

EFEITO DO ESTRESSE FÍSICO E PSICOLÓGICO SOBRE A AORTA DE RATOS.

Thiago Henrique Crema (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Diogo Rodrigues Jimenes, Silvana Regina de Melo, Célia Regina de Godoy Gomes (Orientadora), e-mail: crggomes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas e Morfologia

Palavras-chave: vasos, morfometria, estereologia.

Resumo

Os fatores de estresse de natureza física e psicológica estimulam regiões específicas do sistema nervoso para obter respostas adaptativas apropriadas. A liberação massiva de catecolaminas que atuam em receptores adrenérgicos promove estimulação da função cardíaca. Um rápido aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca, associados a disfunção endotelial transitória e ativação aterotrombótica são mecanismos que ligam o estresse mental à doença cardiovascular. Este estudo tem por objetivo avaliar a morfologia da aorta de ratos submetidos a estresse físico e psicológico. Foram utilizados 42 ratos Wistar distribuídos em três grupos: controle, estresse físico (EF) e estresse psicológico (EP). Os animais dos grupos EF e EP receberam procedimentos de estresse de imobilização e teste de exposição ao predador respectivamente. Na idade adulta, foi realizada a coleta das aortas, que foram fixadas em formalina a 10% e tratamento para rotina histológica. As peças foram incluídas em parafina e foram realizados cortes histológicos transversais com 6mm de espessura e coradas com Tricrômico de Masson para evidênciação da população celular, colágeno e músculo liso. Foi realizada a histomorfometria da íntima-média da aorta torácica e a análise estereológica, computando os elementos de músculo liso e colágeno. A análise da espessura íntima-média, da densidade de volume do colágeno e do músculo liso demonstrou não haver mudanças estatisticamente significativas entre os grupos. Entretanto, foi possível observar pontos de fragmentação de lâminas elásticas e de espessamento de túnica íntima. Concluiu-se que o tempo reduzido de exposição ao estresse não foi suficiente para ocasionar mudanças quantitativas, apenas mudanças qualitativas.

Introdução

O estresse pode ser definido como a percepção subjetiva de uma mudança ambiental adversa, que geralmente leva a uma resposta adaptativa à nova condição. Fatores de estresse diferentes, de natureza física ou psicológica, estimulam regiões específicas do sistema nervoso para obter respostas apropriadas. A ativação do sistema nervoso autônomo e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) são

características proeminentes da resposta ao estresse, afetando a função de outros órgãos do corpo (GOLBIDI; FRISBEE; LAHER, 2015).

A secreção adrenomedular é um fator essencial na resposta de “luta ou fuga” relacionada ao estresse. Essa resposta promove a liberação massiva de catecolaminas tais como epinefrina (adrenalina) e noraepinefrina (noradrenalina) que atuam sobre receptores adrenérgicos tipo alfa e beta, ativando-os e estimulando a função cardíaca (ADAMEOVA; ABDELLATIF; DHALLA, 2009).

Os principais mecanismos que ligam o estresse mental agudo à doença cardiovascular consistem em um rápido aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca, por meio do aumento da atividade simpática e da retirada vagal, associados à disfunção endotelial transitória e ativação aterotrombótica. A disfunção endotelial reduz o óxido nítrico (NO) na parede vascular, e sua redução, por sua vez, pode causar a produção do “fator tecidual” que nas placas ateroscleróticas rompidas induz alterações protrombóticas (VALE, 2005).

Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a morfologia da aorta de ratos submetidos ao estresse físico e psicológico, assim como analisar a distribuição e as alterações dos componentes fibromusculares (colágeno e músculo liso) na túnica média da aorta torácica e quantificar a espessura íntima-média na parede da aorta torácica.

Materiais e métodos

Na metodologia, foram utilizados 42 ratos machos da linhagem Wistar com 21 dias de vida. Estes foram aleatoriamente distribuídos em três grupos com 14 ratos em cada: Controle (Co), Estresse Físico (EF) e Estresse Psicológico (EP). Nas respectivas idades de 25 e 27 dias de vida pós natal, os animais dos grupos EF e EP receberam procedimentos de estresse. No procedimento de estresse físico, os animais foram colocados individualmente em tubos flexíveis de PVC com uma abertura frontal, permitindo respiração mas limitando os movimentos, sendo realizadas três sessões de 30 minutos cada, com intervalos entre elas. No procedimento de estresse psicológico, os animais foram colocados em aparato para teste de exposição ao predador (gato) durante 10 minutos.

Na idade adulta (64 dias), os animais foram sacrificados e foi realizada a coleta das aortas, que foram fixadas e solução de formalina a 10% por 48h e depois transferidas para álcool 70% onde ficaram estocadas. As aortas previamente armazenadas em álcool 70% foram desidratadas em uma sequência crescente de etanol (80%, 90%, absoluto I, II, III) e diafanizadas em xilol. Todas as peças foram incluídas em parafina. Posteriormente foram realizados cortes histológicos transversais com 6mm de espessura no aparelho Micrótomo e todas as lâminas foram desparafinadas pela série de álcoois (absoluto I, II e III, 90%, 80% e 70%). As lâminas foram coradas com o método Tricrômico de Massom, para evidênciação da população celular, colágeno (azul) e músculo liso (vermelho).

Para a morfometria da parede da aorta torácica foi feito a medida íntima-media, onde foram analisadas quatro regiões diferentes diametralmente opostas de um mesmo corte. Foi também realizado estudo de volume (Vv) do colágeno e do músculo liso na túnica média da aorta em 9 cortes histológicos distintos e campos microscópicos aleatórios.

Para a estatística foi realizada a análise de variância (ANOVA), com teste de comparação múltipla, prefixando-se o nível de significância em 95% ($p < 0,05$). Todos os procedimentos foram submetidos à CEUA/UEM antes de serem executados (CEUA no 4993050617).

Resultados e Discussão

Neste estudo realizamos a histomorfometria da íntima-média da aorta torácica de ratos submetidos ao estresse físico e psicológico, e a análise estereológica computando os elementos de músculo liso e colágeno (Tabela 1). Observamos que no grupo controle ocorreu a maior espessura do vaso em relação aos demais grupos, porém este aumento não foi significativo estatisticamente. Em relação a densidade de volume do colágeno e do músculo liso também não observamos diferenças significativas entre o três grupos. Nossos resultados são parecidos aos descritos por Harkness; Harkness; McDonald (1967) que descreveram a quantidade de músculo liso de 20% e 60% de colágeno e elástico. A análise da microscopia de luz, foram observadas alterações na parede do vaso, tais como fragmentação das lâminas elásticas e focos com espessamento da túnica íntima principalmente no grupo submetido ao estresse psicológico. Este tempo de experimento não foi o suficiente para causar grandes alterações na parede do vaso. De acordo com Zhang et al. (2002), os processos de crescimento e remodelamento vascular envolvem proliferação de células musculares lisas e fibroblastos adventícios, assim como hipertrofia, migração e apoptose dessas mesmas células, além de mudanças na matriz extracelular. Em doenças cardiovasculares induzidas por estresse, receptores adrenérgicos tipo alfa contribuem para esses processos. Evidências recentes sugerem que as catecolaminas exercem um efeito trófico direto em células musculares lisas vasculares e fibroblastos adventícios, levando a aumento na espessura da parede vascular, fibrose e aterosclerose.

Tabela 1. Média e desvio padrão da espessura íntima-média e da densidade de volume do músculo liso e colágeno.

Grupo	Espessura (μm)	Músculo Liso (Vv%)	Colágeno (Vv%)
Controle	$409 \pm 102,2$	$25,4 \pm 3,847$	$41,8 \pm 5,541$
Estresse Físico	$326,6 \pm 27,51$	$25,8 \pm 1,924$	$37,8 \pm 3,271$
Estresse Psicológico	$338,1 \pm 30,13$	$22,4 \pm 1,949$	$40,4 \pm 5,177$

Conclusões

Conclui-se com o presente estudo que o tempo reduzido de exposição ao estresse não foi suficiente para ocasionar mudanças quantitativas tais como espessamento e aumento de volume de músculo e colágeno na túnica média. Entretanto, foi possível observar mudanças qualitativas, tais como pontos de fragmentação de lâminas elásticas e de espessamento de túnica íntima, especialmente no grupo de estresse psicológico.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsa.

Referências

ADAMEOVA, A.; ABDELLATIF, Y.; DHALLA, N. S. Role of the excessive amounts of circulating catecholamines and glucocorticoids in stress-induced heart disease. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 87, p. 493–514, 2009.

GOLBIDI, S.; FRISBEE, J. C.; LAHER, I. Chronic stress impacts the cardiovascular system: animal models and clinical outcomes. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, Canada, v. 308, n. 12, p. H1476–H1498, 2015.

HARKNESS, M. L. R.; HARKNESS, R. D.; McDONALD, D. A. Collagen and elastin content of the arterial wall in the dog. **Proc. Roy. Soc. (London)**, Ser. B, v. 146, p.541, 1967.

VALE, S. Psychosocial stress and cardiovascular diseases. **Postgrad Med J**, Mexico, v. 81, p. 429–435, 2005.

ZHANG, H. U. A. et al. Different α -adrenoceptors mediate migration of vascular smooth muscle cells and adventitial fibroblasts in vitro. **Am J Physiol Heart Circ**, v. 282, p. H2364–H2370, 2002.