

Hipertrofia do miocárdio e alteração hemodinâmica em ratos expostos à fumaça de cigarro

Myocardial hypertrophy and hemodynamic changes in rats exposed to cigarette smoke

Dermeval Reis Junior¹; Danilo Sales Bocalini²; Ednei Luiz Antonio³; Ricardo Tonicelo⁴; Andrey Jorge Serra⁵, Luiz Carlos de Abreu⁶

¹Mestrando em Ciências, Departamento de Medicina, Disciplinas de Clínica Médica e Cardiologia – Unifesp – Escola Paulista de Medicina; Especialista em Fisiologia, Departamento de Fisiologia – FMABC; Especialista em Patologia Clínica, Departamento de Medicina – Unifesp – Escola Paulista de Medicina. São Paulo, SP – Brasil.

²Mestre em Ciências, Doutorando em Ciências pelo Departamento de Medicina, Disciplina de Cardiologia – Unifesp – Escola Paulista de Medicina. São Paulo, SP – Brasil.

³Mestre em Ciências, Departamento de Medicina, Disciplina de Cardiologia – Unifesp – Escola Paulista de Medicina. São Paulo, SP – Brasil.

⁴Aluno de Iniciação Científica, Departamento de Educação, Educação Física – Uninove. São Paulo, SP – Brasil.

⁵Doutor em Ciências, Pesquisador Associado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação – Uninove. São Paulo, SP – Brasil.

⁶Doutor em Ciências, Departamento de Fisiologia, Disciplina de Fisiologia – FMABC, Santo André, SP, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Biomédicas – USP. São Paulo-SP – Brasil.

Endereço para correspondência

Dermeval Reis Junior
R. Antonio Francisco, 42
04187-250 – São Paulo – SP [Brasil]
drj@fcr.epm.br / drdermeval@gmail.com

Resumo

Introdução: É previsto que o fumo promova alterações morfofuncionais no miocárdio; entretanto, são obscuros os mecanismos atuantes. **Objetivos:** Visa-se avaliar as influências morfofuncionais cardíacas da fumaça de cigarro em ratos. **Métodos:** Utilizaram-se ratos Wistar machos, divididos nos grupos: F, fumante (n=10), submetidos à fumaça de cigarros e C, controle (n=10), ao ar ambiente, duas vezes ao dia, oito semanas consecutivas. Mediram-se parâmetros biométricos e hemodinâmicos. **Resultados:** O F teve menor ganho de peso corporal e massa miocárdica absoluta (1014 ± 31 mg) e indexada ($2,60 \pm 0,07$ mg/g) maiores comparados ao C (770 ± 12 mg e $2.2 \pm 0,04$ mg/g, nesta ordem). A $+dP/dt$ foi maior em F (15870 ± 188 mmHg/s) versus C (12800 ± 78 mmHg/s). **Conclusão:** Verificou-se que ratos expostos ao fumo crônico tiveram tendência à atenuação no ganho de peso corpóreo, miocárdio hipertrofiado e aumento da $+dP/dt$ ventricular esquerda.

Descritores: Fumo; Hemodinâmica; Miocárdio; Monóxido de carbono.

Abstract

Introduction: It is predicted that smoking promotes changes in the myocardium; however, the morpho-functional mechanisms remain obscure. **Objectives:** This study aimed to evaluate the morpho-functional influences of cigarette smoke in heart of rats. **Methods:** Male Wistar rats, divided into two groups: F, smoker (n=10), exposed to cigarettes smoke, and C, control (n=10), exposed to ambient air, both, twice a day, eight consecutive weeks. Biometric and hemodynamic parameters were measured. **Results:** F had lower body weight gain, and myocardial mass absolute (1014 ± 31 mg) and indexed (2.60 ± 0.07 mg/g) were higher compared to C (770 ± 12 mg and 2.2 ± 0.04 mg/g, respectively). The $+dP/dt$ was greater in F (15870 ± 188 mmHg/s) versus C (12800 ± 78 mmHg/s). **Conclusion:** This study showed that rats exposed to chronic smoke have trend to attenuation in body weight gain, myocardial remodeling and increased $+dP/dt$ left ventricular.

Key words: Carbon monoxide; Hemodynamics; Myocardium; Tobacco.

Introdução

A poluição ambiental causada pela fumaça de cigarro constitui-se em problema de agravo à saúde pública¹. Os relatos que existem sobre os efeitos morfofuncionais do tabagismo diretamente sobre o coração são poucos^{2, 3, 4, 5, 6, 7}. Boa parte da literatura centra-se na avaliação das alterações sistêmicas e orgânicas^{3, 4, 5}. Os relatos existentes solidificaram o conceito de que a fumaça do cigarro é a maior causa de morte prevenível no mundo⁸. A estimativa mundial de morte anual por doenças associadas à prática tabagista é de 5 milhões de pessoas^{1, 8, 9}.

A prática do tabagismo já está estabelecida como o maior fator de risco independente para doença cardiovascular, e isso inclui doenças ateroscleróticas e vasculares, angina instável, morte cardíaca súbita, infarto do miocárdio e hipertensão arterial^{1, 10}. Estudos em humanos^{11, 12, 13} e em animais – ratos^{14, 15} e cães¹⁶ –, expostos aguda ou cronicamente à fumaça de cigarros, relatam controvérsias quanto a alterações morfológicas, funcionais e bioquímicas.

A ênfase maior está em discutir as alterações morfológicas determinantes da função cardíaca, justificadas pelas controversas descrições existentes. Avaliação do peso corporal e da massa cardíaca em ratos, descritas por Brooks et al.², apresentaram valores com significativa diminuição frente aos altos níveis de carboxihemoglobina (COHb) circulante, que foram iguais aos de fumantes inveterados. Além disso, pacientes cardiopatas com episódios de angina ao esforço, quando em presença de fumaça de cigarros, mostraram diminuição à tolerância ao exercício e complacência ventricular esquerda diminuída³. Contudo, em cães, interessantemente, foi observado aumento do débito e do trabalho cardíacos⁴.

Existe significativa descrição dos efeitos tóxicos do tabagismo que apontam para a nicotina¹⁴ e monóxido de carbono (CO)^{3, 16, 17} sobre o sistema cardiovascular; entretanto, poucas são as descrições que detalham as alterações morfofuncionais nos ventrículos direito e esquerdo

analisados isoladamente, seja após hipóxia com CO ou fumaça de cigarros, seja sob administração de nicotina. Em cães perfundidos agudamente com CO, parece ocorrer vasodilatação arterial, e isso ficou patente quando se observou que o fluxo sanguíneo do leito vascular dos ventrículos direito e esquerdo aumentou transitoriamente cerca de duas vezes em relação aos valores controle^{16, 17}.

É de se considerar que há importantes evidências de que o CO e a nicotina desempenham importante papel como indutor de doenças cardiovasculares^{3, 14, 18}. Além disso, há evidências de comprometimento do volume sistólico (VS), que diminuiu frente à exposição à fumaça de cigarros^{15, 19}.

Finalmente, não há estudo que evidencie mecanismo já elucidado da patogenia das alterações miocárdicas pela exposição à fumaça de cigarros. Além disso, são raros os estudos destinados a elucidar os efeitos da fumaça de cigarro diretamente sobre o miocárdio. A escassez de informações suscitou o desenvolvimento deste trabalho com o objetivo de melhor avaliar o coração em seus aspectos morfológicos, por meio de análises de peso da massa miocárdica; funcionais, pela análise hemodinâmica ventricular esquerda, bem como a evolução do peso corporal dos animais, por meio de análises do ganho semanal de peso corporal, em ratos submetidos à exposição crônica à fumaça de cigarros.

Método

Animais

Foram utilizados 20 ratos machos jovens (*Rattus norvegicus albinus, rodentia mammalia*), da linhagem Wistar EPM, pesando entre 220 a 250 gramas, livres de patologia, provenientes do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais (CEDEME) da Universidade Federal de São Paulo Escola Paulista de Medicina. Foram formados dois grupos: fumante (F) e controle (C), ambos com casuística composta por n = 10. Os animais foram mantidos

em caixas plásticas, com luz e temperatura controladas, água e ração Nuvital (Nuvilab) *ad libitum*. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, estando em conformidade com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Exposição à fumaça de cigarro

A exposição adotada foi adaptada conforme previamente descrito^{20, 21}. Para a realização desse protocolo foi construída uma câmara acrílica de medidas 1000 x 800 x 700 x 3 mm. No interior da câmara, o ambiente foi enriquecido com a fumaça originada da queima de 20 cigarros Dallas King Size (Philip Morris do Brasil). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em publicação em janeiro de 2005, esse cigarro foi registrado como tendo em sua constituição os seguintes componentes: alcatrão: 10 mg/cigarro, nicotina: 0,7 mg/cigarro e monóxido de carbono 10 mg/cigarro.

Os animais do grupo F foram submetidos a fluxo corrente de fumaça de 20 cigarros, conduzido duas vezes ao dia, sendo um período de 60 minutos pela manhã e outro período de 60 minutos pela tarde, cinco dias por semana, durante oito semanas consecutivas. Cada exposição durou 60 minutos e compreendeu dois períodos de 30 minutos cada, com intervalo de 10 minutos entre os períodos.

Os animais do grupo C foram expostos ao ar ambiente na câmara. Foi utilizado um medidor para o CO (Toxi Vision CO – Biosystems, 860 – nº 05395) para monitorar a concentração de CO no interior da câmara $[CO]_i$, atingindo níveis médio de 500 ppm. Durante todo o tempo de exposição foram feitas leituras da $[CO]_i$ a cada 10 minutos.

Estudo hemodinâmico

Os estudos hemodinâmicos³¹ foram conduzidos 24 horas após a última exposição ao cigarro, e em período equivalente para o grupo C.

No decorrer do exame, os animais foram mantidos aquecidos (± 37 °C), sob plano anestésico adequado com mistura de cetamina (50 mg/kg, *i.v.*) e xilasina (10 mg/kg, *i.v.*; Sigma, MO, USA) e ventilação mecânica (frequência: 100 movimentos/minuto e volume corrente: 10 ml/kg) enriquecida com oxigênio. Um cateter de polietileno PE20 de 8 cm de comprimento teve sua extremidade distal posicionada dentro da cavidade ventricular esquerda a partir de cateterismo da carótida comum direita para obtenção da pressão intracavitária. As avaliações foram concretizadas com acoplamento do cateter ao transdutor de pressão (Stathan RX 104A) que permanecia conectado a um microcomputador dotado do *software* AcqKnowledge for Windows, versão 3.5.7 (Biopac Systems, Santa Barbara, CA, EUA), que permitiu a determinação dos valores das variáveis fisiológicas: pressão sistólica ventricular esquerda (PSVE, em mmHg) e primeira derivada temporal de pressão (+dP/dt em mm Hg/s).

Estudo biométrico

Peso corporal – essa avaliação foi conduzida semanalmente, sempre antes de iniciar os animais ao protocolo de exposição.

Massa cardíaca³¹ – imediatamente após o estudo hemodinâmico para avaliar o remodelamento, os corações dos animais foram removidos e pesados para caracterização das massas absolutas (A) e indexadas (In) pelo peso corporal de cada animal: relação peso cardíaco/peso corpóreo, como parâmetro de hipertrofia.

Análise estatística

O teste t de Student não pareado foi aplicado na comparação entre os grupos para as variáveis hemodinâmicas e biométricas do miocárdio, considerando a homogeneidade das amostras feita pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. O intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para esses parâmetros foi apresentado. Para análise da evolução semanal do peso corporal foi utilizada análise de variância (ANOVA) duas vias, com *post hoc* de Bonferroni.

O nível de significância adotado foi de 5%. Todas as análises foram conduzidas utilizando *software* GraphPad Prisma 4.0.

Resultados

Variáveis biométricas

Peso corporal

O peso corporal dos animais foi mensurado semanalmente, após randomização (R) para formar os grupos. O aumento do peso corporal dos animais pertencentes ao grupo F foi atenuado ao longo do estudo: C: (peso médio inicial 214 g – peso médio final 361 g) e F: (peso médio inicial 217 g – peso médio final 291 g). Conforme ilustra a Figura 1, apesar de não haver modificações estatisticamente significantes, a atenuação do ganho de peso corporal foi tendenciosa pela exposição ao fumo. Ao contrário do grupo F, os animais não fumantes apresentaram crescente e progressiva evolução do peso corporal, praticamente sem variações na curva de evolução.

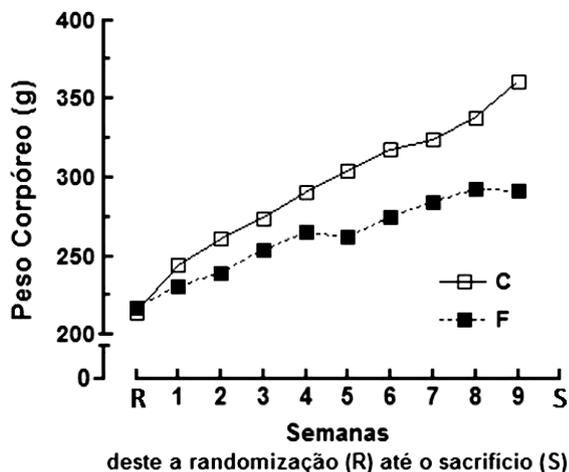


Figura 1: Representação da evolução de peso corpóreo (g) dos animais dos dois grupos C, quadrado vazio = grupo controle; F, quadrado cheio = grupo exposto à fumaça de cigarros. Desde o dia em que foram randomizados (R), no dia inicial da exposição, até o dia, após a 8ª semana de tratamento, em que foram sacrificados (S). Não houve diferença estatística.

Massa miocárdica

Como ilustra a Figura 2, a seguir, observou-se que o peso absoluto do coração dos ratos expostos à fumaça de cigarro foi significativamente maior ($F = 1014 \pm 31$ mg) em comparação aos animais não expostos ($C = 770 \pm 12$ mg), IC 95%: -331 a -157. Os valores de peso cardíaco/peso corpóreo também foram mais elevados nos animais expostos à fumaça de cigarros ($F = 2,60 \pm 0,07$ mg/g) em comparação aos não expostos ($C = 2,2 \pm 0,04$ mg/g), IC 95%: -0.6253 a -0.1709.

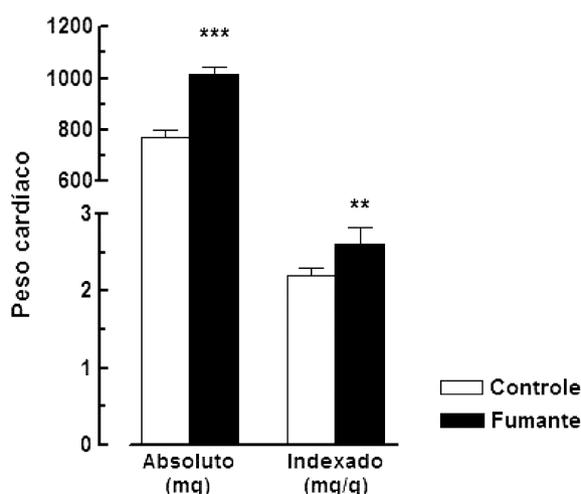


Figura 2: Comparação da massa miocárdica entre os grupos fumante e controle

Representa a massa cardíaca (mg) e a massa indexada – índice de massa – (mg/g) dos animais dos grupos C e F. A exposição crônica ao cigarro ou seus derivados afetam significativamente a estrutura do miocárdio. Teste t de Student: $P < 0,0001$ peso absoluto e $P < 0,01$ peso indexado.

Variáveis hemodinâmicas

Verificou-se que a PSVE não foi afetada pela exposição crônica a fumaça de cigarro, sendo os valores da pressão desenvolvida similares entre os grupos F e C, IC 95%: -19.0 a -6.0, (Figura 3). Contudo, os valores da $+dP/dt$ foram significativamente maiores no grupo exposto à fumaça ($F = 15870 \pm 188,0$ mmHg/s), em relação ao não exposto ($C = 12800 \pm 77,7$ mmHg/s), IC 95%: 2605 a 3543 (Figura 3).

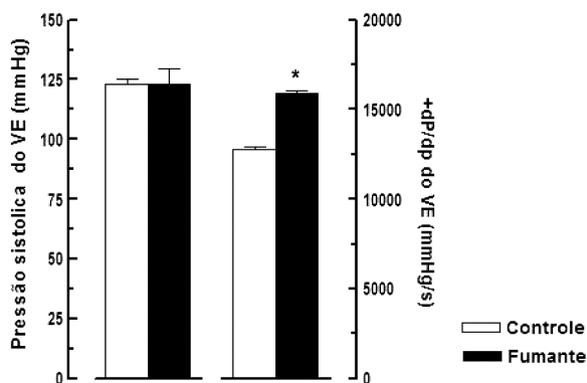


Figura 3: Comparação das variáveis hemodinâmicas entre os grupos fumante e controle

Representa a PSVE sem alterações entre os grupos e a (+) dP/dt. No grupo F a contratilidade, representada pela primeira derivada, teve valor maior do que C de forma significativa e indireta. É notória a influência da exposição ao fumo na contratilidade. Teste t de Student. $P < 0,0001$.

Discussão

Neste estudo, mostrou-se que a exposição à fumaça de cigarro tende a alterar a dinâmica de ganho de peso corporal, promove aumento da massa miocárdica e altera a função ventricular esquerda.

Considerando as possíveis modificações que a exposição à fumaça de cigarro possa causar no peso corporal, nota-se que a literatura disponibiliza informações contraditórias. Enquanto certos autores relataram que a exposição à fumaça pode promover alterações da biometria corporal, outros investigadores não caracterizaram tal circunstância. Assim, estudos epidemiológicos evidenciaram perda de peso corporal associada à fumaça de cigarro^{22, 23}. Em condições experimentais, contrariamente, Talukder et al.⁶ relataram aumento do peso corporal de camundongos expostos à fumaça de cigarro proporcional ao tempo de exposição. Já Albrecht et al.²⁴, em estudo randomizado com humanos, não referiram dife-

renças no peso corporal nem no índice de massa corpórea. No estudo aqui apresentado, também não houve modificações estatisticamente significativas do peso corporal despertadas pela exposição crônica a fumaça de cigarro, o que corrobora resultados preliminares de ensaios experimentais em ratos^{6, 7} e cães²⁵. Entretanto, a morfologia das curvas leva ao entendimento de que, apesar de valores estatisticamente não significantes, há forte tendência à atenuação do ganho de peso durante o período de exposição ao fumo.

A perda de peso corporal associada à exposição crônica à fumaça de cigarros está relacionada a mecanismos neuronais moduladores do apetite. Estudos atuais têm atribuído à nicotina o papel de modular a regulação do peso corporal. Li et al.²⁶ e Kane et al.²⁷ mostraram evidências de que a ação da nicotina consiste em inibir o centro do apetite e, por consequência, conter o ganho de peso. Suspeita-se que haja aumento na taxa metabólica do sistema nervoso central (SNC) pela nicotina. Quanto ao ganho de peso corpóreo, neste trabalho, constatou-se que, apesar de não haver significância estatística nos dados do peso corporal, houve forte tendência do fumo em atenuar o ganho de peso, e que a modulação desses efeitos é promovida pela nicotina no SNC.

O aumento da massa cardíaca nos corações dos animais expostos à fumaça de cigarros foi patente neste estudo. Há controvérsias acerca das variações que possam ocorrer na massa cardíaca frente à exposição ao cigarro. Um relato encontrado não detectou alteração de massa miocárdica associada à exposição fumo¹¹, enquanto que outro relato descreveu sua diminuição¹². No entanto, há, na maioria das descrições^{5, 6, 7, 11, 13, 21, 28}, intensificação do remodelamento miocárdico, que leva à exacerbação da massa cardíaca frente à exposição à fumaça de cigarros. O aumento da massa miocárdica é ocasionado por vários fatores desencadeados e intensificados na síntese proteica tanto intracelular como extracelular. Parece que o evento mais pronunciado é o aumento intenso do estímulo às vias de sinalização intracelular que induzem remodelamento e hipertrofia^{5, 13, 29}. Nesta pesquisa, admitiu-se que

a origem do aumento da massa cardíaca tenha uma estrita influência na intensificação da atividade celular e síntese proteica, exacerbadamente, induzidas por hipóxia.

Quanto à análise da função cardíaca, o método de escolha foi por análise direta da pressão sistólica desenvolvida pelo ventrículo esquerdo. No estudo de Robleto e Peterson³⁰, a pressão ventricular aumentou em animais expostos à fumaça de cigarros, contrastado com a diminuição da +dP/dt dessa amostra. A pressão ventricular esquerda dos ratos do grupo F não sofreu variação em relação aos valores dos roedores do grupo C. Contudo, a +dP/dt dos animais de F foi significativamente maior em relação aos de C. *A priori*, a interpretação desses resultados conduz à noção de que a exposição crônica à fumaça de cigarros promove melhora da contratilidade miocárdica. Todavia, considerando que a hipertrofia cardíaca despertada pela exposição à fumaça de cigarros é do tipo concêntrica^{5,7,26}, é possível que o acentuado valor da derivada positiva no grupo F possa ser indicativo de ilusório melhoramento do estado contrátil³¹. A aceitação de tal argumento se baseia no fato da razão massa/volume estar aumentada nas hipertrofias concêntricas e, ao se considerar os princípios da lei de Laplace, é concebível que a +dP/dt possa estar aumentada no grupo F.

Conclusão

Neste estudo, mostrou-se que a exposição crônica à fumaça de cigarros tendeu a promover atenuação do ganho de peso corporal. Não obstante, os ratos submetidos cronicamente à fumaça de cigarros apresentaram hipertrofia ventricular caracterizada pelo aumento da massa miocárdica e pelo intenso processo de remodelamento do miocárdio. Também importa relatar que os animais expostos a fumaça apresentaram aparente melhora da contratilidade miocárdica, o que deve ser interpretado com cautela, haja vista à existência de remodelamento da cavidade ventricular.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao professor Paulo J. F. Tucci, pela cessão de seu laboratório e de sua equipe técnica, pela brilhante atuação, sem a qual não poderia ter sido realizado, este trabalho, bem como à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM), pelo apoio financeiro.

Nota

- 1 Salienta-se que este estudo não possui nenhum conflito de interesse.

Referências

- 1 Lotufo PA, Benseñor IJM, Lolio CA. Tabagismo e mortalidade por doença isquêmica do coração. Estudo comparativo das capitais de regiões metropolitanas do Brasil, 1988. *Arq Bras Cardiol*. 1995;64(1):7-9.
- 2 Brooks WW, Bing OJL, Huber GL, Abelmann WH. Contractile performance of rat myocardium after chronic tobacco smoke inhalation. *Arch Environ Health*. 1982;37(2):93-97.
- 3 Zevin S, Saunders S, Gourlay SG, Peyton J 3rd, Benowitz NL. Cardiovascular effects of carbon monoxide and cigarette smoking. *J A C C*. 2001;38(6):1633-8.
- 4 Maher FA, Bing OHL, Huber GL, Arenella L, Abelmann WH. The direct effect of tobacco smoke on the intrinsic mechanical properties of cardiac muscle. *Environmental Research*. 1979;20:282-8.
- 5 Castardeli E, Duarte DR, Minicucci MF, Azevedo OS, Matsubara BB, Matsubara LS. et al. Exposure time and ventricular remodeling induced by tobacco smoke exposure in rats. *Med Sci Monit*. 2008;14(3):BR62-BR66.
- 6 Talukder MAH, Johnson WM, Varadharaj S, LIAN J, KEARNS PN, EL-MAHDY. et al. Chronic cigarette smoking causes hypertension, increased oxidative stress, impaired NO bioavailability, endothelial dysfunction, and cardiac remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300:H388-H396.

7. Castardeli E, Paiva SAR, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS. et al. Exposure time and ventricular remodeling induced by tobacco smoke exposure in rats. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84(4):320-4.
8. Teo KK, Ounpuu S, Hawken S, Pandey MR, Valentin V, Hunt D. et al. Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case control study. *Lancet.* 2006;368:647-58.
9. World Health Organization. WHO Report on de global tobacco epidemic, 2009; [acesso em 2011 Febr 1]. Implementing smoke free environments (on-line). Disponível em: www.int/tobacco/mpower.
10. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:1731-7.
11. Gidding SS, Xie X, Liu K, Manolio T, Flack JM, Gardin JM. Cardiac function in smokers and nonsmokers: The Cardia study. *J Am Coll Cardiol.* 1995;26(1):211-6.
12. Payne JR, James LE, Eleftheriou KI, Hawe, E; Jack, M.; Stronge, A. et al. The association of left ventricular mass with blood pressure, cigarette smoking and alcohol consumption; data from the LARGE heart study. *Int J Cardiol.* 2006;120(1):52-8 Epub.
13. Cosmi F. Analisi ecocardiografica della massa ventricolare sinistra nei fumatori. *Minerva Med.* 1990;81(9):605-10.
14. Villarreal FJ, Hong D, OMENS J. Nicotine modified post-infarction left ventricular remodeling. *Am J Physiol.* 1999;276:H1103-H1106.
15. Maher FA, Bing OHL, Huber GL, Arenella L, Abelmann WH. Effect of acute tobacco smoke inhalation on the mechanical responses of isolated rat cardiac muscle. *Environmental Research.* 1981;26:87-94.
16. Einzig S, Nicoloff DM, Lucas RVJr. Myocardial perfusion abnormalities in carbon monoxide poisoned dogs. *Can J Physiol Pharmacol.* 1980;58:396-405.
17. Chen KC, McGrath JJ. Response of the isolated heart to carbon monoxide and nitrogen anoxia. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985;81:363-70.
18. Kozlovskis-Wade PL, Smets MJD, Myerburg RJ. The effect of nicotine on DNA repair in adult myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 1998;30:1483-91.
19. Zhang J, Liu Y, Shi J, Larson DF, Watson RR. Side stream cigarette smoke induces dose-response in systemic inflammatory cytokine production and oxidative stress. *Exp Biol Med.* 2002;227:823-9.
20. Zhu BQ, Sun, YP, Sievers RE, Glantz SA, Parmley WW, Wolfe CL. Exposure to environmental tobacco smoke increase myocardial infarct size in rats. *Circulation.* 1994;89:1282-90.
21. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo OS, Campana AO, Paiva SAR. A exposição à fumaça de cigarro intensifica a remodelação ventricular após o infarto agudo do miocárdio. *Arq Bras Cardiol.* 2006;86(4):276-81.
22. Albanes D, Jones Y, Micozzi MS, Mattson ME. Association between smoking and body weight in the US population: analysis of NHANES II. *Am J Public Health.* 1987;77:439-44.
23. Grunberg NE. Smoking cessation and weight gain (editorial; comment). *N Engl J Med.* 1991;324:768-9.
24. Albrecht AE, Marcus BH, Roberts M, Forman DE, Parisi AF. Effect of smoking cessation on exercise performance in female smokers participating in exercise training. *Am J Cardiol.* 1998;82:950-5.
25. Ahmed SS, Moschos CB, Lyons MM, Oldewurtel HA, Coumbis RJ, Regan TJ. Cardiovascular effects of long-term cigarettes smoking and nicotine administration. *Am J Cardiol.* 1976;37:33-40.
26. Li MD, Parker SL, Kane JK. Regulation of feeding-associated peptides and receptors by nicotine. *Mol Neurobiol.* 2000;22(1-3):143-65.
27. Kane JK, Parker SL, Matta SG, Fu Y, Sharp BM, Li MD. Nicotine up-regulated expression of orexin and its receptors in rat brain. *Endocrinology.* 2000;141:3623-9.
28. Loennechen JP, Nilsen OG, Arbo I, Aadahl P, Nilsen T, Waldum HL. et al. Chronic exposure to carbon monoxide and nicotine: endothelin ET-A receptor antagonism attenuates carbon monoxide-induced myocardial hypertrophy. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002;178:8-14.
29. Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Pitsavos C, Papaioannou I, Skoumas J, Stefanadis C, Toutouzas P. The association between secondhand smoke and the risk of developing acute coronary syndromes, among non-smokers, under the presence of several cardiovascular risk factors: The Cardio 2000 case-control study. *BMC Pub Health.* 2002;2:9.
30. Robleto DO, Peterson DF. Reduction in cardiac contractility during upper respiratory stimulation with cigarette smoke. *Am J Physiol.* 240 (Heart Circ. Physiol). 1981;240(4):H584-H589.
31. Serra AJ, Santos MHH, Bocalini DS, Antonio EL, Levy RF, Santos AA. et al. Exercise training inhibits inflammatory cytokines and more than prevents myocardial dysfunction in rats with sustained β -adrenergic hyperactivity. *J Physiol.* 2010;588(13):2431-42.