,0006$ mm/g, $P < 0,001$).

Diâmetro interno da aorta

O diâmetro interno da aorta se mostrou menor nas fêmeas e machos tratadas com EVT quando comparados aos seus controles no

grupo MCT ($0,0183 \pm 0,0006$ vs $0,0273 \pm 0,002$ mm/g, $P < 0,001$, e $0,0153 \pm 0,0008$ vs $0,0189 \pm 0,0004$ mm/g, $P < 0,05$, respectivamente). E maior nas fêmeas do grupo MCT quando comparadas aos machos do mesmo grupo ($0,0273 \pm 0,0024$ vs $0,0189 \pm 0,0004$ mm/g, $P < 0,0001$).

Espessura da parede do ventrículo direito

A espessura da parede do ventrículo direito corrigida pelo peso corporal mostrou-se significativamente menor nos machos e fêmeas tratadas com EVT quando comparadas àquelas que receberam somente MCT ($0,0057 \pm 0,0004$ vs $0,0079 \pm 0,0007$ mm/g, $P < 0,01$, e $0,0061 \pm 0,0004$ vs $0,0113 \pm 0,0006$ mm/g, $P < 0,001$, respectivamente). A espessura da parede do ventrículo direito das fêmeas do grupo MCT foi maior que a dos machos do mesmo grupo ($0,0113 \pm 0,0006$ vs $0,0079 \pm 0,0007$ mm/g, $P < 0,01$).

Diâmetro interno do ventrículo direito

O diâmetro interno do ventrículo direito se mostrou menor nos machos do grupo EVT em relação aos machos do grupo MCT ($0,0176 \pm 0,0011$ vs $0,0219 \pm 0,0013$ mm/g, $P < 0,05$). Ao contrário do que vinha ocorrendo na comparação dentro do grupo MCT com os

outros parâmetros, o diâmetro interno do ventrículo direito dos machos foi maior que a das fêmeas ($0,0219 \pm 0,0013$ vs $0,0157 \pm 0,0012$ mm/g, $P < 0,001$).

Diâmetro interno da pulmonar

O diâmetro interno da artéria pulmonar apresentou-se menor nos machos e fêmeas tratadas com EVT quando comparado aos não-tratados ($0,0151 \pm 0,0011$ vs $0,0241 \pm 0,0010$, $P < 0,001$, e $0,0172 \pm 0,0005$ vs $0,03248 \pm 0,0015$, $P < 0,001$, respectivamente). Na comparação entre fêmeas e machos do grupo MCT, encontramos maior diâmetro interno da artéria pulmonar nas fêmeas ($0,03248 \pm 0,0015$ vs $0,0241 \pm 0,0010$, $P < 0,0001$).

Função ventricular esquerda

Não houve diferença em nenhuma comparação dos parâmetros funcionais esquerdos fração de ejeção e fração de encurtamento. O débito sistólico esquerdo também não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Função ventricular direita

Débito sistólico do ventrículo direito

O débito sistólico do ventrículo direito das fêmeas tratadas com EVT foi maior que o das fêmeas que receberam somente a MCT ($0,202 \pm 0,019$ vs $0,107 \pm 0,007$ ml, respectivamente. $P < 0,05$). Não houve diferença significativa na frequência cardíaca dos ratos fêmeas durante o exame ecocardiográfico (MCT: 185 ± 13 vs EVT: 193 ± 12 bpm).

Características do Fluxo da Pulmonar

Tempo de aceleração da pulmonar

O tempo de aceleração da pulmonar (TAP) pode ser melhor avaliado através da sua normalização pelo tempo de ejeção da

pulmonar (TEP). A relação TAP/TEP mostra uma tendência a estar aumentado nos animais, tanto machos quanto fêmeas, do grupo EVT em relação ao grupo MCT ($0,289 \pm 0,037$ vs $0,209 \pm 0,040$, e $0,221 \pm 0,041$ vs $0,187 \pm 0,030$, respectivamente). Esta diferença, porém, não foi estatisticamente significativa.

Velocidade máxima da pulmonar

A velocidade máxima da pulmonar tendeu a estar aumentada nas fêmeas do grupo EVT em relação às do grupo MCT ($0,548 \pm 0,0405$ vs $0,415 \pm 0,0470$ cm/s), não sendo a diferença, entretanto, estatisticamente significativa.

IV.5 – Peso dos órgãos

Peso do coração

O peso do VD foi, para efeito de comparação, normalizado por duas técnicas diferentes: divisão pelo peso corporal (figura 9), e divisão pelo peso do VE + Septo (FIGURA 10). Das duas maneiras obtivemos um índice de hipertrofia ventricular direita.

Quando normalizado pelo peso corporal, o índice de VD apresentou menor valor nos animais tratados cronicamente com EVT, tanto nos machos ($0,00110 \pm 0,00018$ vs $0,00187 \pm 0,00033$, $P < 0,05$) quanto nas fêmeas ($0,00108 \pm 0,00016$ vs $0,00171 \pm 0,00010$,

P<0,05), quando comparados aos seus controles.

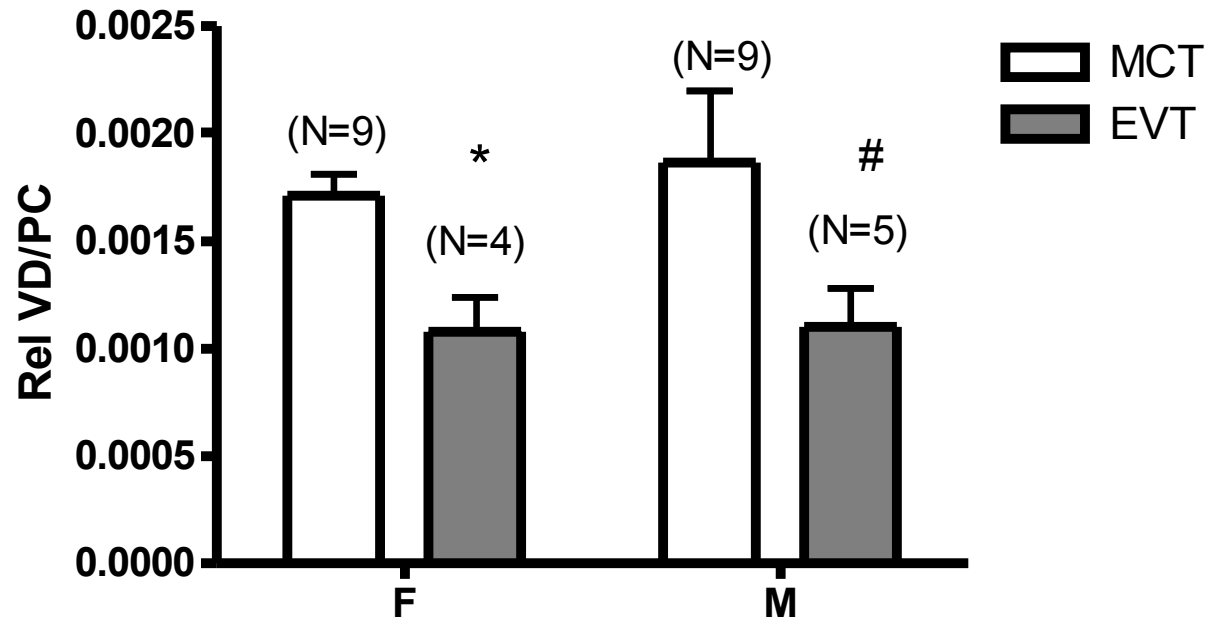


FIGURA 9. Relação peso úmido do VD/ Peso corporal. Note que os animais tratados com EVT, tanto machos quanto fêmeas, demonstraram menor índice de hipertrofia ventricular direita. *P< 0,05, na comparação com fêmeas MCT, e #P<0,05, na comparação com machos EVT.

Porém, quando normalizado pelo peso do VE + Septo, a diferença foi estatisticamente significativa apenas na comparação dos

machos EVT com os machos MCT ($0,44 \pm 0,04$ vs $0,62 \pm 0,06$, $P < 0,05$).

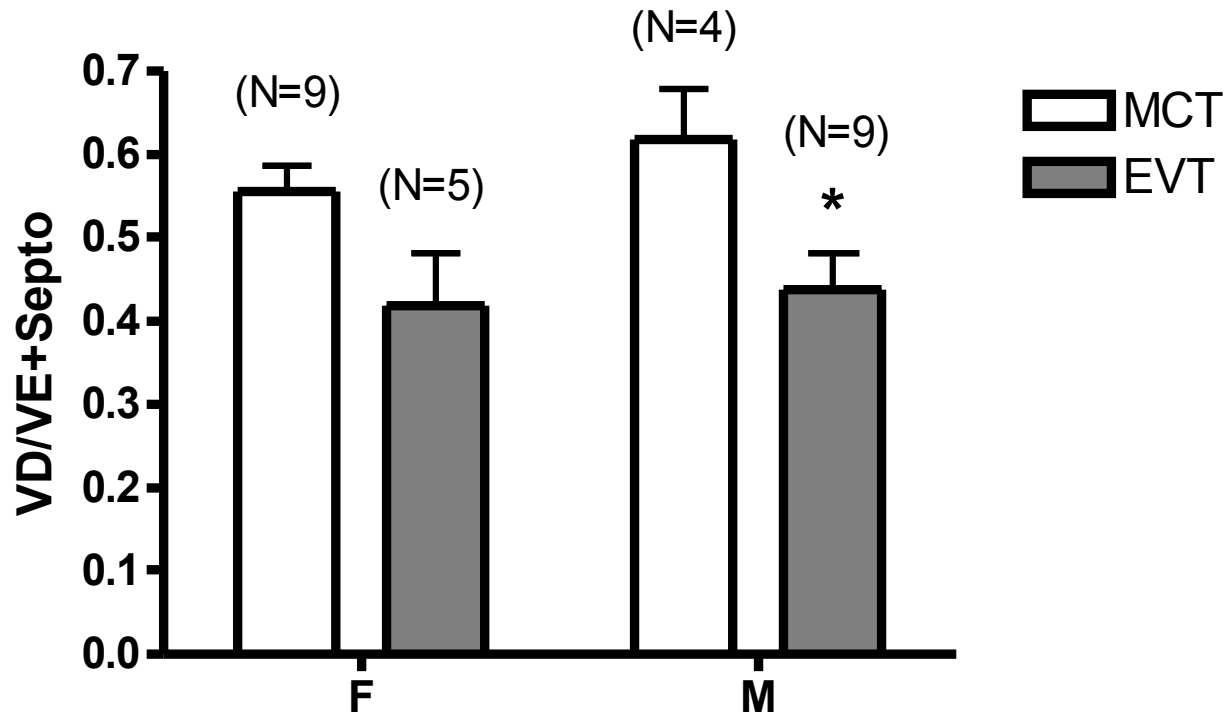


FIGURA 10. Relação peso úmido do VD/ peso úmido do VE + Septo. Observamos diferença estatisticamente significativa apenas nos machos. * $P < 0,05$, na comparação com machos MCT.

O índice do VE (VE + Septo/ PC), apresentou diferença na comparação entre os grupos MCT e EVT, porém não quando a comparação levou em consideração o sexo dos animais. O valor do índice do VE foi maior nos animais do grupo MCT quando

comparados aos do grupo EVT ($0,00305 \pm 0,00012$ vs $0,00258 \pm 0,00011$, $P < 0,05$).

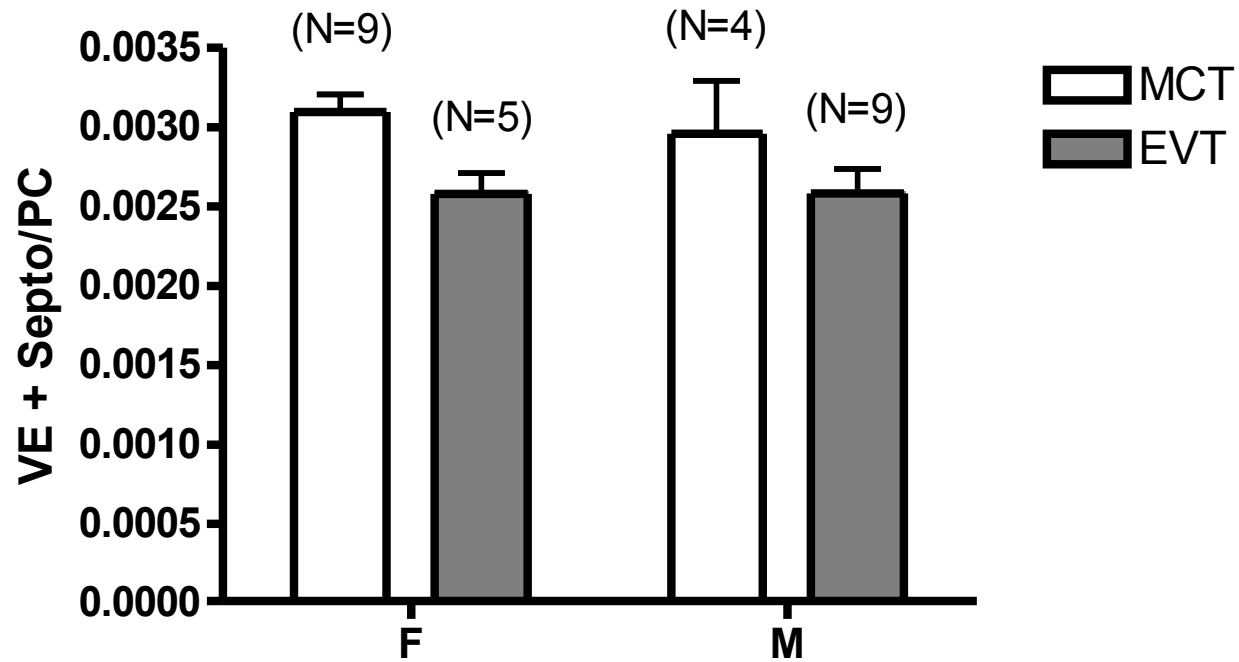


FIGURA 11. Relação peso úmido do VE + Septo/ Peso corporal. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na comparação dependente do sexo.

Peso dos pulmões

O índice dos pulmões (peso úmido dos pulmões dividido pelo peso corporal) indica a gravidade do processo inflamatório no

mesmo. Teoricamente, quanto mais severo o acometimento dos pulmões, maior o infiltrado inflamatório. Diferença significativa foi observada na comparação das fêmeas do grupo MCT com as fêmeas do grupo EVT, estando menor nas fêmeas tratadas com EVT ($0,0113 \pm 0,0007$ vs $0,0277 \pm 0,0022$, $P < 0,01$).

O índice dos pulmões dos machos tratados com EVT foi menor em relação aos não-tratados ($0,0133 \pm 0,0032$ vs $0,0188 \pm 0,0068$), porém não o suficiente para constatar diferença estatística.

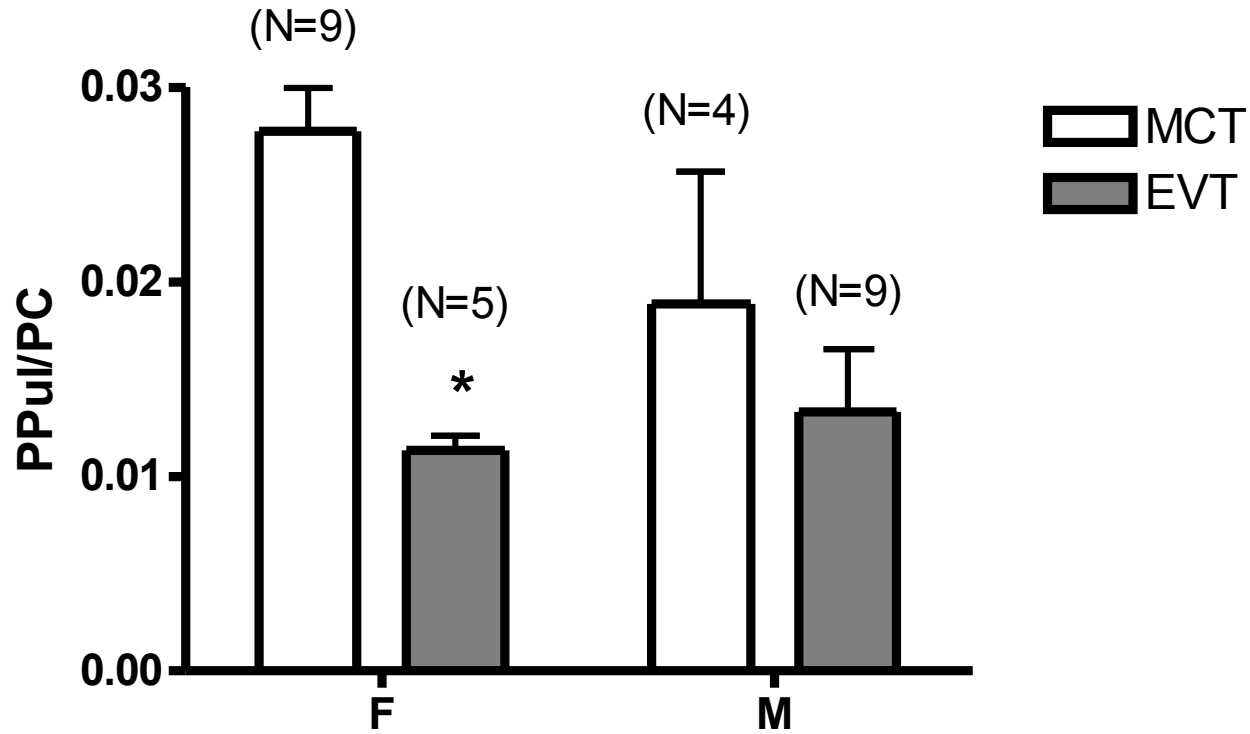


FIGURA 12. Índice do pulmão. Note o menor relação peso dos Pulmões/ Peso corporal, utilizado como índice de processo inflamatório pulmonar, nos animais tratados com EVT. A diferença foi, entretanto estatisticamente significativa somente nas fêmeas. *P<0.01, na comparação com fêmeas MCT.

Peso do fígado

Não houve diferença estatística nas comparações com o peso do fígado. O índice do fígado, porém, tende a ser maior no grupo MCT quando comparado ao grupo EVT ($0,0525 \pm 0,0016$ vs $0,0471 \pm 0,0018$).

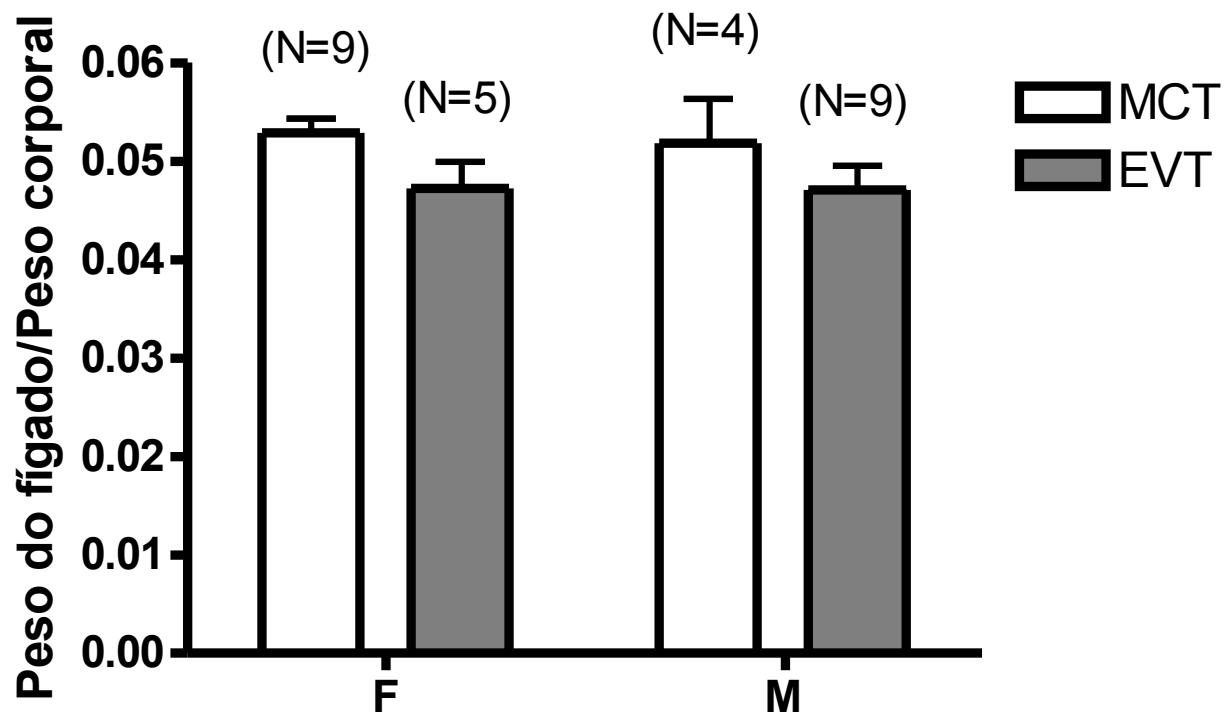


FIGURA 13. Relação peso úmido do fígado/ Peso corporal. Não observamos nenhuma diferença estatística.

IV.6 – Sobrevivência

A sobrevivência de portadores de HAP depende principalmente da capacidade de trabalho do ventrículo direito (CHIN, 2005).

A análise da sobrevivência, assim como dos outros itens, foi realizada considerando o sexo dos animais. Assim, ao compararmos dentro do grupo MCT as fêmeas com os machos, encontramos importante diferença ($P < 0,05$), sobrevivendo as fêmeas menos que os machos. O primeiro óbito das fêmeas ocorreu 10 dias após a administração da MCT. Todo o restante do grupo morreu durante o protocolo experimental, tendo as últimas 5 fêmeas morrido logo após o exame ecocardiográfico. A totalidade dos machos do grupo MCT, entretanto, resistiu até ao final do protocolo experimental, quando foram então sacrificados.

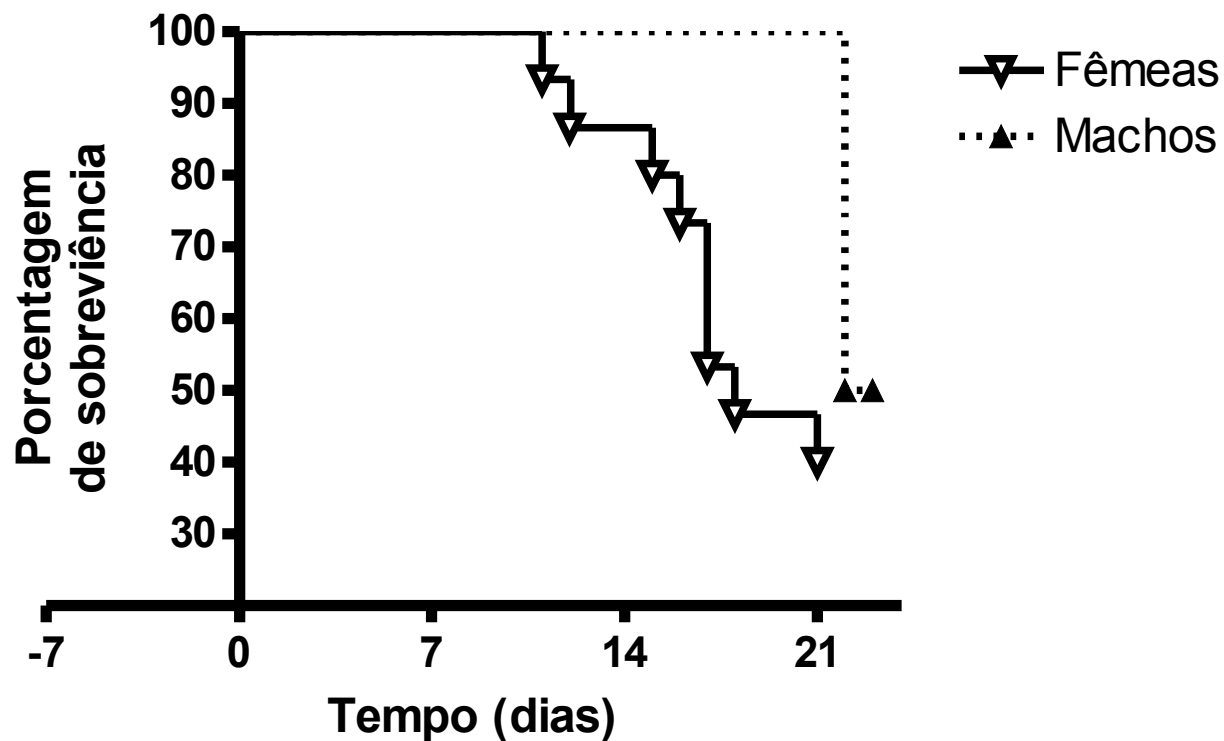


FIGURA 14. Porcentagem de sobrevivência no grupo MCT ($P < 0,05$). Note a maior mortalidade nos animais do gênero feminino.

O comportamento da sobrevivência comparando machos e fêmeas no grupo EVT foi diferente ao observado no grupo MCT. Não houve, no grupo EVT, diferença na porcentagem de sobrevivência entre machos e fêmeas.

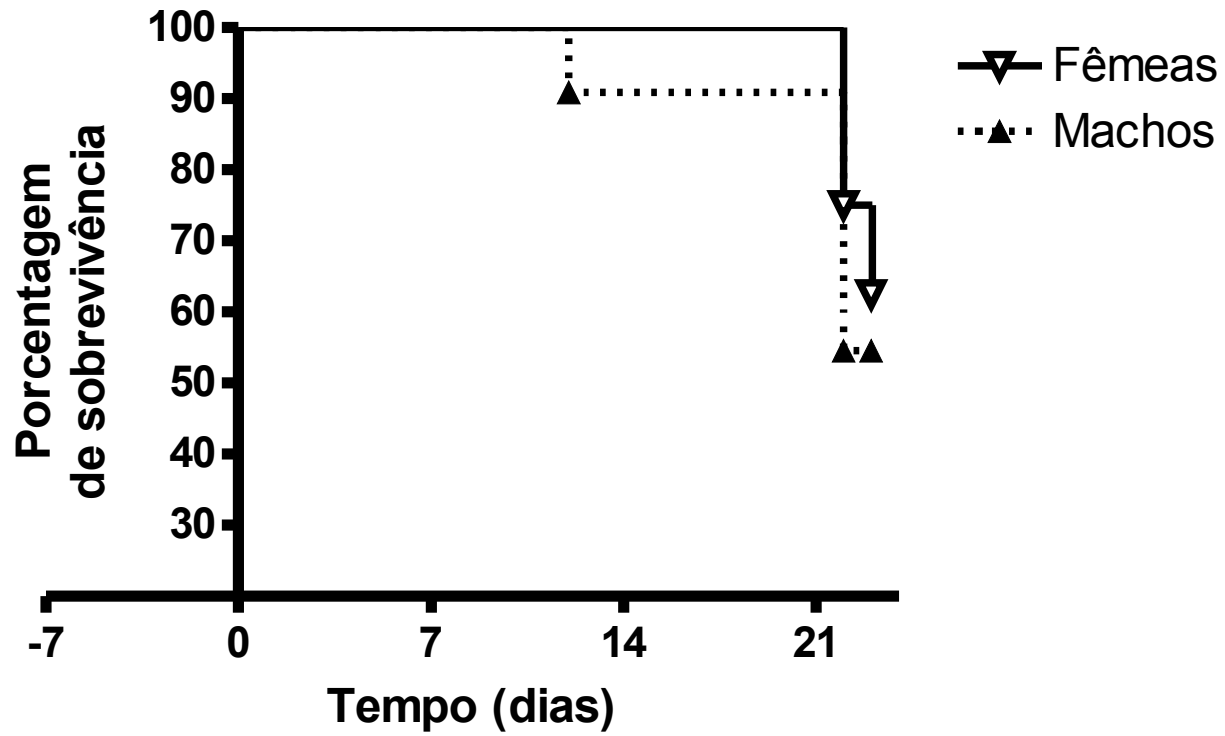


FIGURA 15. Porcentagem de sobrevivência no grupo EVT. Não há diferença estatisticamente significativa. Não observamos mais a maior mortalidade das fêmeas, como no grupo MCT.

Ao compararmos as fêmeas dos grupos MCT e EVT, observamos uma maior porcentagem de sobrevivência nas fêmeas do grupo EVT ($P < 0,01$). Todas fêmeas do grupo MCT morreram ao longo do protocolo experimental, sendo que as cinco que permaneceram vivas até o 23º dia pós administração do alcalóide, não resistiram ao plano anestésico e morreram logo após o termino do exame ecocardiográfico. Já no grupo EVT apenas três fêmeas morreram durante o protocolo, duas no 22º e uma no 23º dia pós injeção de MCT.

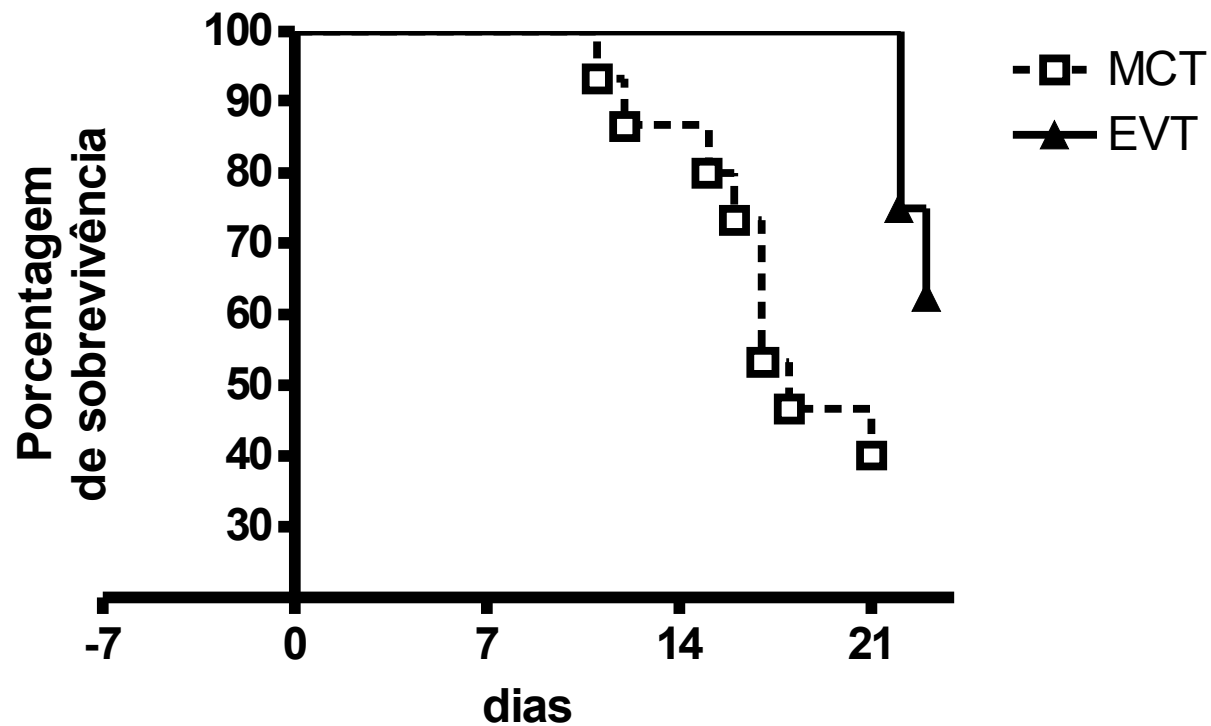


FIGURA 16. Comparação da porcentagem de sobrevivência entre as fêmeas dos grupos MCT e EVT ($P < 0,01$). Note que ao compararmos somente as fêmeas dos dois grupos, fica nítida a diferença na porcentagem de sobrevivência.

Não houve diferença na porcentagem de sobrevivência dos machos do grupo MCT quando comparados ao grupo EVT.

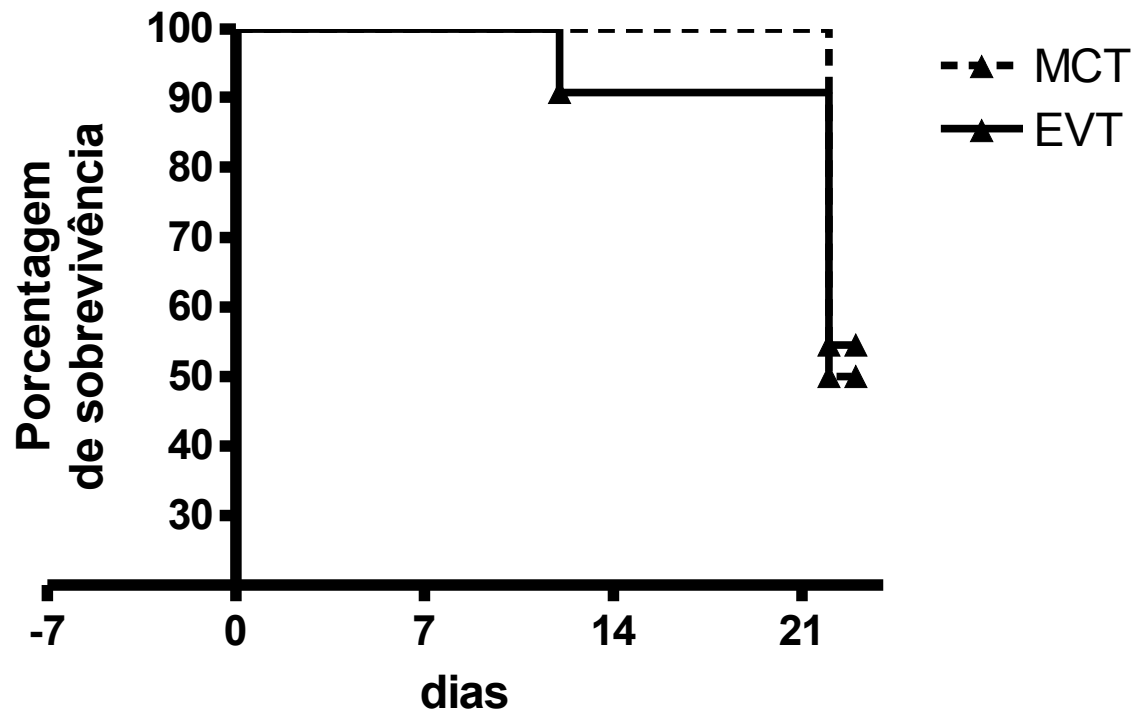


FIGURA 17. Comparação da porcentagem de sobrevivência entre os machos dos grupos MCT e EVT. Não observamos diferença estatisticamente significativa entre os machos dos dois grupos.

TABELA 1. Parâmetros ecocardiográficos das estruturas dos corações dos ratos dos grupos MCT e EVT.

Parâmetros	MCT		EVT	
	Fêmeas (N=5)	Machos (N=8)	Fêmeas (N=7)	Machos (N=9)
ESDc (mm/g)	0,0112 ± 0,0005	0,0077 ± 0,0005 ^{€€}	0,0089 ± 0,0007 ^{##}	0,00747 ± 0,0004
EPPDc(mm/g)	0,0149 ± 0,0017	0,0080 ± 0,0005 ^{€€}	0,0088 ± 0,0006 *	0,0076 ± 0,0004
DVEc (mm/g)	0,0320 ± 0,0076	0,0312 ± 0,0016	0,0370 ± 0,0012	0,0269 ± 0,0023
DAoc (mm/g)	0,0273 ± 0,0024	0,0189 ± 0,0004 ^{€€}	0,0183 ± 0,0006 *	0,0154 ± 0,0008 [#]
DAEc (mm/g)	0,0281 ± 0,0021	0,01999 ± 0,0006 *	0,0178 ± 0,0005 *	0,0199 ± 0,0006 [€]
DPc (mm/g)	0,0325 ± 0,0010	0,0241 ± 0,0010 ^{€€}	0,0171 ± 0,0005 *	0,0152 ± 0,0010 **
DVDc (mm/g)	0,0125 ± 0,0019	0,0219 ± 0,0012 *	0,0157 ± 0,00012	0,0176 ± 0,0011 [#]
EPVDc(mm/g)	0,0113 ± 0,0059	0,0079 ± 0,0007 *	0,0061 ± 0,0004 *	0,00574 ± 0,0004 [€]

ESDc = espessura do septo em diástole corrigida; EPPDc = espessura da parede posterior em diástole corrigida; DVEc = diâmetro diastólico final de VE corrigido; DAoc = diâmetro da aorta corrigido; DAEc = diâmetro interno do átrio esquerdo corrigido; DPc = diâmetro da pulmonar corrigido; DVDc = diâmetro do VD corrigido; e EPVDc = espessura da parede do VD corrigida. ^{##}P<0.05 em relação às fêmeas MCT; ^{€€}P<0.0001 em relação às fêmeas MCT, [€]P<0.01 em relação aos machos MCT; *P<0.001 em relação às fêmeas MCT; **P<0.001 em relação aos machos MCT; [#]P<0.05 em relação aos machos MCT.

Obs. Os números em parênteses indicam o número de animais avaliados.

TABELA 2. Parâmetros ecocardiográficos funcionais e características de fluxo dos ratos dos grupos MCT e EVT.

Parâmetros	MCT		EVT	
	Fêmeas (N=5)	Machos (N=8)	Fêmeas (N=7)	Machos (N=9)
FE (%)	82.73 ± 6.23	86.50 ± 4.46	88.00 ± 2.32	94.20 ± 1.19
Fenc (%)	48.53 ± 6.84	55.31 ± 4.61	50.86 ± 1.94	64.46 ± 2.40
DCVE (l/min)	ND	0.055 ± 0.008	0.036 ± 0.002	0.055 ± 0.005
DSVE (ml)	ND	0.193 ± 0.017	0.147 ± 0.024	0.175 ± 0.015
DCVD (l/min)	0.022 ± 0.003	0.057 ± 0.006	0.045 ± 0.002*	0.048 ± 0.004
DSVD (ml)	0.106 ± 0.006	0.202 ± 0.019	0.211 ± 0.032**	0.166 ± 0.018
TAP/TEP	0.187 ± 0.030	0.209 ± 0.040	0.221 ± 0.041	0.289 ± 0.037
Vmax (cm/s)	0.415 ± 0.0470	0.546 ± 0.0308	0.548 ± 0.0405	0.520 ± 0.0399

FE = fração de ejeção; Fenc = fração de encurtamento; DCVE = débito cardíaco de VE; DSVE = débito sistólico de VE; DCVD = débito cardíaco de VD; DSVD = débito sistólico de VD; TAP = tempo de aceleração da pulmonar; TEP = tempo de ejeção da pulmonar; Vmax = velocidade máxima da pulmonar; e ND = não determinado. *P<0.01 em relação às fêmeas MCT; **P<0.05 em relação às fêmeas MCT.

Obs. Os números em parênteses indicam o número de animais avaliados

V – DISCUSSÃO

Em nosso estudo, animais tratados cronicamente com EVT apresentaram melhor função cardiovascular, traduzida por diversos achados, discutidos a seguir.

Inicialmente constatamos que os animais tratados com EVT apresentaram ganho de peso corporal significativamente maior que aqueles que receberam somente a injeção de MCT. Essa diferença revelou significância estatística na terceira semana pós-administração do alcalóide ($173.4 \text{ g} \pm 8.57$ vs $113.6 \pm 7.91 \text{ g}$). Os animais do grupo controle ganharam peso somente na semana anterior à administração de MCT e na primeira semana pós-administração, sugerindo efeito anorexígeno da droga. Este achado é concordante com os de outros pesquisadores (MIYAUCH, 1993; KATO, 2003). Tal efeito parece ter sido inibido pelo tratamento com EVT, já que os animais do grupo EVT apresentaram ganho de peso durante todo o protocolo experimental. Outras tentativas de amenização dos efeitos tóxicos da MCT, que tiveram êxito em outros parâmetros, não foram capazes de inibir o efeito anorexígeno da droga. O tratamento com óleo de peixe, por exemplo, diminuiu os processos inflamatório e fibrótico nos pulmões e fígado, porém não foi capaz de aumentar o ganho de peso dos animais (BAYBUTT e cols, 2002). Também não foi observado aumento do peso corporal por tratamento com antagonistas do receptor de ET em relação àqueles não-tratados, apesar do comprovado êxito do tratamento (HILL e cols, 1997; NISHIDA e cols, 2004; YUYAMA e cols, 2004).

O primeiro teste realizado, o TCP, nos trouxe resultados animadores. Iniciando a análise pela variável tempo de teste, tivemos que as fêmeas tratadas com EVT quando comparadas às não-tratadas, suportaram por período maior o protocolo de incremento progressivo de carga do TCP ($45,5 \pm 4,7$ min vs $8,0 \pm 1,8$ min), mostrando maior resistência física. A capacidade funcional, determinada pelo VO_2 máx dos animais, também apresentou significativa diferença na comparação entre os grupos MCT e EVT. O padrão seguido foi o mesmo do tempo de teste, com as fêmeas do grupo EVT possuindo maior VO_2 máx que as fêmeas do grupo MCT (50.24 ± 2.98 ml/kg.min⁻¹ vs 23.99 ± 4.11 ml/kg.min⁻¹). O VO_2 máx dos machos tratados com EVT também foi maior que o dos não-tratados, com diferença próxima da significância estatística (55.86 ± 3.00 ml/kg.min⁻¹ vs 43.31 ± 5.87 ml/kg.min⁻¹). É provável que o simples aumento do número de animais da amostra seja capaz de apontar a diferença entre os grupos. A captação máxima de O_2 é considerado o melhor índice de capacidade aeróbica e função cardiorrespiratória máxima. Nenhuma outra medida de trabalho é tão precisa, confiável ou reprodutível (FROELICHER e cols, 1998). Portanto, nossos resultados sugerem que o tratamento com EVT melhorou a função cardiorrespiratória dos ratos com hipertensão arterial pulmonar direita.

Hemodinamicamente a captação de O_2 é o produto do débito cardíaco pela diferença arterio-venosa de O_2 . Admitindo-se que a capacidade de captação do O_2 pelo músculo é a mesma nos dois grupos experimentais, a diferença no VO_2 máx pode ser explicada por uma melhor função cardíaca. Não podemos descartar a hipótese de uma melhor função pulmonar estar corroborando para os resultados observados, já que foi verificado um menor índice dos pulmões nos animais tratados com EVT.

Não há na literatura uma padronização quanto ao protocolo a ser utilizado nos TCPs de ratos. Os protocolos variam grandemente em relação ao equipamento disponível e à espécie do rato a ser testado. Por esse motivo, e dada a deteriorização esperada da função cardiopulmonar pós-administração de MCT, desenvolvemos um protocolo propositalmente atenuado baseados em investigações anteriores (KAWAGUCHI e cols, 1992; MUSH e cols, 1988),

Em relação à geometria cardíaca, estudada através do exame ecocardiográfico, observamos diferenças tanto no lado direito como no esquerdo do coração. Começando pelo lado direito, observamos menor espessura da parede do VD dos machos e fêmeas tratadas com EVT em relação aos não-tratadas ($6,07 \pm 0,4185 \times 10^{-4}$ cm/g vs $11,29 \pm 0,5954 \times 10^{-4}$ cm/g). Este dado foi confirmado *post-mortem* pela pesagem dos corações dissecados, onde constatamos menor índice de VD, tanto nos machos quanto nas fêmeas ($11,00 \pm 1,803 \times 10^{-4}$ vs $18,66 \pm 3,334 \times 10^{-4}$, e $10,79 \times 10^{-4} \pm 1,604 \times 10^{-4}$ vs $17,11 \pm 0,9944 \times 10^{-4}$, respectivamente) e menor relação VD/VE + Septo nos machos (0.4377 ± 0.04404 vs 0.6179 ± 0.06103).

A ET-1 possui papel importante no processo de hipertrofia cardíaca provocada por fatores hemodinâmicos. A expressão de prepro-ET-1 no ventrículo esquerdo se mostrou aumentada (com pico em 24h) após cirurgia de coartação da aorta, em ratos, modelo de hipertrofia cardíaca (ITO e cols, 1994). No mesmo estudo, animais tratados com o antagonista de receptor de ET_A BQ123, apresentaram menor índice do VE e cardiomiócitos de menor diâmetro. Houve ainda, com o tratamento com BQ123, diminuição da expressão de α -

actina e ANP mRNA.

Ainda no lado direito do coração, verificamos menor diâmetro da cavidade ventricular direita nos machos do grupo EVT ($17,6 \pm 1,117 \times 10^{-4}$ cm/g vs $21,9 \pm 1,269 \times 10^{-4}$ cm/g), sugerindo prevenção de um possível quadro de dilatação ocorrido no grupo MCT. O diâmetro da pulmonar também foi menor, tanto nos machos quanto nas fêmeas, do grupo EVT ($15,18 \pm 1,066 \times 10^{-4}$ vs $24,10 \pm 0,9657 \times 10^{-4}$, e $17,16 \pm 0,5209 \times 10^{-4}$ vs $32,48 \pm 1,561 \times 10^{-4}$ cm/g, respectivamente). Sabendo-se que o aumento do diâmetro da artéria pulmonar é compatível com desenvolvimento de hipertensão arterial pulmonar, é provável que os animais tratados com EVT possuísem menor nível tensional arterial pulmonar.

Esses dados nos conduzem a levantar a hipótese de que o EVT inibiu a síntese de ET-1. Não podemos, entretanto, afirmar se a diminuição do quadro hipertrófico de VD ocorreu por efeito cardíaco direto, ou indiretamente através da redução da resistência vascular pulmonar. Acreditamos que a hipótese mais coerente seja uma combinação dos dois fatores.

No estudo de Kato e cols (2003) ratos wistar machos que receberam 60mg/kg de MCT apresentaram diminuição da relação TAP/TEP a partir da 6ª semana pós-injeção do alcalóide. A análise da relação TAP/TEP parece ser mais adequada que a do TAP sozinho, sendo utilizada para se minimizar o efeito da frequência cardíaca sobre o fluxo sanguíneo. No presente estudo realizamos o ecodoplercardiograma mais precocemente, com 22-23 dias. Mesmo com um tempo menor, observamos uma tendência da relação

TAP/TEP estar aumentada nos animais tratados com EVT (0.2596 ± 0.02820 vs 0.2007 ± 0.02668), que se aliam com os achados de diminuição do diâmetro da pulmonar, reforçando a hipótese de uma menor resistência vascular pulmonar no grupo de animais tratados com EVT.

Fechando o quadro do lado direito do coração, uma melhor função sistólica direita pôde ser observada nas fêmeas tratadas com EVT. Estas apresentaram maior débito cardíaco ao ECO que as não tratadas. O maior débito sistólico observado no grupo EVT parece ser o responsável pela diferença no débito cardíaco, já que as frequências cardíacas foram similares.

O fenômeno de interdependência ventricular passa despercebido no estudo fisiológico do funcionamento do coração como bomba, mas pode ser bem visualizado na HAP crônica. O aumento da resistência vascular pulmonar impõe ao VD um acréscimo da carga de trabalho, obrigando-o a uma adaptação morfológica. Ocorrem então dilatação e hipertrofia, alterando a forma do VD, de meia-lua para concêntrica. A alteração da forma do VD pode acarretar em desvio do septo interventricular para a esquerda. O aumento da pós-carga dificulta o esvaziamento do VD fazendo com que o tempo de ejeção do VD fique mais prolongado que o tempo de ejeção do VE, agravando ainda mais o desvio do septo interventricular para a esquerda, dificultando o esvaziamento atrial esquerdo. É comum achado, nos pacientes com HAP, aumento da câmara atrial esquerda. No presente estudo observamos um menor diâmetro atrial esquerdo corrigido (AEC) nos animais, tanto machos quanto fêmeas, tratados com EVT ($19,99 \times 10^{-4} \pm 0,5923 \times 10^{-4}$ vs $19,99 \times 10^{-4} \pm 0,5923 \times 10^{-4}$, e $17,84 \times 10^{-4} \pm 0,5533 \times 10^{-4}$ vs $28,10 \times 10^{-4} \pm 2,119 \times 10^{-4}$ cm/g, respectivamente). Infelizmente não foi possível determinar o grau de desvio

septal nem o fluxo mitral para melhor avaliarmos este quadro. A dificuldade de encontrar uma janela acústica adequada, a alta mortalidade, e animais taquicárdicos, foram fatores impeditivos de uma avaliação mais detalhada.

Surpreendentemente, estavam aumentadas no grupo MCT as espessuras do septo e da parede posterior corrigidas dos animais do grupo MCT(). Na comparação independente do sexo, o índice do VE (VE + Septo/PC) foi maior no grupo MCT ($30,53 \pm 1,180 \times 10^{-4}$ vs $25,81 \pm 1,072 \times 10^{-4}$ cm/g). Desconhecemos a descrição de tal fato na literatura. Um possível quadro hipóxico crônico poderia ser responsável por um aumento da pressão arterial sistêmica, acarretando em aumento da espessura da parede ventricular esquerda. Isto explicaria também o maior diâmetro da aorta encontrado nos animais do grupo MCT ($22,13 \pm 1,503 \times 10^{-4}$ vs $16,66 \pm 0,6169 \times 10^{-4}$ cm/g).

A função ventricular esquerda pareceu não ser afetada pela ação da MCT. Dados de fração de ejeção e de encurtamento do nosso laboratório de animais machos que não sofreram nenhuma intervenção (OLIVARES, 2002) mostram valores similares aos do grupo MCT deste estudo. Não houve, também, diferença na fração de ejeção e de encurtamento entre os grupos MCT e EVT, assim como nos débitos cardíaco e sistólico do VE.

O desvio, no plano frontal, do eixo médio de despolarização ventricular para a direita, em animais tratados MCT foi descrito em 1983 por Bruner e cols. O crescimento da câmara ventricular direita aumenta a influência do VD no processo de despolarização ventricular, alterando a direção do vetor resultante. A análise estatística do SÂQRS, no presente estudo, não revelou significância na

comparação entre os grupos. Porém, ao olharmos para os valores, observamos que a maioria dos animais do grupo MCT (8 de 13) apresentaram desvio do eixo médio de despolarização ventricular, enquanto naqueles tratados com EVT a maioria (6 de 7) possuía SÂQRS normal.

O grau de insuficiência cardíaca direita pode ser avaliado através da análise do peso úmido do fígado. O índice do fígado, dado pela normalização (divisão) pelo peso corporal dos animais, tendeu a ser menor no grupo tratado com EVT (0.04710 ± 0.001798 vs 0.05254 ± 0.001597), sugerindo uma melhor função ventricular direita. A incapacidade do VD de bombear o sangue do sistema venoso para os pulmões culmina em congestão do sistema venoso com aumento do peso e tamanho do fígado (hepatomegalia congestiva). Não podemos descartar proteção hepática direta do EVT já que a MCT é também hepatotóxica (BUTLER e cols, 1970). Para esta diferenciação faz-se necessária uma avaliação histopatológica do fígado, não realizada neste estudo.

Um dos achados mais importantes do nosso estudo foi à constatação do aumento da porcentagem de sobrevivência nas fêmeas tratadas com EVT ($P < 0.001$). A maioria das fêmeas do grupo EVT (63%) foram sacrificadas ao final do estudo, enquanto todas as fêmeas do grupo MCT morreram ao longo do protocolo experimental. O mesmo comportamento não ocorreu com os machos, não havendo diferença na porcentagem de sobrevivência entre os grupos tratado e não-tratado com EVT.

A análise das curvas de sobrevivência nos leva a concluir que as fêmeas possuem maior suscetibilidade ao desenvolvimento de

insuficiência cardíaca direita induzida pela administração de MCT. Dados ecocardiográficos, como uma maior espessura de parede de VD e um maior diâmetro interno da artéria pulmonar nas fêmeas em relação aos machos, dentre outros, e do teste cardiopulmonar, como o menor consumo de oxigênio nas fêmeas, apresentados no presente estudo colaboram neste sentido. Desconhecemos tal descrição na literatura já que os trabalhos publicados com este modelo são realizados utilizando-se preferencialmente animais de um único gênero.

Uma importante medida não realizada em nosso trabalho, consiste na aferição da pressão intracavitária do VD para determinação do grau de hipertensão arterial pulmonar. Todavia, apesar de a anormalidade característica da hipertensão arterial pulmonar ser o grau de elevação da pressão arterial do leito pulmonar, esta possui apenas modesta significância prognóstica. A habilidade do ventrículo direito de exercer sua função sob aumento na pós-carga é que determina a extensão dos sintomas e a sobrevivência (CHIN, 2005).

Somando-se os resultados dos exames eco e eletrocardiográficos, da evolução do peso, do teste cardiopulmonar, da sobrevivência e do peso dos órgãos, acumulamos evidências suficientes da eficácia do EVT no modelo experimental utilizado.

Assim, demonstramos pela primeira vez, que o tratamento crônico com EVT é capaz de amenizar as alterações cardiovasculares patológicas que se seguem à administração de MCT.

Dada a grande quantidade de evidências científicas dos efeitos benéficos à saúde do consumo de vinho, a Associação Americana

do Coração, publicou em 2001 na revista Circulation um documento intitulado “Vinho e seu Coração”, fazendo uma revisão do assunto (GOLDBERG e cols). Recentemente, outro artigo foi publicado na mesma revista por Szmítko & Verma (2005), intitulado “Vinho tinto e seu coração”, na sessão “página do paciente cardiológico” com o intuito de esclarecer os pacientes sobre os benefícios e os riscos do consumo.

VI – CONCLUSÃO

O tratamento crônico com extrato de vinho tinto, em ratos, é capaz de amenizar as alterações cardiovasculares induzidas pela administração de monocrotalina.

As fêmeas possuem maior suscetibilidade ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca direita induzida pela administração de monocrotalina.

VII – PERSPECTIVAS

Como perspectivas de prosseguimento do estudo no Doutorado temos:

- ° Determinar os efeitos de diferentes doses de extrato de vinho tinto na estrutura e função cardíaca, e na reatividade vascular de animais com hipertensão arterial pulmonar.
- ° Avaliar se o tratamento com extrato de vinho tinto altera os níveis de endotelina-1 no plasma, rins e coração dos animais com hipertensão arterial pulmonar.
- ° Avaliar se o tratamento com vinho altera a expressão de NOS nos pulmões e coração, e a expressão de preproendotelina-1 nos rins e coração dos animais com hipertensão arterial pulmonar.
- ° Determinar se a quantidade de polifenóis encontrada nas diferentes doses de extrato de vinho tinto que serão administrados se

correlaciona com a resposta cardiovascular e níveis de expressão de endotelina-1 e NOS observados nos animais tratados com extrato de vinho tinto

VIII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Actis-Goreta, L., Mackenzie, G.G., Oteiza, P.I., et al. **Comparative study on the antioxidant capacity of wines and other plant-derived beverages**. Ann N Y Acad Sci. 2002; 957: 279-283.

American Heart Association. **Heart disease and stroke statistics - 2005 update**. Cap2.

Baybutt, R.C., Rosales, C., Brady, H., et al. **Dietary fish oil protects lung and liver inflammation and fibrosis in monocrotaline treated rats**. Toxicol. 2002; 175: 1-13.

Bernátová, I., Pechánová, O., Babál, P., et al. **Wine polyphenols improve cardiovascular remodeling and vascular function in NO-deficient hypertensio**. Am J Physiol . 2002; 282: H942-H948.

Brunner, F. **Cardiac endotelin and big endotelin in right-heart due to monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rat**.

Cardiovasc Res. 1999; 44: 197-206.

Butler, W.H., Mattocks, A.R., Barnes, J.M. **Lesions in the liver and lungs of rats given pyrrole derivatives of pyrrolizidine alkaloids.** J Path. 1970; 100: 169-175.

Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., et al. **Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs.** Life Sci. 1999; 65 (4): 337-353.

Chin, K.M., Kim, N.H.S., Rubin, L.J. **The right ventricle in pulmonary hypertension.** Coron Artery Dis. 2005; 16: 13-18.

Cody, R.J., Haas, G.J., Binkley, P.F., et al. **Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure.** Circulation. 1992; 85: 504-509.

Corder, R., Douthwaite, J.A., Lees, D.M., et al. **Endotelin-1 synthesis reduced by red wine.** Nature. 2001; 414: 863

De Lorgeril, M., Salen, P., Martin, J.L., et al. **Wine drinking and risks of cardiovascular complications after a recent acute myocardial infarction.** Circulation. 2002; 106: 1465-1469.

Diebolt, M., Bucher, B., Andriantsitohaiana, R. **Wine polyphenols decrease blood pressure, improve vasodilation, and induce gene expression.** Hypertension. 2001; 38: 159-165.

Doll, R., Peto, R., Hall, E., et al. **Mortality in relation to consumption of alcohol: 13 years observations on male british doctors.** Br Med J. 1994; 309: 911-918.

Fogiano, V., Verde, V., Randazzo, G., et al. **Method for measuring the antioxidant activity and its application capacity of wines.** J Agric Food Chem. 1999; 47: 1035-1040.

Frankel, E.N., Kanner, J., German, J.B., et al. **Inhibition of oxidation human low density lipoprotein by phenolic substances in red wine.** Lancet. 1993; 341: 454-457.

Frémont, L. **Biological effects of resveratrol.** Life Sci. 2000; 66(8): 663-673.

- Froelicher, V.F., Myers, J., Follanbee, W.P. et al. **Exercise and the heart**. Mosby-Year Book. 1998. cap 3: Special methods: ventilatory gas exchange.
- Fuchs, C.S., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., et al. **Alcohol consumption and mortality among women**. N End J Med. 1995; 335: 1245-1250.
- Gaetano, G., Curtis, A., Castelnuovo, A., et al. **Antithrombotic effect of polyphenols in experimental models**. Ann N Y Acad Sci. 2002; 957: 174-188.
- Goldberg, I.J., Mosca, L., Piano, M.R., et al. **Wine and your heart**. Circulation. 2001; 103: 472-475.
- Harborne, J.B., Willians, C.A. **Advances in flavonoid research since 1992**. Phytochemistry. 2000; 55: 481-504
- Hayashi, Y., Hussa, J.F., Lalich, J.J. **Cor pulmonale in rats**. Lab Invest. 1967; 16: 875-881.
- Hill, N.S., Warburton, R.R., Pietras, L., et al. **Nonspecific endothelin-receptor antagonist blunts monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats**. J Appl Physiol. 1997; 83(4): 1209-1215.
- Howitz, T.K., Bitterman, K.J., Cohen, H.Y., et al. **Small molecule activators of sirtuins extend saccharomyces cerevisiae lifespan**. Nature. 2003; 24:1-5.
- Imamura, G., Bertelli, A.A., Bertelli, A., et al. **Pharmacological preconditioning, with resveratrol: an insight with iNOS knockout mice**. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002; 282: H1996-H2003.
- Ito, H., Hiroe, M., Hirata, Y., et al. Circulation. 1994; 89: 2198-2203.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O., et al. **Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes**. Science. 1997; 275:218-220.
- Kannel, W.B., Ellison, R.C. **Alcohol and coronary heart disease: the evidence of a protective effect**. Clin. 1996.
- Kato, Y., Iwase, M., Kanazawa, H., et al. **Progressive development of pulmonary hypertension leading to right ventricular hypertrophy assessed by echocardiograph in rats**. Exp Anim. 2003; 52(4): 285-294.

- Kawagushi, A.T., Mizuta, T., Matsuda, H., et al. **Single lung transplantation in rats with chemically induced pulmonary hypertension.** J Thorac Cardiovasc Surg. 1992; 103: 483 – 489.
- Leikert, J.F., Rathel, T.R., Wohlfart, P., et al. **Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide synthase expression and subsequent nitric oxide release from endothelial cells.** Circulation. 2002; 106: 1614-1617.
- Mansvelt, E.P.G., Velden, D.P.V., Fourie, E., et al. **The in vivo antithrombotic effect of wine consumption on human blood platelets and hemostatic factors.** Ann N Y Acad Sci. 2002; 957: 329-332.
- Michel, R.P., Langleben, D., Dupuis, J. **The endothelin system in pulmonary hipertension.** Can J Physiol Pharm. 2003; 81: 542-554.
- Miyagi, Y., Miwa, K., Inoue, H. **Inhibition of homan low density lipoprotein oxidation by flavonoids in red wine and grape juice.** Am J Cardiol. 1997; 80: 1627-1631.
- Mush, T.I., Bruno, A., Bradford, G.E., et al. **Measurements of metabolic rate in rats: a comparison of techniques.** J Appl Physiol. 1988; 65(2): 964 – 970.
- National Heart, Lung, and Blood Institute. <http://www.framingham.com/heart/backgrnd.htm>
- Nishida, M., Eshiro, K., Okada, Y., et al., et al. **Roles of endothelin ETA and ETb receptors in the pathogenesis of monocrotaline-induced pulmonary hypertension.** J Cardiovasc Pharmacol. 2004; 44(2): 187-191.
- Nishida, M., Okada, Y., Akiyoshi, K., et al. **Role of endothelin ETb receptor in the pathogenesis of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats.** Eur J Pharmacol. 2004; 496: 159-165.
- Olivares, E.L. **Cardiomioplastia celular: aplicação no infarto cicatrizado do miocárdio em ratos.** Orientador: Antônio Carlos Campos de Carvalho. Rio de Janeiro. UFRJ/IBCCF, 2002. Dissertação. (Mestrado em Ciências Biológicas)
- Organização Mundial da Saúde. http://www3.who.int/whosis/mort/table1_process.cfm
- Ray, P.S., Maulik, G., Cordis, G.A., et al. **The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury.** Free Rad Biol Med. 1999; 27: 160-169.
- Renaud, S., Lorigeril, M. **Wine, alcohol, platelets, and the french paradox for coronary heart disease.** Lancet. 1992; 339: 1523-

1526.

- Renaud, S., McGregor, L., Martin, J.L. **Influence of alcohol on platelet function in relation to atherosclerosis.** In: Poxxa G., et al. New York. 1984. p.177-187.
- Rimm, E.B., Giovannucci, E.L., Willet, W.C., et al. **Prospective study of alcohol consumption and risk of coronary disease in men.** Lancet. 1991; 38: 464-468.
- Ross, R. **The pathogenesis of atherosclerosis: a prospective for the 1990s.** Nature. 1993;362: 801
- Roth, R.A, Reindel, J.F. **Lung vascular injury from monocrotaline pyrrole, a putative hepatic metabolite.** Adv Exp Med Biol. 1991; 283:477-487.
- Sanh, D.J., DeMaria, A.Kisslo, J., Weyman, A. **Recommendations regarding in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiography measurements.** Circulation. 1978; 58: 1072-1083.
- Stewart, D.J., Levy, R.D., Cernacek, P., et al. **Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease?** Ann Intern Med. 1991; 114: 464-469.
- Szmitko, P.E., Verma, S. **Red wine and your heart.** Circulation.2005; 111: e10-e11.
- Tedesco, I., Russo, M., Russo, P., et al. **Antioxidant effect of red wine polyphenols on red blood cells.** J Nutr Biochem. 2000; 11: 114-119.
- The criteria committee of the New York Association - **Revision to classification of functional class and objective assessment of patients with disease of the heart.** Circulation. 1994; 92: 644-645
- Uenobe, F., Nakamura, S., Miyazawa, M. **Antimutagenic effect of resveratrol against Trp-P-1.** Mutation Res. 1997; 373(2):197-200.
- Thun, M.J., Peto, R., Lopez, A.D., et al. **Alcohol consumption and mortality among middle-aged and elderly US adults.** N End J Med. 1997; 337: 1705-1714.
- Vinson, J.A., Teufel, K., Wu, N. **Red wine, dealcoholized red wine, and specially grape juice, inhibit atherosclerosis in a hamster model.** Atheros. 2001; 156: 67-72.

Vrhovsek, U., Wendelin, S., Eder, R. **Effects of various vinification techniques on the concentration of cis- and trans-resveratrol and resveratrol glucose isomers in wine.** Am J Enol Vitic. 1997; 48: 214-220.

Weber, K., Janicki, J.S. **Cardiopulmonary exercise testing for evaluation of chronic heart failure.** Am J Cardiol. 1985; 55: 22A-31A.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)