

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Análise Estereológica da Aorta em Animais Expostos a Poluição do ar na Cidade de São Paulo.

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG

Junho - 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Análise Estereológica da Aorta em Animais Expostos a Poluição do ar na Cidade de São Paulo.

Izadora Ormenezi

Profa. Dra. Karina do Valle Marques

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG

Julho – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Análise Estereológica da Aorta em Animais Expostos a Poluição do ar na Cidade de São Paulo.

Izadora Ormenezi

Profª. Dra. Karina do Valle Marques
Faculdade de Medicina

Homologado pela coordenação do Curso de
Ciências Biológicas em __/__/__

Profa. Dra. Celine de Melo

Uberlândia - MG

Julho - 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Análise Estereológica da Aorta em Animais Expostos a Poluição do ar na Cidade de São Paulo.

Izadora Ormenezi

Aprovado pela Banca Examinadora em: // Nota: _____

Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia, 27 de Julho de 2017.

Agradecimentos

A Deus, por todas as bênçãos concebidas, por ter me dado saúde e força para superar todas as dificuldades. Agradeço pela minha vida, pela minha família e amigos.

A esta Universidade, seu corpo docente, direção, administração, funcionários que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior.

A minha orientadora, Profa. Dra. Karina do Valle Marques, pela oportunidade de realizar este trabalho, por todo carinho doado, por toda dedicação, apoio, incentivos e paciência. Além de orientação, me proporcionou amizade, a qual serei grata e levarei comigo por toda minha caminhada.

Aos meus professores, por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional.

Aos meus pais, pelo amor, dedicação e incentivo incondicionais. Agradeço a minha mãe, Tania, por ser meu exemplo de garra, por ser minha heroína, que sempre esteve comigo, me apoiando e incentivando nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Agradeço ao meu pai, Nelson, que apesar de todas as dificuldades, sonhou esse sonho comigo, me fortalecendo e apoiando em todos os momentos.

A minha irmã, Izabela, que sempre me doou amor, carinho e paciência. Sempre esteve do meu lado e torceu por mim.

Aos meus avôs, primos e tias por todo apoio e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu namorado, Guilherme, que durante esses anos foi meu amigo e companheiro. Por sempre estar ao meu lado nos momentos de lutas e de felicidades.

As minhas amigas e companheiras, Maynara, Letícia, Sarah, Ana Laura, Carolina, Júlia, Karoline, Letícia Padilha, Mirele por fazerem deste caminho árduo, uma caminhada leve e florida. Obrigada por todos os momentos de alegrias e lutas compartilhadas.

A todos os colegas do laboratório, por me auxiliarem durante a pesquisa e por contribuírem para minha formação.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, meu muito Obrigada!

Resumo

A poluição atmosférica é um dos grandes problemas da atualidade, desencadeando inúmeros impactos ambientais e também afetando diretamente a saúde humana, resultando em aumento da morbidade e mortalidade por inúmeras doenças respiratórias, cardiovasculares entre outras. O presente trabalho tem como objetivo caracterizar as alterações morfológicas sob a aorta dos camundongos expostos à poluição do ar na cidade de São Paulo. Os animais foram divididos em quatro grupos contendo cinco animais por grupo de acordo com a exposição à poluição atmosférica no período gestacional e/ou pós natal: ar filtrado (F-F-), ar não filtrado (NF-NF), ar filtrado e ar não filtrado (F-NF) e ar não filtrado e ar filtrado (NF-F). Após 120 dias de exposição os animais foram eutanasiados por superdosagem de anestésico e seus corações foram retirados para a realização dos procedimentos histológicos e análises estereológicas. O volume do coração, da aorta, veia cava e artérias pulmonares foram estimados por meio de avaliações morfométricas e estereológicas. As lâminas foram coradas com o método de Giemsa. Verificou-se que os valores referentes aos parâmetros: volume dos átrios direito e esquerdo, volume absoluto dos átrios e volume total do coração não apresentaram resultados significativos. Houve uma variação significativa no volume da área seccional da veia cava superior nos animais expostos à poluição tanto no período gestacional quanto nos períodos gestacional e pós natal. Este aumento da área seccional da veia cava superior pode ser indicativo para avaliação do estado volêmico em animais expostos e não expostos à poluição.

Palavras **chaves:** Poluição atmosférica, aorta, estereologia.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	8
1.1. Poluição atmosférica: aspectos gerais e a cidade de São Paulo.	8
1.2. A poluição do ar e os impactos à saúde humana.	7
1.3. Poluição Atmosférica e Doenças Cardiovasculares.	9
1.4. Artéria Aorta.....	11
2. Objetivos	15
2.1. Objetivo Geral	15
3. Metodologia.....	15
3.1. Grupos experimentais.....	15
3.2. Exposição	17
3.3. Obtenção da amostragem dos corações.....	19
3.4. Avaliação estereológica e morfométrica do coração e artéria aorta.....	19
3.5. Estimativa de volumes.....	20
3.6. Volumes e diâmetro da aorta.....	22
4. Resultados	23
5. Discussão dos resultados	27
6. Conclusão	30
7. Referências Bibliográficas	31

1. Introdução

1.1. Poluição atmosférica: aspectos gerais e a cidade de São Paulo

A Poluição atmosférica pode ser definida como a contaminação da atmosfera por resíduos sólidos, gasosos ou líquidos, que resultam em alterações das características químicas, físicas e/ou biológicas normais da atmosfera. Assim, o ar torna-se impróprio ou nocivo, causando prejuízos à saúde e à qualidade de vida da população. As fontes naturais de poluição do ar são a queima accidental de biomassa (qualquer material derivado de plantas ou animais) e erupções vulcânicas, as quais podem ser consideradas as mais antigas fontes de contaminação do ar (CANÇADO *et al.*, 2006).

A poluição atmosférica nos centros urbanos tem sido identificada como um grave problema de saúde pública, de modo mais concreto, desde o começo do século XX (Comiteeofthe Environmental andOccupational Health ofthe American ThoracicSociety, 1996).

As principais fontes de emissão associadas á contaminação do ar urbano são: as indústrias, desde o início da Revolução Industrial até os dias atuais, e os veículos automotores, que vêm se transformando na principal fonte de emissão a partir da segunda metade do século XX (SALDIVA; BRAGA; PEREIRA, 2002).

Durante a Revolução Industrial, primeira metade do século XX, as emissões não foram acompanhados de análises que pudessem avaliar seu impacto sobre o meio ambiente, a toxicidade dos resíduos produzidos e os prováveis danos à saúde (CANÇADO *et al.*, 2006), ecomo consequência, causou um aumento significativo do número de óbitos em algumas cidades da Europa e dos Estados Unidos e, atualmente é um dos problemas mais frequente que nos acomete ao redor do mundo (ARBEX *et al.*, 2012).

Com os resultados das pesquisas realizadas sobre a qualidade do ar e consequências a saúde da população, os países passaram a desenvolver ações de controle ambiental para a emissão de gases. Na década de 60 os Estados Unidos estabeleceram padrões de qualidade do ar, especificando os seis poluentes atmosféricos que seriam controlados, são eles: partículas totais, dióxido de enxofre (SO₂), monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrogênio (NO₂), ozônio (O₃) e chumbo (Pb). Com o intuito de efetivar esse controle criou-se a Agência de Proteção Ambiental norte-Americana (EPA).

Segundo Braga *et al.* (2001), mesmo onde o controle ambiental é mais efetivo, como nos países desenvolvidos, existe uma contínua discussão crítica sobre os efeitos da poluição atmosférica, mesmo nas concentrações consideradas “seguras” pela legislação. Há uma preocupação crescente nos países desenvolvidos com o aprimoramento de estudos usando os mais variados modelos e tendo como meta elucidar todo e qualquer questionamento. Vale ressaltar que, em tais países, o número de estudos sobre poluição atmosférica e seus efeitos deletérios à saúde tem crescido vertiginosamente ao longo das últimas décadas.

A poluição tornou-se um motivo de preocupação no Brasil, a partir da década de 70, época de grande crescimento econômico e industrial e de graves problemas de poluição, em cidades como Cubatão, Porto Alegre e São Paulo (MELO, 2015). Segundo Marques e Santos (2012), a primeira portaria que visava estabelecer padrões nacionais de qualidade do ar para material particulado, dióxido de enxofre, monóxido de carbono e oxidantes fotoquímicos, foi a Portaria do Ministério do Interior nº 231, estabelecida no ano de 1976. A próxima legislação foi desenvolvida pelo Instituto Brasileiro de Apoio ao Meio Ambiente (IBAMA), a fim de substituir a portaria 231/76, esta estabeleceu mais parâmetros para regulamentação, passando de quatro para sete. Posteriormente, esta portaria foi transformada na resolução CONAMA nº 03/90 (CETESB, 2006). Esta portaria regulamentou os principais poluentes e seus níveis aceitáveis de qualidade do ar. Sendo eles: partículas totais em suspensão (PTS), fumaça

(FMC), material particulado inalável (MP₁₀), dióxido de enxofre (SO₂), monóxido de carbono (CO), ozônio (O₃) e dióxido de nitrogênio (NO₂), estabelece ainda os padrões e métodos para avaliação da qualidade do ar e que é adotada em todo Brasil. A Tabela 1 ilustra os padrões nacionais de qualidade do ar estabelecidos pela resolução CONAMA nº 03/90.

Em março de 2005, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) publica a NBR 7256 sobre o tratamento de ar em estabelecimentos assistenciais de saúde (EAS) – Requisitos para projeto e execução de instalações (ABNT, 2005). Esta norma estabelece os requisitos mínimos para o projeto e execução de instalações de tratamento de ar em estabelecimentos assistenciais de saúde (MIYAGUSKO, 2008).

Tabela 1-Padrões nacionais de qualidade do ar (CONAMA nº 03/90).

Poluente	Tempo de amostragem	Padrão Primário µg/m ³	Padrão Secundário µg/m ³
Partículas totais em suspensão	24 horas ¹ MGA ²	240 80	150 60
Partículas Inaláveis	24 horas ¹ MAA ³	150 50	150 50
Fumaça	24 horas ¹ MAA ³	150 60	100 40
Dióxido de Enxofre	24 horas ¹ MAA ³	365 80	100 40
Dióxido de Nitrogênio	1 hora ¹ MAA ³	320 100	190 100
Monóxido de Carbono	1 hora ¹	40.000 35 ppm	40.000 35 ppm
	8 horas ¹	10.000 9ppm	10.000 9ppm
Ozônio	1 hora ¹	160	160

1- não deve ser excedido mais que uma vez ao ano; 2- Média Geométrica anual; 3- Média aritmética anual.

Os padrões de qualidade do ar foram atualizados em 2015 pela Organização Mundial de Saúde (OMS), demonstrados na Tabela 2, neste documento divulgado também se

recomenda que, ao estabelecer os padrões de qualidade do ar (PQAr), deve-se considerar a heterogeneidade das populações, como as diferenças sociais, econômicas e políticas.

Tabela 2 - Padrões nacionais de qualidade do ar estabelecido pela OMS (2015).

Principais Poluentes	Padrões	
	Média Anual	Média 24 horas
MP_{2,5}	10 µg/m ³	25 µg/m ³
MP₁₀	20 µg/m ³	50 µg/m ³
Média de 8 horas		
O₃	100 µg/m ³	
Média Anual		
NO₂	40 µg/m ³	Média de 1 hora
		200 µg/m ³
Média 24 horas		
SO₂	20 µg/m ³	Média de 10 minutos
		500 µg/m ³

O município de São Paulo está localizado na região sudeste do país, sendo a capital do estado de São Paulo. Caracteriza-se por ser o principal centro financeiro da América do Sul e por ser a cidade brasileira mais influente no cenário mundial sendo a 14ª cidade mais industrializada do mundo. São Paulo é considerada a sétima cidade mais populosa do planeta.

E segundo De Toledol e Nardocci(2011), tem na poluição do ar um problema de extrema importância, sendo os veículos a sua maior fonte de emissão dos poluentes atmosféricos.

A CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental) divulga diversos relatórios sobre a qualidade do ar em São Paulo. Em 2005, divulgou um relatório sobre a quantidade de poluentes liberados pelas fontes de poluição (indústrias, automóveis e etc.). Detectaram que são liberadas por ano: milhões de toneladas de monóxido de carbono (CO), 354 mil toneladas de hidrocarbonetos, 317 mil toneladas de nitrogênio (NO_x), 28 mil toneladas de material particulado total (MP) e 12 mil toneladas de óxidos de enxofre (SO_x). Sendo os veículos responsáveis por 97% das emissões de CO, 97% de HC, 96% NO_x, 40% de MP e 42% de SO_x.

Segundo Rodrigues (2007), os principais causadores da poluição atmosférica em São Paulo, são os veículos automotores leves, pois cerca de 7,4 milhões de veículos, 1/5 da frota brasileira, se concentra na capital. Também afirma que, as emissões lançadas no ambiente pelos veículos contêm diversas substâncias tóxicas que podem causar danos à saúde. A segunda maior causa de poluição atmosférica em São Paulo são as cerca de 2000 indústrias de alto potencial poluidor.

Segundo Soares (2006), nas grandes cidades os principais poluentes atmosféricos são o material particulado (MP₁₀), o ozônio (O₃), dióxido de enxofre (SO₂), monóxido de carbono (CO) e os óxidos de nitrogênio (NO₂).

O material particulado é uma mistura de partículas líquidas e sólidas em suspensão no ar. Sua composição e tamanho dependem das fontes de emissão (BRAGA *et al.*,2001).Rodrigues (2007) em seu trabalho, sobre as medidas de indicadores de estresse oxidativo e de remodelamento cardíaco em camundongos expostos à poluição atmosférica ambiental durante o desenvolvimento embrionário e pós-natal,classificou o material particulado, considerando oMP₁₀, partículas quecorrespondem entre 2,5 e 10 µm micrômetros

de diâmetro (podem penetrar no trato respiratório inferior);MP_{2,5}, que correspondem às partículas respiráveis menores que 2,5 µm (podem penetrar na região da parede do alvéolo pulmonar), eMP_{0,1}correspondem a partículas ultrafinas menores que 100nm.

São muitos os gases dispersos na atmosfera, porém a qualidade do ar também pode ser afetada em decorrência de fatores meteorológicos, pois estes afetam diretamente a diluição dos poluentes. É por isso que a qualidade do ar piora com relação aos parâmetros CO, MP e SO₂durante os meses de inverno, quando as condições meteorológicas são mais desfavoráveis à dispersão dos poluentes (ANDRADE, 1993).

Loureiro (2005) afirma que os poluentes do ar que nos acometem, podem ser classificados em primários; que são diretamente emitidos pelas fontes de poluições. E secundários; que são formados por reações químicas na atmosfera entre os poluentes primários. Estes poluentesestão associados diretamente à saúde da população. Segundo Who (2003), vários estudos têm sido desenvolvidos nos últimos anos para identificar os efeitos da poluição do ar sobre a saúde.

1.2. A poluição do ar e os impactos à saúde humana

A poluição do ar provocada pela rápida urbanização ao redor do mundo trouxe consigo suas devidas consequências para a saúde. Estima-se que aproximadamente 50% da população vivem em cidades urbanas. Em 2012, a poluição do ar foi responsável por mais de sete milhões de mortes prematuras em todo o mundo. Sendo, 3,7 milhões destas mortes, devido à externa poluição do ar e 3, 4 milhões devido à poluição intradomiciliar. Isto significa que uma em cada oito mortes no mundo está relacionada à exposição ao ar contaminado (WHO, 2014). É sabido que, em curto prazo, os efeitos da poluição são mais sentidos por idosos, crianças e pessoas com problemas cardíacos e pulmonares pré-existentes (GOLDBERG *et al.*, 2001) e que, em longo prazo, a exposição pode reduzir a longevidade

(POPE *et al.*, 1995; SCHWARTZ, 2000) e diminuir a expectativa de vida em um a dois anos para diferenças reais de exposição (BRUNEKREEF, 1997).

Existe uma grande quantidade de estudos epidemiológicos descrevendo os riscos potenciais para a saúde devidos à exposição aos poluentes da atmosfera, tanto em adultos como em crianças, mostrando que há um aumento da mortalidade e morbidade por doenças respiratórias e cardiovasculares (NEMMAR *et al.*, 2002).

Alguns dos efeitos decorrentes da exposição aos diferentes poluentes atmosféricos mais significativos que têm sido evidenciados envolvem resposta inflamatória pulmonar e sistêmica, alteração da coagulação sanguínea, promoção e potencialização do processo aterosclerótico, e disfunção autonômica cardíaca (COLOMBINI, 2008).

Rodrigues (2007) afirma que há um aumento da morbidade e mortalidade em decorrência de doenças cardiovasculares em indivíduos expostos a material particulado menor ou igual $MP_{2,5}$ (partículas respiráveis menores que $2,5 \mu m$) e que nos períodos de maior nível de poluentes há um aumento de internações hospitalares. Há diversas explicações para se entender a ocorrência das mortalidades, uma delas está nas altas concentrações de oxidantes e pró-oxidantes contidos nos poluentes ambientais que, em contato com o epitélio respiratório geram a formação de radicais livres de oxigênio e de nitrogênio e, juntos, provocam o estresse oxidativo nas vias aéreas. Segundo Arbex *et al.* (2012), isto inicia uma resposta inflamatória com a liberação de células e mediadores inflamatórios, sendo elas, citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão, que alcançam a circulação sistêmica, induzindo a uma inflamação subclínica que não afeta somente o sistema respiratório, mas também outros sistemas do corpo humano.

Segundo Sharara; Seifer; Flaves (1998), a poluição ambiental não só provoca problemas respiratórios e cardíacos, mas também existe uma relação entre exposição à poluição e problemas reprodutivos, como infertilidade, falência ovariana, alterações

comportamentais, restrição do crescimento intrauterino, abortos, baixo peso do recém-nascido, entre outros.

Entre os fatores ambientais que influenciam a saúde humana, além daqueles provenientes dos parques industriais, não podemos esquecer-nos dos efeitos de um que tem se tornado um grave problema de saúde pública, que é o tabagismo (BACKES, 2004). E de acordo com a OMS, o cigarro é considerado o maior causador de poluição ambiental doméstica, podendo agir isoladamente, ou vir a somar-se aos efeitos negativos dos poluentes ambientais, e potencializar a sua ação.

1.3. Poluição Atmosférica e Doenças Cardiovasculares

Nos últimos anos diversos estudos epidemiológicos estão sendo apresentados discutindo a relação do aumento da morbi/mortalidade do risco cardiovascular e a poluição atmosférica. O aumento do número de internações por doenças cardiovasculares e respiratórias está intimamente associado ao aumento da emissão de gases poluentes na atmosfera. Estudo realizado por Braga *et al.* (2007) na cidade de Itabira – MG evidenciou que poluição do ar está associada ao aumento nos atendimentos de pronto-socorro por doenças respiratórias entre crianças e adolescentes e por doenças cardiovasculares entre adultos. Além disso, foi verificado que os efeitos respiratórios se mostraram mais prolongados do que os efeitos cardiovasculares. Neste estudo verificou-se que dos 6.570 atendimentos por doenças respiratórias de crianças com menos de 13 anos que ocorrem na cidade de Itabira ao longo de um ano, trezentos deles estão relacionados com a poluição do ar por material particulado. Martins (2004), em estudo desenvolvido em São Paulo verificou um aumento do risco de doenças isquêmicas do coração de 3% na faixa etária entre 45 e 64 anos para aumentos de $25\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Estima-se que o aumento de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de MP_{10} na atmosfera aumenta a mortalidade total diária em 1,8%, doenças respiratórias em 3,4% e mortalidade por doenças cardiorrespiratórias em 1,4%, segundo o Committee of the Environmental and Occupational Health Assembly of The American Thoracic Society (1996). Em um estudo Multi-Étnico sobre aterosclerose realizado por Van Hee; Adar; Szpiro (2009) observou-se que houve um aumento da massa ventricular esquerda de pessoas que residem próximo a estradas principais com fluxo alto de veículos.

Segundo Brook *et al.* (2002), o material particulado $\text{MP}_{2,5}$ e o ozônio presente nos altos índices de poluição atmosférica, alteram a reatividade e o tônus arterial em humanos. Além disso, a poluição atmosférica também é responsável por algumas implicações patofisiológicas do infarto do miocárdio (VERMYLEN *et al.*, 2005). Elevações da pressão arterial sistólica e diastólica esta associada à níveis elevados da concentração ambiental de $\text{MP}_{2,5}$ (ZANOBBETTI, 2004).

No entanto, ainda não foi descrito o mecanismo biológico pelo qual a poluição ambiental influenciaria no sistema cardiovascular. Uma hipótese sugere que a poluição ambiental alteraria o controle neural do sistema nervoso autônomo do coração (SCHWARTZ *et al.*, 1994; EILSTEIN *et al.*, 2001; BROOK *et al.*, 2002; D'LEPPOLITI *et al.*, 2003; NAFSTAD *et al.*, 2004), ocasionando um descontrole do ritmo átrio-ventricular, infarto do miocárdio e arritmias cardíacas, que levam a um aumento da mortalidade e da morbidade. Outros acreditam que os níveis de poluição ambiental podem gerar respostas inflamatórias no tecido cardíaco, disfunções nos canais iônicos dos cardiomiócitos, aterosclerose e trombooses (ROUTLEDGE *et al.*, 2003; POPE *et al.*, 2004).

Estudo realizado por realizado por Soares (2006), sobre o efeito aterogênico da poluição atmosférica, indica que há uma relação da poluição do ar com um possível estreitamento das artérias carótidas, responsáveis por transportar o sangue arterial do coração

para o cérebro. A exposição diária à poluição do ar pode acarretar um alto risco de acidente vascular encefálico (AVE), pois a exposição do ar poluído altera o colesterol do sangue, provocando a aterosclerose, ou seja, aumento da placa de gordura nos vasos, que por sua vez, pode ocasionar problemas como infarto e derrames cerebrais. O estudo supracitado consistiu na exposição de camundongos à poluição do ar desde nascimento até a idade de quatro meses, o equivalente a idade de 40 anos em seres humanos. Os camundongos que estavam expostos ao ar poluído apresentaram paredes das artérias mais espessas. O sangue deles também continha mais LDL (LowDensityLipoproteins) alterado e anticorpos que indicam maior risco de infarto.

Segundo Pope *et al.* (2004), a poluição do ar está associada ao aumento da viscosidade sanguínea, aumento de marcadores inflamatórios como proteína C reativa e fibrogênio, alterações da coagulação sanguínea, progressão da arteriosclerose, à redução da variabilidade da frequência cardíaca (indicador de risco para arritmia e morte súbita), à vasoconstrição e também ao aumento da pressão arterial. Sendo estes fatores de risco para doenças cardiovasculares.

Em estudos realizados por Martins (2004), pode observar que, em São Paulo houve um aumento do risco de doenças isquêmicas do coração de 3% na faixa etária entre 45 e 64 anos para aumentos de 25µg/m³.

1.4. Artéria Aorta

Do coração, além do tronco pulmonar emerge a aorta, o principal tronco das artérias sistêmicas, caracterizando-se por formar o arco da aorta, logo na sua emergência cardíaca, sua continuação caudal, em posição dorsal, paralela aos corpos vertebrais, sendo chamada de aorta torácica; assim prossegue até atravessar o diafragma através do hiato aórtico, passando então, a ser denominada de aorta abdominal. Esta, ainda paralela aos corpos vertebrias, segue

caudalmente emitindo em seu percurso, diversos ramos às vísceras abdominais; na altura da quarta, quinta ou sexta vértebra lombar, esta se divide em artérias ilíacas (SCHUMMER *et al.*, 1981).A aorta tem valiosa função como bomba auxiliar e é o maior vaso elástico distribuidor de sangue oxigenado para os diversos tecidos e órgãos do corpo (CATTEL *etal.*, 1996; SILVER; HORVATH; FORAN., 2001).A aorta e seus grandes ramos apresentam denominação de artérias elásticas ou de grande calibre (FILHO, 2010). Possui três centímetros (cm) de diâmetro e cerca de 5 centímetro (cm) de comprimento em adultos (DÂNGELO; FATTINI, 1995; WILLIAMS *et al.*, 1995).

Segundo Dias e Stolf (2006), a aorta é uma artéria elástica composta por três camadas: a íntima, a média e a adventícia. A camada interna ou íntima é a camada mais interna e consiste de uma única camada de células endoteliais sobre uma lâmina basal ou lâmina elástica interna que separa a íntima da média. Esta lâmina, composta principalmente de elastina, possui fenestras que permitem a difusão de substâncias para nutrir células situadas mais profundamente na parede do vaso (FILHO, 2010). Como resultado da ausência de pressão sanguínea e da contração do vaso por ocasião da morte, a lâmina elástica interna das artérias geralmente apresenta um aspecto ondulado nos cortes histológicos (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008).

A camada média é constituída de células musculares lisas em matriz de elastina, colágeno e substância fundamental mucóide dispostas como lamelas circulares, compondo as fibras elásticas da parede da aorta. As unidades lamelares (lamelas elásticas concêntricas) constituem o arcabouço estrutural da camada média e servem para manter o fluxo de sangue para diante durante a diástole. Durante a sístole, o diâmetro das lamelas aumenta, enquanto que na diástole, as fibras elásticas sofrem um rebote elástico projetando para diante o sangue no interior da aorta (DOBRIN, 1978).A túnica média possui uma lâmina elástica externa mais delgada que a separa da túnica adventícia (FILHO, 2010). Salienta-se que nas grandes artérias

a quantidade de lâminas elásticas na túnica média oferece a esta camada a capacidade de regular o fluxo sanguíneo (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008).

Circundando a média, encontra-se a camada adventícia, constituída de tecido conectivo frouxo com fibroblastos, colágeno, elastina e substância fundamental (DIAS; STOLF, 2006). Também são encontrados, nesta túnica, capilares linfáticos, *vasa vasorum* (vaso dos vasos), e nervos, podendo estas estruturas penetrar até a porção mais externa da média (FILHO, 2010).

Verifica-se na literatura especializada destaque ao componente elástico da parede arterial (lamelas de elastina), além de outros constituintes, como o colágeno e o músculo liso, que formam um "sistema mio-elástico" (MELLO, 1999), o qual apresenta papel morfofuncional na visco-elasticidade da parede desse vaso (WOLINSKY & GLAGOV, 1967; DINGEMANS *et al.*, 1981; CLARK & GLAGOV, 1985; DAVIS, 1993; STHEBENS, 1996 e MELLO, 1999).

O colágeno e a elastina são as principais proteínas estruturais da aorta, sendo o primeiro responsável pela força tensil do vaso e a segunda pela sua capacidade de rebote elástico (DOBRIN; BAKER; GLEY, 1984). Afibrilina, proteína que se distribui na matriz extracelular de vários tecidos, funciona como arcabouço para depósito de elastina durante a elastogênese. Outras proteínas estruturais da matriz extracelular são a lâmina, os glicosaminoglicanos, os proteoglicanos e a fibronectina. Alterações dessas proteínas também estão relacionadas ao aumento do diâmetro da aorta (DIAS; STOLF, 2006). A manutenção do diâmetro externo da aorta é função biomecânica da adventícia. A perda de células musculares lisas da média não deve alterar esse diâmetro externo (WHITE, 1993).

A exposição a partículas de ar (MP) pode resultar em várias doenças, incluindo doenças cardiovasculares (DCV), tais como aterosclerose, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, isquemia miocárdica, doenças coronárias e arritmia cardíaca (WANG *et al.*,

2016). Achados epidemiológicos mostram uma clara associação entre a exposição em longo prazo às $MP_{2,5}$ / MP_{10} e a aterosclerose. A exposição ao tráfego também está associada à aterosclerose (HOLFFMANN *et al.*, 2009).

Segundo Wang *et al.* (2016), a fonte de emissão que mais preocupa é a emissão de veículos. Esta que está ligada à variabilidade da frequência cardíaca (VFC) (ZANOBETTI *et al.*, 2010), repolarização cardíaca (CAMPEN *et al.*, 2010) e regulação dos genes endoteliais (MARESH *et al.*, 2011). Poluentes do ar como dióxido de nitrogênio, dióxido de enxofre, monóxido de carbono, etc., podem induzir risco cardiovascular por conta própria ou combinados com a exposição a MP (WANG *et al.*, 2016).

Estudos desenvolvidos por Künzli *et al.* (2010) e Holffman *et al.* (2007) demonstraram uma associação de alta exposição ao tráfego residencial - a fonte mais importante de variabilidade intra-urbana de MP e ruído - com diferentes medidas de aterosclerose dos vasos coronários e de vasos de grande calibre.

Kälsch *et al.* (2014), afirma que a exposição à poluição atmosférica e ao ruído do trânsito rodoviário em longo prazo estão associados a aterosclerose. Concluindo que a exposição a longo prazo à poluição do ar e ao ruído de trânsito rodoviário são fatores de risco para a mesma.

Tendo em vista as consequências da poluição do ar a diversos sistemas do corpo humano, o presente trabalho fundamentou-se na necessidade de estudos sobre a análise estereológica e morfométrica da aorta em animais expostos a poluição do ar, a fim de investigar e gerar informações para que medidas de proteção à saúde possam ser tomadas de acordo com as necessidades da população residente.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da poluição do ar sobre as alterações morfológicas da aorta ascendente por meio de técnicas estereológicas e morfométricas em camundongos Balb C.

2.2. Objetivos Específicos

- Comparar o volume total da aorta em animais expostos e não expostos à poluição do ar;
- Estimar o volume da luz da aorta;
- Comparar o volume do diâmetro da aorta em animais expostos e não expostos à poluição;
- Comparar a área seccional da artéria aorta, veia cava, artéria tronco pulmonar e átrios direito e esquerdo em animais expostos e não expostos à poluição.

3. Metodologia

3.1. Grupos experimentais

Foram utilizados camundongos Balb C fêmeas oriundas do Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), a fim de verificar os efeitos da exposição à poluição do ar sobre a morfologia da artéria aorta. Os protocolos foram realizados de acordo com as normas internacionais e institucionais de experimentação animal American Veterinary Medical Association (AVMA, 2000), e aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), sob o número 0063/09.

Os camundongos com 20 dias de idade, mantidos na câmara filtrada (cinco fêmeas e cinco machos) e na câmara não filtrada (cinco fêmeas e cinco machos) até atingirem a idade

reprodutiva. Nesta etapa, foram formados cinco casais nas respectivas câmaras, mantidos separadamente em caixas individuais. Os filhotes oriundos deste cruzamento formaram a geração 1 (G1), e foram mantidos em suas câmaras por um período de 21 dias. Após o desmame, os mesmos foram separados das mães e agrupados em suas respectivas câmaras em duas caixas, uma contendo dez fêmeas e outra, com dez machos, escolhidos aleatoriamente. Ao atingirem a idade reprodutiva (60 dias), foram agrupados em casais que produziram os filhotes da terceira geração (G3), em suas respectivas câmaras, filtrada (f) e não-filtrada (NF).

Após o nascimento das ninhadas **G3**, os filhotes permaneceram com a mãe durante o período de lactação (21º dia). Após o desmame, as mães e os filhotes machos foram retirados do estudo. Metade das fêmeas que estiveram durante o período gestacional expostas na câmara de ar filtrado passou a serem expostas na câmara de ar não filtrado, até atingir a maturidade (120 dias de vida), e a outra metade permaneceu sendo exposta na câmara de ar filtrado até completar 120 dias de vida. Da mesma forma, metade dos filhotes das fêmeas que foram expostas ao ar não filtrado durante a vida gestacional, passou a ser exposta na câmara de ar filtrado até atingirem a idade adulta e a outra metade permaneceu na câmara de origem.

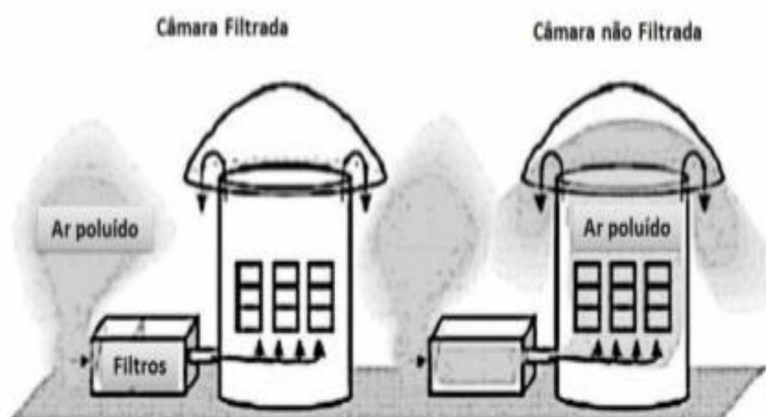
Desta forma, formaram-se quatro grupos:

- I. Grupo 1 (F-F) = exposição gestacional e pós-natal à câmara de ar filtrado;
- II. Grupo 2 (NF-F) = exposição à câmara de ar não filtrado no período gestacional e a câmara de ar filtrado no período pós-natal;
- III. Grupo 3 (F-NF) = exposição à câmara de ar filtrado no período gestacional e à câmara de ar não filtrado no período pós-natal;
- IV. Grupo 4 (NF-NF) = exposição gestacional e pós-natal à câmara de ar não filtrado.

Para a execução dos experimentos foram utilizadas cinco fêmeas de cada grupo (F-F; NF-F; F-NF; NF-NF), após completarem 120 dias, escolhidas aleatoriamente. A escolha da terceira geração visou assegurar que os animais do grupo F efetivamente não sofreram qualquer tipo de exposição ao ar poluído, uma vez que os animais do G1, por serem obtidos diretamente do Biotério, poderiam apresentar algum tipo de exposição à poluição do ar. Da mesma forma, ficou patente que os animais do grupo NF foram sempre expostos aos efeitos da poluição atmosférica.

3.2. Exposição

Exposição dos animais foi realizada no jardim da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), em câmaras de exposição. A FMUSP está localizada na intersecção da Rua Teodoro Sampaio com a Av. Dr. Arnaldo, muito próximo (100 m) de uma estação de monitoramento da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), que registra diariamente os níveis de MP_{10} , NO_2 , CO e SO_2 . Foram usadas duas câmaras de topo aberto montadas lado a lado (Fig.2): uma recebendo ar do meio ambiente (câmara poluída), e a outra recebendo ar filtrado (câmara limpa). A entrada de ar ocorre na base do cilindro, sendo distribuído uniformemente, através de furos, a um fluxo de 50 l/seg e exaurido pelo topo por uma grande abertura. Esta câmara é um sistema normobárico, no qual a pressão interna não excede 3 cm de H_2O . Na câmara limpa foram colocados filtros: o primeiro para as partículas grandes e o segundo para as partículas finas (Purafil, São Paulo, modelo TB e modelo JFL-90); e o último para adsorver substâncias químicas. No interior das câmaras, os animais foram mantidos sob as mesmas condições de temperatura e umidade do ar, recebendo água e ração *ad libitum*.



Representações esquemáticas das câmaras de exposição, mostrando os filtros externos na câmara filtrada e o sentido da circulação do ar em ambas as câmaras filtrada e não filtrada. Figura 1.

Fonte: VERAS *et al.*, 2008.

A concentração dos poluentes ($MP_{2,5}$ = material particulado $\leq 2,5 \mu m$) dentro das câmaras foi determinada gravimetricamente, utilizando impactadores Haward (Air Diagnostics, Harrison, ME) sob uma taxa de fluxo de $10 L.m^{-1}$ equipados com filtros de policarbonato; os resultados sendo expressos em $\mu g/m^3$. Ainda utilizando os mesmos filtros, análises elementares (Na, Al, Si, P, S, K, Ca, Ti, V, Fe, Ni, Cu, Zn e Pb) foram realizadas com o auxílio de um espectrofotômetro de fluorescência de raio X (Shimadzu EDX 700).

A exposição dos animais foi estimada com base na dose média diária de exposição ao $MP_{2,5}$, já a dose de exposição durante o período gestacional foi calculada multiplicando-se o volume total de ar inalado durante o período gestacional (18 dias) pela concentração média diária de $MP_{2,5}$ no período, como mostrado na fórmula a seguir:

$$DOSE \text{ DE EXPOSIÇÃO} = C * T * Txl$$

onde C é a concentração do poluente, T é o tempo de exposição e Txl é a taxa de ventilação.

O volume de ar inalado por um camundongo em uma hora foi considerado 0,0022 m³, desta forma, o volume de ar inalado em 18 dias = 0,0022 m³/h * 18 (dias) * 24 horas = 432 * 0,0022 m³ = 0,95 m³ de ar.

Assim, por exemplo, há uma concentração média de 10 µg/m³ a dose de exposição acumulada seria de 0,95 * 10 µg = 9,5 µg.

3.3. Obtenção da amostragem dos corações

Após o período de exposição, as fêmeas foram pesadas e eutanasiadas por superdosagem de anestésico inalatório Isoflurane® (AVMA, 2000).

Em seguida, após incisão na longitudinal mediana, tiveram a pele do tórax rebatida lateralmente para a realização de uma toractomia mediana com posterior secção das costelas, a fim de facilitar a exposição do coração e sua remoção com os vasos da base. O coração foi então imerso em solução salina e, após levemente enxugado e pesado, foi fixado por imersão em solução de paraformaldeído 4% em PBS por 24 horas. Retirado do fixador, foi então transferido para o álcool 70%, até o momento da análise.

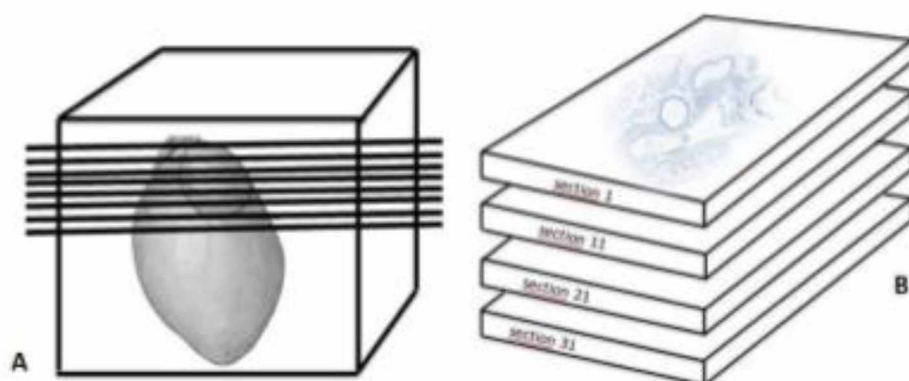
Finalizada a coleta dos espécimes, as carcaças dos animais foram descartadas, seguindo as normas de descarte para resíduos biológicos não contaminados FMUSP, quando foram acondicionadas em sacos de lixo biológico, identificadas e destinadas à incineração.

3.4. Avaliação estereológica e morfométrica do coração e artéria aorta

Depois de retirados, os corações dos animais de todos os grupos foram pesados e incluídos rotineiramente em parafina, a fim de serem submetidos a cortes seriados de espessura de 5µm, transversais ao longo do eixo do órgão, que foram realizados no sentido de base para o ápice cardíaco. Desta forma, foram feitos tantos cortes quanto necessários a fim

de se esgotar completamente a região dos átrios, cujo número variou, de acordo com o volume atrial de cada espécime (cerca de 200 a 600 cortes).

O coração foi amostrado de forma sistemática e uniforme, e um em cada dez cortes (ou seja, uma distância de 50 μm) foi coletado em lâminas. Neste protocolo de amostragem, o primeiro corte selecionado ocorreu no intervalo entre o 1º e o 10º corte, sendo determinado aleatoriamente. Por exemplo, se o número 1 foi sorteado, os cortes 1,11,21,31,41,51, etc. foram coletados. Se o número 3 foi sorteado, os cortes 3,13,23,33,43,53, etc. foram coletados.



(a) Representação esquemática da orientação do coração para inclusão em parafina e realização dos cortes seriados; em (b) representação dos cortes selecionados para análise e corados com técnica Giemsa. Figura 2.

3.5. Estimativa de volumes

Para se estimar o volume dos átrios e o diâmetro da aorta, as laminas foram montadas contendo 3 cortes cada (ex: 1,11,21) e corados pelo método não-histoquímico de Giemsa, descrito por Barbosa (1978).

O volume total dos corações (V_{cor} , cm^3) foi obtido dividindo-se o peso (g) pela densidade específica do tecido, neste caso considerada $1,06 \text{ g/cm}^3$ (BRÜEL & NYENGAARD, 2002).

Já o volume dos átrios foi obtido utilizando-se o Princípio de Cavalieri (GUNDERSEN; JANSEN, 1987; HOWARD; REED, 2005). Para que o corte pudesse ser visto ao microscópio em sua totalidade uma objetiva de pequeno aumento (2,5 x) foi utilizada para se obter as fotomiografias. Com o auxílio do software ImageJ, um sistema de teste de pontos (área associada ao ponto = $0,1 \text{ mm}^2$) foram sobrepostos as imagens e os pontos incidentes sobre os átrios foram contados diferencialmente para o direito (ptAD) e esquerdo (ptAE) (Fig. 4). E aplicando-se as equações [1,2] a seguir os volumes dos átrios (esquerdo e direito) puderam ser estimados:

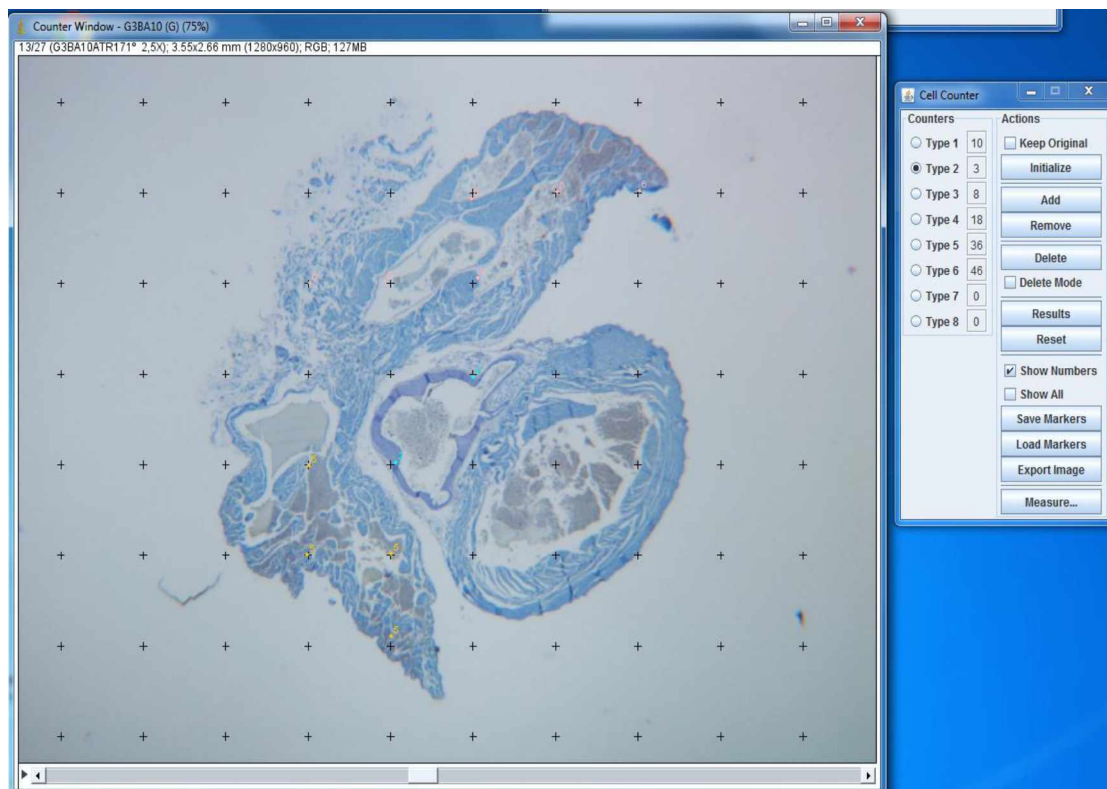
$$[1] V_{AD} = T \times a(p) \times \sum Pts_{AD}$$

$$[2] V_{AE} = T \times a(p) \times \sum Pts_{AE}$$

onde T é a distância entre os cortes (números de cortes multiplicado pela espessura dos cortes = 50μ ; $a(p)$ = a área associada ao ponto, e $\sum Pts_{ADE} \sum Pts_{AE} \sum Pts_{AD}$ = somatória de pontos incidentes no átrio direito e esquerdo, respectivamente.

O VTA (volume total do átrio) foi então obtido, somando-se V_{AD} e V_{AE} .

Fotografados com objetiva de 40x sob lupa estereoscópica com uma câmera acoplada, objetivando a captura das imagens que após serem transmitidas para um computador munido de programa específico, permitiu fotografar a artéria aorta com precisão.



Exemplo da aplicação do sistema teste de pontos (ferramenta GRID) e contagem do número de postos (ferramenta CELL COUNTER) utilizando o programa de análise de imagens ImageJ para avaliação dos volumes das regiões atriais. Figura 3.

3.6. Volumes e diâmetro da aorta.

O volume da aorta e o volume de sua luz foram estimados pelo Princípio de Cavalieri (MAYHEN; OLSEN, 1991). Segundo Mariotti (2009), o matemático italiano Bonaventura Cavaieri (1598-1647) demonstrou que o volume de qualquer objeto $V_{(Obj)}$ pode ser estimado a partir de secções paralelas separadas por uma distância conhecida (T), somando-se as áreas de todas as secções obtidas do objeto ($\sum a$) e multiplicada por T. Assim, temos: $V_{(aorta)} = T \times \sum_{\text{pontos incidentes na aorta.}}$

3.7. Análise Estatística.

A análise estatística foi realizada utilizando-se os softwares estatísticos SPSS 17. As médias (M), os desvios padrões (DP) foram calculados para cada grupo e relação aos parâmetros avaliados.

Teste t pareado de *Student* foi utilizado para se realizar as comparações dos valores da concentração de MP_{2,5} entre as câmaras.

Uma análise multivariada (two-way ANOVA) foi realizada para avaliar os efeitos da exposição gestacional e pós natal sobre os desfechos estudados. Este teste produz um termo de interação que identifica se o efeito de um fator (exposição gestacional) é ou não influenciado pelo efeito de outro fator (exposição pós natal). Hipótese nula foi rejeitada ao nível de probabilidade de $P < 0,05$.

4. Resultados

4.1. Massa corpórea dos animais e massa dos corações

A relação entre a massa corpórea e massa do coração dos animais dos grupos e as médias ($\pm$ Desvio Padrão) da massa corpórea e massa do coração (g) estão expressos na tabela 3.

Os resultados estatísticos apresentados na Tabela 3 demonstram que existe diferença significativa para o parâmetro massa corporal entre os grupos experimentais ($p < 0,03$). Nota-se que ao comparar as médias dos grupos F-NF e NF-NF com o grupo F-F há uma redução da massa corpórea dos animais expostos à poluição no período natal ($p < 0,01$), além da variação significativa da massa corpórea, verifica-se um efeito de interação estatisticamente significativo para os animais submetidos à exposição pós-natal, pois ao retirar os animais de um ambiente filtrado para um não filtrado a média da massa corpórea foi alterada. No entanto, com a exposição gestacional verificou-se um efeito oposto.

Tabela 3 – Resultados da Média e Desvio Padrão (DP) do valor referente aos parâmetros peso corporal (g), peso do coração (g) e a razão entre ambos nos grupos F-F, N-F, NF-F E NF-NF.

Desfecho	Exposição Gestacional	Exposição pós natal	Média	Desvio padrão	N	<i>p</i>
Massa (g)	F	F	25,010	1,128	5	0,03
		NF	21,943	1,374	4	
	NF	F	23,036	2,224	5	
		NF	22,028	1,351	5	
Massa do coração (g)	F	F	0,103	0,007	5	Ns
		NF	0,102	0,009	4	
	NF	F	0,102	0,014	5	
		NF	0,099	0,011	5	
Razão massa do coração / Massa corpórea	F	F	0,0041	0,0004	5	Ns
		NF	0,0047	0,0004	4	
	NF	F	0,0044	0,0003	5	
		NF	0,0045	0,0003	5	

F= filtrada; NF= não filtrada; ns= não significativo.

4.2. Volume total do coração e dos átrios

Os dados relativos ao volume do coração, volume do átrio direito (VAD), Volume do átrio esquerdo (VAE), Volume absoluto dos átrios (VAT) estão demonstrados na tabela 4.

Tabela 4 – Resultados da Média e Desvio Padrão (DP) do valor referente aos parâmetros volume do átrio direito (VAD), Volume do átrio esquerdo (VAE), Volume absoluto dos átrios (VAT) e Volume total do coração (cm³) e a razão entre ambos nos grupos F-F, F-NF, NF-F e NF-NF.

Desfecho	Exposição Gestacional	Exposição pós natal	Média	Desvio padrão	N	<i>p</i>
Volume total do coração (cm ³)	F	F	0,098	0,006	5	ns
		NF	0,096	0,009	4	
	NF	F	0,096	0,013	5	
		NF	0,093	0,011	5	
V _{AD}	F	F	1,17	0,38	5	ns
		NF	1,18	0,32	4	
	NF	F	1,22	0,82	5	
		NF	1,34	0,22	5	
V _{AE}	F	F	0,53	0,20	5	ns
		NF	0,44	0,33	4	
	NF	F	0,80	0,43	5	
		NF	0,94	0,51	5	
V _{AT}	F	F	1,70	0,22	5	ns
		NF	1,62	0,52	4	
	NF	F	2,02	1,21	5	
		NF	2,27	0,60	5	

F= filtrada; NF= não filtrada; ns= não significativo.

4.3. Análise morfométrica

Analisando de maneira comparativa as áreas seccionais (área seccional da artéria aorta, área seccional da veia cava, área seccional da artéria tronco pulmonar, e áreas seccionais dos átrios direito e esquerdo) dos grupos (F-F, F-NF, NF-F, NF-NF), foi possível verificar que não houve diferença estatística significativa entre os grupos (resultados ilustrados na tabela 5).

Tabela 5-Resultados das Médias e Desvio Padrão (DP) do valor referente aos parâmetros área seccional da artéria aorta, área seccional da veia cava, área seccional da artéria tronco pulmonar, área seccional do átrio esquerdo e área seccional do átrio direito entreos grupos F-F, F-NF, NF-F e NF-NF.

Desfecho	Exposição Gestacional	Exposição pós natal	Média	Desvio padrão	N	p
Área seccional da aorta	F	F	14340,00	1689,08	5	ns
		NF	1014,00	5202,21	5	
	NF	F	12750,00	3004,50	6	
		NF	11850,00	2825,42	6	
Área seccional átrio direito	F	F	48860,00	6510,22	5	ns
		NF	48420,00	9912,72	5	
	NF	F	48850,00	18469,30	6	
		NF	49000,00	18865,84	6	
Área seccional átrio esquerdo	F	F	30300,00	10314,07	5	ns
		NF	21540,00	16381,48	5	
	NF	F	27400,00	21442,48	6	
		NF	26750,00	16931,72	6	
Área seccional veia cava	F	F	2550,00	866,03	4	ns
		NF	4950,00	3122,50	4	
	NF	F	3480,00	690,65	5	
		NF	3360,00	1429,34	5	
Área seccional tronco pulmonar	F	F	12780,00	2637,61	5	ns
		NF	9630,00	2575,46	5	
	NF	F	12400,00	5494,72	6	
		NF	10216,67	2073,08	6	

F= Filtrado, NF= não filtrado, ns= não significativo.

Os resultados dos grupos experimentais (F-F, F-NF, NF-F, NF-NF) para os parâmetros diâmetro da aorta e porcentagem das áreas seccionais do óstio aorta e parede da aorta não apresentaram resultados significativos ($p>0,94$, $p>0,21$ e $p>0,21$, respectivamente).

A partir dos resultados obtidos através dos *TestsBetween-SubjectsEffects*, foi possível verificar que houve diferença significativa na área seccional da veia cava ($p < 0,02$) dos animais que foram submetidos à poluição atmosférica no período pós-gestacional e nos períodos gestacional e pós-gestacional ($p < 0,01$) (Tabela 6).

Tabela 6- Resultados dos valores referentes aos parâmetros área seccional da veia cava de animais expostos à poluição no período gestacional e animais expostos à poluição nos períodos gestacional e pós gestacional.

Exposição	Área	Significância
Gestacional		0,02
Gestacional e Pós-gestacional	Área seccional da veia cava	0,01

5. Discussão dos resultados

5.1. *Massa corporal (g) e massa do coração (g) dos animais*

As consequências de uma exposição gestacional à poluição atmosférica urbana sobre o desenvolvimento fetal ainda é um assunto pouco conhecido. Estudos epidemiológicos e experimentais revelaram que, entre as diversas alterações que ocorrem na fase pós-natal, o baixo peso ao nascer (WANG *et al.*, 1997; DEJMEK *et al.*, 1999; DARROW *et al.*, 2011).

Akinaga *et al.* (2009), cujas avaliações relativas à massa corporal em camundongos expostos à poluição do ar, verificaram que entre os grupos controle e expostos não houve diferença significativa, observaram que, para a massa dos corações, não ocorreram diferenças entre os grupos. Esses dados foram parcialmente confirmados por Lushnikova *et al.* (1999) pois, ao analisarem os dados expostos à vários níveis de poluentes, verificaram semelhanças entre a massa do coração e também entre o corpo dos animais expostos.

Os dados do presente trabalho confirmam aqueles dos autores acima citados, no que se refere à massa do coração, uma vez que a exposição à poluição do ar antes e durante a gestação não teve efeitos sobre o peso do coração em todos os grupos (filtrados e não filtrados). No entanto, relativamente ao peso corporal, foi demonstrado no presente estudo que, a massa média corporal é significativamente menor nos animais que cresceram em ambiente poluído, cujos pais (G2) também estiveram expostos à poluição atmosférica durante toda vida. Tais divergências podem estar relacionadas com as metodologias utilizadas, uma vez que, os autores que já utilizaram tais metodologias, utilizaram apenas a primeira gestação de camundongos (G1).

Veras *et al.* (2008), ao estudarem a associação entre a poluição do ar e o baixo peso ao nascer em camundongos, verificaram que a poluição durante o período gestacional pode influenciar o ganho de peso do feto ao longo da gestação. Embora na presente pesquisa não se tenha avaliado o peso ao nascer de animais da terceira geração (G3), pode-se inferir que, mesmo que seus ancestrais de G2 não estiveram expostos à poluição, o peso corporal de seus descendentes não se recupera, permanecendo na fase adulta, o que foi demonstrado neste trabalho.

5.2. Morfometria das áreas seccionais da artéria aorta, veia cava, artéria troncopulmonar e átrios direito e esquerdo.

Resultados do Teste *Between-Subjects Effect* evidenciaram que as áreas seccionais da veia cava e da artéria tronco pulmonar tiveram alterações em animais expostos à poluição no período pós-gestacional ($p < 0,02$ e $p < 0,08$, respectivamente). No entanto, ao avaliar as alterações na área seccional de animais expostos à poluição nos períodos gestacional e pós-gestacional, foi verificado que houve um aumento apenas da área seccional da veia cava ($p < 0,01$). Desta forma, é possível que haja alguma alteração no ventrículo direito, uma vez

que, o sangue venoso chega aos pulmões através da veia cava bombeado pelo ventrículo direito.

Estudos descrevem que a pressão do átrio direito (AD) são mais comumente estimada por meio de avaliações do diâmetro da veia cava inferior e pela presença de colapso inspiratório (MORENO *et al.*, 1984). Ao ocorrer um aumento da pressão do AD, este aumento é transmitido a VCI, o que resulta em uma redução do colapso inspiratório e consequentemente dilatação da VCI.

Em corte longitudinal a veia cava superior foi observada por meio de exame transesofágico, e verificou-se que há um determinado padrão de variação respiratória do diâmetro da veia cava superior. A variação deste diâmetro pode ajudar a determinar o estado volêmico (JARDIM *et al.*, 2006)

Segundo Leary *et al.* (2014), a exposição à poluição atmosférica causada pelo tráfego de veículos automotores está ligada à alterações morfológicas no ventrículo direito. O átrio e ventrículo direito representam literalmente a interseção entre o coração e os pulmões. O estudo de Leary *et al.* (2014) é o pioneiro a relatar uma associação entre a poluição relacionada ao tráfego e os efeitos da saúde que afetam o lado direito do coração. Esta associação é clinicamente significativa, uma vez que Heckbert *et al.* (2006) indicam que a magnitude do aumento da massa do ventrículo direito é quantitativamente semelhante às mudanças na massa ventricular esquerda induzida por diabetes ou tabagismo (SADER; NIAN; LIU, 2003), e o aumento da massa do ventrículo direito tem sido associado à insuficiência cardíaca e morte (KAWUT *et al.*, 2012). Novos estudos devem ser realizados a fim de ilustrar esta associação entre alterações na veia cava e ventrículo direito em animais expostos à poluição atmosférica.

6. Conclusão

De acordo com as proposições estabelecidas, a metodologia empregada e os resultados obtidos neste trabalho, é lícito concluir-se que:

- A massa média corporal dos camundongos é significativamente **menor** nos animais que cresceram em ambiente poluído, cujos pais (**G2**) também estiveram expostos à poluição atmosférica durante toda vida;
- O diâmetro da aorta, bem como área seccional, área do óstio e área da parede não apresentaram alterações em animais expostos à poluição;
- Nos animais submetidos aos fatores de poluição, a área seccional da veia cava apresenta-se maior;
- Novos estudos devem ser realizados a fim de ilustrar esta associação entre alterações na veia cava e ventrículo direito em animais expostos à poluição atmosférica;

7. Referências Bibliográficas

- AKINAGA, L. M. *et al.* Effects of chronic exposure to air pollution from Sao Paulo city on coronary of Swiss mice, from birth to adulthood. **ToxicolPathol.** 2009;37(3):306-314.
- ANDRADE, M.I. **Identificação de fontes de matéria particulada do aerossol atmosférico de São Paulo.** 1993. Tese (Doutorado em Física) – Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1993.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. Tratamento de ar em estabelecimentos de saúde (EAS) - Requisitos para projeto e execução das instalações. ABNT NBR 7256, 2005.
- ARBEX, M.A. *etal.* A poluição do ar e o sistema respiratório. **J BrasPneumol.** 2012; 38: 643-655.
- BACKES, M.T.S. **O baixo peso ao nascer em recém-nascidos de mães residentes nas comunidades próximas ao Parque Industrial do município de Rio Grande/RS: Um estudo de casos e controles.** 2004. 163 f. Tese (Mestrado em Enfermagem)- Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.
- BARBOSA, A. J.A. Técnica histológica para gânglios nervosos intramurais em preparados espessos. **Ver Bras de Pesquisas Médicas e Biológicas.** 1978;11:95-97.
- BRAGA, A. *et al.* Poluição Atmosférica e saúde humana. **Revista USP.** 2001; 51: 58-71.
- BRAGA, A. *et al.* Associação entre poluição atmosférica e doenças respiratórias e cardiovasculares na cidade de Itabira, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de SaúdePública.** 2007; 23: 570-578.
- BROOK, R. D. *et al.* Inhalation of fine particulate air pollution and ozone causes acute arterial vasoconstriction in healthy adults. *Circulation.* 2002; 105:1534-1536.
- BRÜEL, A.; OXLUND, H.; NYENGAARD, J.R. Growth hormone increases the total number of cardiac myocyte nuclei in Young rats but not in old rats. **Mech Ageing Dev.** 2002; 123(10):1353-1362.

BRUNEKREEF, B. Air pollution and life expectancy is there a relation? **Occupational and Environmental Medicine**.1997; 54-781.

BRUNEKREEF, B.; HOLGATE, S.T. Air pollution and health.**Lancet**. 2002;360:1233-1242.

CHAHINE, T. *et al.* Particulate air Pollution, oxidative Stress Genes, and Heart Rate Variability in an Elderly Cohort. *Environ Health Perspect*. 2007;115(11):1617-1622.

CAMPEN, M.J. *et al.* Fresh gasoline emissions, not paved road dust, alter cardiac repolarization in ApoE^{-/-} mice. **Cardiovasc Toxicol**. 2006; 6(3-4):199-209.

CANÇADO, J. E. *et al.* Clinical repercussions of exposure to atmospheric pollution. **J Bras Pneumol**.2006;32(Supl 2):5-11.

CATTEL.M.A.; ANDERSON, J.C.; HASLETON, P.S. Aged-related changes in amounts and concentrations of collagen and elastin in normotensive human aorta.**ClinicaChimicaActa**. 1996; 245(1): 73-84.

CLARK, J. M.; GLAGOV, S. Transmural organization of the arterial media: the lamellar unit revisited. *Arteriosclerosis*.1985; 5(1):19-34.

COLOMBINI, M. P. Poluição atmosférica e seu impacto no sistema cardiovascular. **Einstein**. 2008; 6(2): 221-226.

COMMITTEE OF THE ENVIRONMENTAL AND OCCUPATIONAL HEALTH OF THE AMERICAN THORACIC SOCIETY. Health effects of outdoor pollution. **Am J Respir Crit Care Med**. 1996; 153:3-50.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar**. São Paulo: Atheneu; 1995.

DARROW, L.A. *et al.* Ambient air pollution and birth weight in full-term infants in Atlanta. 1994-2004. **Environ Health Perspect**. 201;119(5):731-737.

DAVIS, E. Smooth muscle cell to elastic lamina connections in developing mouse aorta.**Laboratory Investigation**. 1993; 1(68): 89-99.

DEVLIN, R.B. *et al.* Elderly humans exposed to concentrated air pollution particles have decreased heart rate variability. **EurRespir J Suppl**. 2003;40:76-80.

DE TOLEDO, G. I. F. M.; NARDOCCI, A. C.. Poluição veicular e saúde da população: uma revisão sobre o município de São Paulo (SP), Brasil. **Rev Bras Epidemiol**. 2011; 14(3): 445-54.

DINGEMANS, K. P.; JANSEN, N.; BECKER, A. E. Ultrastructure of the normal human aortic media. **Virchows Archive A: pathological anatomy and histology**. 1981;392(2):199-216.

DJEMEK, J. *et al*. Fetal growth and maternal exposure to particulate matter during pregnancy. **Environ Health Perspect**. 199; 107:474-480.

D’LPPOLITI, D. *et al*. Air pollution and myocardial infarction in Rome: a case-crossover analysis. **Epidemiology**. 2003; 528-535.

DOBRIN, P.B. Mechanical properties of arteries. **Physiol Rev**. 1978; 58(2): 397-460.

DOBRIN, P.B.; BAKER, W.H.; GLEY, W. C. Elastolytic and collagenolytic studies of arteries. **Arch Surg**. 1984;119(4):405-409.

EILSTEIN, D. *et al*. Air pollution and myocardial infarction: Strasbourg France, 1984-1989. **Epidemiol Sante Publique**. 2001; 49(1): 13-25.

FILHO, S.P.G. **Estrutura, ultraestrutura e morfometria da aorta e veia cava de paca (*Cuniculus paca*, LINNAEUS, 1766) criada em cativeiro**. 2010. 56 f. Tese (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2010.

GOLDBERG, M.S. *et al*. Identification of persons with cardiorespiratory conditions who are at risk of dying from the acute of ambient air particles. **Environ Health Persp**. 2001;109(Suppl.4): 487-494.

GOUVEIA, N. *et al*. Poluição do ar e efeitos na saúde de duas grandes metrópoles brasileiras. **Epidemiol Serv Saúde**. 2003;12:29-40.

GUDERSEN, H. J.; JENSEN, E. B. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. **J. Microsc**. 1987; 147:3-45.

HECKBERT, S. R. *et al*. Traditional cardiovascular risk factors in relation to left ventricular mass, volume, and systolic function by cardiac magnetic resonance imaging: the Multiethnic Study of Atherosclerosis. **J Am Coll Cardiol**. 2006;48: 2285–2292.

HOFFMANN, B. *et al.* Residential exposure to urban Air pollution, ankle–brachial index, and peripheral arterial disease. **Epidemiology**. 2009; 20(2):280–288.

HOWARD, V.; REED, M. G. Unbiased stereology: three-dimensional measurement in microscopy. **BIOS Scientific**. 2005.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 2008. 524 p.

KAWUT, S. M. *et al.* Right ventricular structure is associated with the risk of heart failure and cardiovascular death: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)—right ventricle study. **Circulation**. 2012; 126:1681–1688.

KÜNZIL, N. *et al.* Ambient air pollution and the progression of atherosclerosis in adults. **PLoS One**. 2010; 5(2):90-96.

LEARY, P.J. *et al.* Traffic-related air pollution and the right ventricle: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **Am J Respir Crit Care Med**. 2014; 189:1093–1100.

LINN, W.S. *et al.* Air pollution and daily hospital admissions in metropolitan Los Angeles. **Environ Health Perspect**. 2000; 108(5):427-434.

LOUREIRO L. N. **Panorâmica Sobre Emissões Atmosféricas Estudo De Caso: Avaliação Do Inventário Emissões Atmosféricas da Região Metropolitana Do Rio De Janeiro Para Fontes Móveis**. 2005. 171f. Tese (Mestrado em Planejamento Energético) - Universidade federal do Rio de Janeiro.

LUSHNIKOVA, E. L. *et al.* Morphofunctional reorganization of the myocardium of mouse-like rodents in regions with various anthropogenic contamination levels. **Byulleten' Eksperimental'noi Biologii I Meditsiny**. 1999; 127(6):708-713.

MARESH, J.G. *et al.* Hypercholesterolemia potentiates aortic endothelial response to inhaled diesel exhaust. **Inhal Toxicol**. 2011; 23(1):1–10.

MARIOTTI, V.B. **Análise morfoquantitativa da matriz extra-celular da túnica média da aorta de ratas ovariectomizadas submetidas à exercício físico aeróbio**. 2009. 108 f. Tese (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

- MARQUES, S.; SANTOS, E. S.. Redes de monitoramento de material particulado inalável, legislação e os riscos à saúde. *Rev Brasileira de Geografia Médica e da Saúde – Hygeia*. 2012; 8(14): 115 – 128.
- MARTINS, L. C. **Efeitos da poluição do ar e dos fatores meteorológicos nas doenças cardiovasculares na Cidade de São Paulo**. 2004. f.259. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- MAYHEN, T. M.; OLSEN, D. R. Magnetic resonance imaging (MRI) and model-free estimates of brain volume determined using the Cavalieri principle. *Journal of Anatomy*. 1991; 178:133-144.
- MELLO, J. M. **Estrutura da aorta e da artéria ilíaca externa de cobaia: aspectos comparativos com o rato albino e ave doméstica**. 1999. 83 f. (Doutorado em Anatomia)- Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- MELO, M.L.V. **Relação entre poluição do ar e internações de idosos por doenças isquêmicas do coração em São Paulo entre 2000 e 2012**. 2015. 82 f. Tese (Mestrado em Saúde Coletiva) – Universidade Católica de Santos, Santos. 2015.
- MIYAGUSKO, M. J. **Avaliação da qualidade do ar em Unidades de Terapia Intensiva e sua correlação com o ambiente externo e a saúde dos trabalhadores**. 2008. 138 f. Tese (Doutorado em Medicina) –Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.
- NAFSTAD, P. *et al.* Urbana air pollution and mortality in a cohort of Norwegian men. *Environ Health Perspect*. 2004; 112(5):610-615.
- NEMMAR, A. *et al.* Air pollution and thrombosis: an experimental approach. *Pathophysiol Haemost Throm*. 2002; 32(5-6): 349-350.
- PARK, S.K. *et al.* Effects of Air Pollution on Heart Rate Variability: The VA Normative Aging Study. *Environ Health Perspect*. 2005;113(3):304-309.
- PETERS, A. *et al.* Air pollution and incidence of cardiac arrhythmia. *Epidemiology*. 2000; 11: 11-17.
- PETERS, A. *et al.* Particulate air pollution is associated with an acute phase response in men. *Eur Heart J*. 2001; 22(14):1198-1204.

POPE, C.A. *et al.* Particulate air pollution as predictor of mortality in a prospective study of U.S. adults. **Am J Respir Crit Care Med.** 1995; 151:669-674.

POPE, C.A. *et al.* Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution: epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease. **Circulation.** 2004; 109(1):71-77.

RHIDEN, C.R. *et al.* PM-induced cardiac oxidative stress and dysfunction are mediated by autonomic stimulation. **Biochim Biophys Acta.** 2005; 1725(3):305-313.

RODRIGUES, N.R.D. **Medidas de indicadores de estresse oxidativo e de remodelamento cardíaco em camundongos expostos à poluição atmosférica ambiental durante o desenvolvimento embrionário e pós-natal.** 2007. 79 f. Tese (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007.

ROUTLEDGE, H. C. *et al.* Why cardiologists should be interested in air pollution. **Heart.** 2008; 89(12):1383-8.

RUIDAVETS, J.B. *et al.* Ozone air pollution is associated with acute myocardial infarction. **Circulation.** 2005; 111(5): 563-569.

SADER, S.; NIAN, M.; LIU, P. Leptin: a novel link between obesity, diabetes cardiovascular risk, and ventricular hypertrophy. **Circulation.** 2003; 108:644–646.

SALDIVA, P.H.N.; BRAGA, A.L.F.; PEREIRA, L.A.A. Health effects of ambient levels of air pollution. In: Hogan DJ, Berquó E, Costa HSM, editors. Population and environment in Brazil: Rio + 10. Campinas: Comissão Nacional de População e Desenvolvimento/Associação Brasileira de Estudos Populacionais/Núcleo de Estudos de População, Universidade Estadual de Campinas; 2002. p. 207-23.

SCHUMMER, A. *et al.* The circulatory system, the skin and the cutaneous organs of the domestic mammals. In: NICKEL, R.; SCHUMMER, A; SEIFERLE, E. The anatomy of the domestic animals. Berlin – Hamburg: **Verlag Paul Parey.** 1981; 3: 6 – 7.

SCHWARTZ, J. What are people dying of on high air pollution days? **Environ. Res.** 1994; 64:26-35.

SCHWARTZ, J. Harvesting and long term exposure effects in the relation between air pollution and mortality. **Am J Epidemiol.** 2000; 151: 440-448.

SHARARA, F.L.; SEIFER, D. B.; FLAVES, J.A. Environmenal toxicants and female reproduction. **FertilSteril**. 1998; 70(4): 613-622.

SILVER, F.H.; HORVATH, I; FORAN, D.J. Viscoelasticity of the vessel wall: the role of the collagen and elastic fibers. **Criticalreviews in biomedicalengeneering**. 2001; 29(3):279-301.

SOARES, S.R.C. **Efeito aterogênico da poluição atmosférica: associação aos anticorpos antiLDLox e anti peptídeo D da apo B e aos aspectos morfométricos e inflamatórios**. 2006. 134 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

STHEBENS, W. E. Structural and architectural changes during arterial development and the role of hemodynamics. **ActaAnatomica**. 1996; 157(4): 261-274.

VERAS, M.M. **Efeitos da poluição do ar da cidade de São Paulo sobre o processo reprodutivo de camundongos com ênfase no desenvolvimento da placenta e cordão umbilical**. 2008. 162 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo.

VERMYLEN, J. *et al*. Ambientairpollutionandacutemyocardialinfartion. **J. Thrombosis and Haemostais**. 2005; 3: 1955-1961.

WANG, F. *et al*. Particulate matter and atherosclerosis: a bibliometric analysis of original research articles published in 1973–2014. **BMC public health**. 2016; 16: 348.

WANG, X. *et al*. Association between air pollution and low-weight: a community-based study. **Environ Health Perspect**. 1977;105:514-520.

WHITE, J. V. Role of adventitial defeacts in the pathogenesis of aortic aneurysms. **Veith F (ed): Current Critical Problems in Vascular Surgery**. 1993; 5:293-301.

WHO.2003. Health aspects of air pollution with particulate matter, ozone and nitrogen dioxide. Report on a WHO Working Group Bonn, Germany 13-15 January 2003. Available from: <http://www.euro.who.int/document/E86575.pdf>.

WHO -World Health Organization. 7 million premature death annually linked to air pollution. Geneva: WHO, 2014. Disponível em: < www.who.int/mediacentre/news/.../air-polluiton/em/>. Acesso em 10 Dez. 2016.

WILLIAMS, P. L *et al.* **Gray anatomy**. Volume1. 37 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1995. 808 p.

WOLINSKY, H.; GLAGOV, S. A. Lamellar unit of aortic medial structure function in mammals. **CirculationResearch**.1967; 20: 99-111.

ZANOBETTI, A. *et al.* Ambient pollution and blood pressure in cardiac rehabilitation patients. **Circulation**.2004; 110: 2184-2189.

ZANOBETTI, A. *et al.* Reduction in heart rate variability with traffic and air pollution in patients with coronary artery disease. **Environ Health Perspect**. 2010; 118(3):324–30.