Comportamento de Variáveis Cardíacas em Animais Expostos à Fumaça de Cigarro

Sergio Alberto Rupp de Paiva, Leonardo Antonio Mamede Zornoff, Marina Politi Okoshi, Katashi Okoshi, Antonio Carlos Cicogna, Alvaro Oscar Campana

Botucatu, SP

Objetivo - *Avaliar o comportamento de variáveis cardíacas em animais expostos à fumaça de cigarro.*

Métodos - *Foram estudados dois grupos de ratos Wistar: grupo controle - C (n=28) e grupo fumante - F (n=23) constituído de animais expostos à fumaça de cigarro por 30 dias. A função cardíaca foi avaliada in vivo no ventrículo esquerdo, pela ecocardiografia transtorácica e o desempenho miocárdico analisado in vitro, em preparações com músculo papilar isolado do ventrículo esquerdo. Os músculos cardiacos foram avaliados em contrações isométricas com concentração extracelular de cálcio de 2,5 mmol/L.*

Resultados - *Não houve diferença estatística dos valores das variáveis corporais dos ratos e dos dados mecânicos obtidos do músculo papilar quando da comparação entre os grupos controle e o fumante. Os valores do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo foram significativamente maiores nos animais fumantes do que nos controles (C= 3,39 ± 0,4 mm e F= 3,71 ± 0,51 mm, P=0,02) e houve diminuição significante da porcentagem de encurtamento sistólico (C= 56,7 ± 4,2% e F= 53,5 ± 5,3%, P=0,02) e da fração de ejeção (C= 0,92 ± 0,02 e F= 0,89 ± 0,04, P=0,01).*

Conclusão - *Apesar da função miocárdica estar preservada, os ratos submetidos à fumaça do cigarro apresentaram função sistólica da câmara ventricular esquerda deprimida.*

Palavra-chave: tabagismo; função ventricular esquerda; cigarro; ecocardiograma

Faculdade de Medicina de Botucatu,UNESP.
Correspondência: Sérgio Alberto Rupp de Paiva - Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP - 18618-000– Botucatu, SP - e-mail:
Recebido para publicação em 1/10/02
Aceito em 17/2/03

Dentre os malefícios à saúde decorrentes do hábito de fumar, ressaltamos as alterações cardiovasculares. O tabagismo exerce influência na prevalência de infarto através diversos mecanismos, incluindo disfunção endotelial, maior oxidação das LDL-colesterol, redução da HDL-colesterol, aumento dos níveis das moléculas de adesão e fibrinogênio, aumento da agregação plaquetária e aumento na prevalência de espasmo vascular[1,2]. English e cols.[3] foram os primeiros a verificar a estreita relação entre tabagismo e mortalidade por doença isquêmica do coração, seguido de outros autores, que enfatizam essa associação[4,5].

Os mecanismos propostos pelos quais os constituintes da fumaça do cigarro (monóxido de carbono, nicotina, alcatrão e as substâncias contidas no vapor) podem provocar o infarto do miocárdio são: por trombose, pela formação de placa aterosclerótica, por agregação plaquetária, por vasoconstrição, pela indução de hipóxia e de arritmias[6]. Apesar da associação entre o hábito de fumar e a doença arterial coronariana ser universalmente aceita, pouco se sabe dos efeitos morfo-funcionais do tabagismo diretamente sobre o coração.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi o de avaliar o comportamento de variáveis relacionadas à função mecânica do miocárdio e também à do coração *in situ* de animais expostos à fumaça de cigarro.

Métodos

Foram utilizados ratos machos, Wistar, pesando entre 200 a 250g, distribuídos em dois grupos: grupo controle (C)- formado por 28 animais, que receberam a dieta usada de rotina em nosso laboratório, ajustada de acordo com a ingestão diária observada no grupo F, durante o período de exposição à fumaça e grupo fumo (F)- constituído por 23 animais, que receberam a dieta usada de rotina *ad libitum* em nosso laboratório, por três meses, e foram expostos à fumaça de cigarro de tabaco nos últimos 30 dias.

Empregamos o método proposto por Simani e cols.[7] e

utilizado por Wang e cols[8]. para expor os animais à fumaça do cigarro em uma incubadora modificada. Os ratos, cinco de cada vez, foram colocados na câmara transparente, conectada ao aparelho de fumar. *Puffs* de fumaça foram tirados do cigarro por vácuo e depois jogados na câmara. A fumaça foi liberada a uma taxa de 5 cigarros/30min, duas vezes à tarde, por dia, com intervalos de descanso de 10min, durante a 1º semana. A partir da 2º semana, o número de cigarros foi aumentado para uma taxa de 10 cigarros/30min, duas vezes no período da manhã e duas no período da tarde até o final do período estudo. Quinze animais eram expostos à fumaça de 40 cigarros/dia de cada vez. A quantidade total de fumaça foi derivada de 940 cigarros durante o período de quatro semanas. O cigarro usado no experimento, segundo o fabricante, forneceu 14mg de alcatrão, 1,1mg de nicotina e 15mg de monóxido de carbono.

Todos os animais foram submetidos a exame ecocardiográfico e após três dias, em média, foram sacrificados para realização do estudo do músculo papilar. Os animais não foram expostos à fumaça do cigarro no dia da realização do ecocardiograma ou do sacrifício.

No final do período experimental, os ratos foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50mg/kg) e cloridrato de xilidino (1mg/kg) por via intramuscular. A seguir, foi realizada tricotomia da região anterior do tórax. Após estes procedimentos, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo para realização do ecocardiograma.

O ecocardiógrafo utilizado foi o modelo Sonos 2000 da *Hewlett-Packard Co*. equipado com transdutor eletrônico de 7,5 MHz. A avaliação dos fluxos foi realizada com o mesmo transdutor operando em 5,0 MHz. Para medir as estruturas cardíacas, utilizamos imagens em modo-M com o feixe de ultra-som orientado pela imagem bidimensional com o transdutor na posição para-esternal eixo menor. A imagem da cavidade ventricular esquerda foi obtida posicionando o cursor do modo-M logo abaixo do plano da valva mitral entre os músculos papilares. As imagens da aorta e do átrio esquerdo também foram obtidas na posição para-esternal eixo menor com o cursor do modo-M posicionado ao nível da valva aórtica. O registro da imagem monodimensional (velocidade: 100 mm/s) foi realizado por meio da impressora modelo UP-890MD da Sony Co.. Posteriormente, as estruturas cardíacas foram medidas, manualmente, com o auxílio de um paquímetro de precisão, de acordo com as recomendações da *American Society of Echocardiography*[9]. As estruturas cardíacas foram medidas em pelo menos cinco ciclos cardíacos consecutivos. O diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE) e a sua espessura da parede posterior (EDVE) foram medidos no momento correspondente ao seu diâmetro máximo. O diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (DSVE) foi medido no momento de sua máxima excursão sistólica da parede posterior. A função sistólica do ventrículo esquerdo foi avaliada calculando-se a porcentagem de encurtamento sistólico {(DDVE-DSVE)/DDVE x 100} e a fração de ejeção {($DDVE^3$-$DSVE^3$)/$DDVE^3$}. O fluxo diastólico transmitral (ondas E e A) foi obtido com o transdutor na posição apical quatro câmaras. As medidas referentes aos fluxos foram realizadas diretamente no monitor do ecocardiógrafo.

O estudo do músculo papilar isolado foi realizado de acordo com procedimentos anteriormente descritos, três dias após a realização da ecocardiografia[10-12]. O estudo da função mecânica foi realizado em músculos papilares do ventrículo esquerdo, assim obtidos: o rato foi decapitado, o tórax aberto, o coração removido rapidamente e colocado em solução de Krebs-Henseleit, à temperatura de 28ºC, previamente oxigenada (10min) com 95% de oxigênio (O_2) e 5% de dióxido de carbono (CO_2). Após dissecção do ventrículo direito e corte no septo interventricular, o ventrículo esquerdo foi dividido em duas partes, cada uma contendo o seu músculo papilar e, em seguida, cuidadosamente dissecados numa câmara de vidro, constantemente oxigenada e aquecida a 28ºC. Os músculos papilares, após terem as suas extremidades presas a dois anéis de aço inoxidável, foram, rapidamente, transferidos para câmara de vidro contendo solução de Krebs-Henseleit, constantemente oxigenada com 95% de O_2 e 5% de CO_2 e mantida à temperatura de 28ºC, graças ao uso de banho circulante. Os músculos papilares foram mantidos em posição vertical nas câmaras de vidro. O anel inferior foi ligado a fio de aço inoxidável de 0,031cm de diâmetro, conectado a transdutor de fora (Kyowa 120T-20B) e o superior conectado a fio de aço, semelhante ao anterior, preso à extremidade do braço longo de alavanca isotônica. Sobre essa extremidade há micrômetro que, controlando a extensão dos movimentos da alavanca, permitiu ajustar o comprimento do músculo na fase de relaxamento muscular. O estiramento inicial da fibra cardíaca foi realizado com carga de pequeno peso (pré-carga) suspensa na extremidade do braço curto da alavanca, acoplado ao transdutor de comprimento (*Hewlett Packard, modelo 7 DCDT - 050*), medindo variações de comprimento durante as contrações musculares. A alavanca foi construída em alumínio; é rígida e leve, e a razão entre os braços longo e curto, de 4:1.

Os músculos foram estimulados 12 vezes por minuto por meio de eletrodos de platina tipo agulha, acoplados a estimulador elétrico, programado para liberar estímulos em onda quadrada de 5 ms, com voltagem aproximadamente 10% maior que o mínimo necessário para provocar resposta mecânica máxima do músculo.

A composição da solução de Krebs-Henseleit[13], em milimoles por litro, foi: 118,5 NaCl; 4,69 KCl; 2,52 $CaCl_2$; 1,16 $MgSO_4$; 1,18 KH_2PO_4; 5,50 glicose e 25,88 $NaHCO_3$. A pressão parcial de oxigênio da solução foi mantida entre 550 a 600mmHg.

Os parâmetros usados para caracterizar os músculos papilares foram: comprimento (mm) e área seccional (mm^2). O comprimento *in vitro*, em L_{max}, foi obtido com catetômetro Gartner. A área seccional foi calculada a partir de medidas do diâmetro do segmento central, assumindo-se que o músculo tem forma geométrica cilíndrica e peso específico 1,0. Os pesos úmidos dos ventrículos esquerdo (VE), direito (VD) e átrios (A), normalizados para peso corpóreo final do rato (PC), foram utilizados como índices de hipertrofia atrial e ventricular.

O conteúdo de água dos tecidos foi avaliado pela relação entre peso úmido e seco dos tecidos: fígado, pulmão, ventrículo esquerdo e músculo da panturrilha.

As variáveis estudadas foram testadas quanto à normalidade e calculados os valores médios e os desvios padrão dos grupos estudados. No caso de distribuição normal, utilizou-se o teste *t* de Student para a comparação entre o grupo controle e o fumante. Para as variáveis não paramétricas, calcularam-se os valores da mediana e os intervalos interquartis dos grupos estudados. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar os grupos[14]. Empregou-se, para estes testes, o pacote estatístico *SigmaStat for Windows v 2.0 da Jandel Co (San Rafael, CA)*. O nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes.

Resultados

As variáveis corporais dos animais encontram-se na tabela I e os dados mecânicos dos músculos papilares isolados na tabela II. Não houve diferença estatística dos valores das variáveis corporais e dos dados obtidos do músculo papilar, quando da comparação entre os grupos controle e o fumante.

Na tabela III são mostrados os valores obtidos no estudo ecocardiografico. Os valores do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo foram significativamente maiores nos animais fumantes do que nos controles. A exposição à fumaça do cigarro acarretou a diminuição significante dos valores dos índices de função sistólica do ventrículo esquerdo (porcentagem de encurtamento sistólico e fração de ejeção). Não houve diferença entre os grupos de ratos quando se compararam as demais variáveis do estudo ecocardiográfico.

Tabela I - Variáveis corporais dos ratos estudados

	Controle (n=28)	Fumante (n=23)	teste (P)
Peso inicial (g)	252 (250 – 260)	254 (249 -262)	MW (0,90)
PC (g)	407 ± 42	398 ± 31	teste *t* (0,38)
VE (g)	0,755 ± 0,1	0,767 ± 0,095	teste *t* (0,66)
VD (g)	0,214 ± 0,043	0,215 ± 0,04	teste *t* (0,91)
atrio (g)	0,091 ± 0,018	0,089 ± 0,018	teste *t* (0,73)
VE/PC	1,85 ± 0,18	1,93 ± 0,17	teste *t* (0,16)
VD/PC	0,52 ± 0,09	0,54 ± 0,08	teste *t* (0,53)
A/PC	0,22 ± 0,04	0,22 ± 0,05	teste *t* (0,95)
Fígado (U/S)	3,22 ± 0,1	3,24 ± 0,09	teste *t* (0,63)
Pulmão (U/S)	4,85 ± 0,56	4,92 ± 0,41	teste *t* (0,62)
VE (U/S)	4,19 (4,12 - 4,28)	4,22 (4,19 - 4,31)	MW (0,12)
MEP (U/S)	4,01 (3,91 - 4,08)	4,02 (4 - 4,12)	MW (0,44)

MW- teste de Mann-Whitney; VE- ventrículo esquerdo; VD- ventrículo direito; A- atrio; PC- peso corporal final; U- peso úmido; S- peso seco; MEP- músculo esquelético da panturrilha.

Tabela II - Variáveis obtidas por meio do estudo do músculo papilar

	Controle (n=28)	Fumante (n=23)	teste (P)
TD (g/mm2)	7,22 ± 1,41	7,75 ± 1,7	teste *t* (0,23)
TR (g/mm2)	1,08 ± 0,32	1,04 ± 0,41	teste *t* (0,71)
TPT (ms)	166 ± 14	160 ± 15	teste *t* (0,11)
TR_{50} (ms)	221 ± 29	217 ± 20	teste *t* (0,62)
+dT/dt ($g/mm^2/s$)	74,5 ± 16,5	82,0 ± 19,8	teste *t* (0,15)
-dT/dt ($g/mm^2/s$)	21,9 ± 4,3	23,4 ± 5,5	teste *t* (0,26)
AS (mm^2)	1,04 ± 0,21	1,02 ± 0,25	teste *t* (0,84)

TD- tensão máxima desenvolvida; TR- tensão de repouso; TPT- tempo para atingir o pico da TD; TR_{50}- tempo para TD decrescer 50% do seu valor máximo; +dT/dt- velocidade máxima de variação temporal da TD; -dT/dt- velocidade máxima de variação temporal do relaxamento; AS- área seccional.

Tabela III - Variáveis relacionadas às dimensões das estruturas cardíacas e função do ventrículo esquerdo obtidas no estudo ecocardiográfico

	Controle (n=28)	Fumante (n=23)	teste (P)
FC (bat/min)	283 ± 36	286 ± 33	teste *t* (0,72)
DDVE (mm)	7,83 ± 0,46	7,94 ± 0,34	teste *t* (0,33)
DSVE (mm)	3,39 ± 0,4	3,71 ± 0,51	teste *t* (0,02)
EDVE (mm)	1,49 ± 0,11	1,49 ± 0,12	teste *t* (0,90)
EDVE/DDVE	0,19 ± 0,011	0,188 ± 0,018	teste *t* (0,62)
Aorta (mm)	3,96 ± 0,3	3,94 ± 0,29	teste *t* (0,83)
AE (mm)	5,39 ± 0,5	5,56 ± 0,49	teste *t* (0,23)
DD (%)	56,7 ± 4,2	53,5 ± 5,3	teste *t* (0,02)
FE	0,92 ± 0,02	0,89 ± 0,04	teste *t* (0,01)
E/A	1,55 ± 0,29	1,65 ± 0,29	teste *t* (0,27)

FC- freqüência cardíaca; DDVE- diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE- diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; EDVE- espessura diastólica do ventrículo esquerdo; AE- átrio esquerdo; DD- porcentagem de encurtamento sistólico; FE- fração de ejeção; E/A- razão entre os picos de velocidade diastólica precoce (E) e tardia (A) do fluxo transmitral.

Discussão

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de variáveis cardíacas de ratos expostos à fumaça de cigarro. Nossos dados apresentaram animais submetidos à inalação da fumaça de cigarro, com todos os componentes envolvidos, por 30 dias, e as alterações funcionais detectáveis apenas no estudo pelo ecocardiograma, *in vivo*.

Alguns efeitos deletérios do hábito de fumar sobre o sistema cardiovascular são amplamente aceitos. Já está bem documentado, por exemplo, que o hábito de fumar representa o principal fator de risco modificável para o infarto agudo do miocárdio[6, 15]. No entanto, apesar dos efeitos do fumo sobre o sistema coronariano serem alvo de intensas pesquisas, os efeitos diretos da exposição da fumaça do cigarro sobre o coração são menos conhecidos.

O presente trabalho identificou que a exposição crônica à fumaça do cigarro resultou em efeitos no coração do rato, cuja detecção dependeu do método utilizado para a análise funcional. Considerando-se as variáveis estudadas nas preparações com músculo papilar isolado, não fomos capazes de identificar diferenças entre os dois grupos estudados. Esse método permite estudar a função miocárdica sem a interferência de fatores externos como, pré-carga, pós-carga e freqüência cardíaca. Assim, nossos resultados indicam que não houve alteração no desempenho mecânico do miocárdio à inalação da fumaça de cigarro. Por outro lado, o ecocardiograma identificou aumento do diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo no grupo fumante.

Em adição, tanto as frações de encurtamento como a de ejeção foram estatisticamente menores no grupo fumante. Desse modo, os resultados indicam que, apesar da função do músculo estar preservada, os ratos submetidos à fumaça do cigarro apresentaram função sistólica da câmara ventricular esquerda deprimida.

Alguns fatores poderiam explicar os achados obtidos na nossa pesquisa. Em estudo experimental em cães, a administração aguda de nicotina foi acompanhada por aumento do inotropismo[16]. A diferença marcante em relação ao nosso trabalho, entretanto, é que não utilizamos a nicotina, mas a fumaça do cigarro. Devemos considerar que já foram identificadas mais de 4.700 substâncias diferentes na fumaça do cigarro[6], substâncias essas que poderiam se contrapor aos efeitos inotrópicos da nicotina. Outro aspecto a ser considerado é que nossos animais foram expostos cronicamente à fumaça do cigarro e que os efeitos cardiovasculares agudos do tabagismo podem ser diferentes dos efeitos crônicos[17].

Um dos efeitos cardiovasculares mais marcantes do tabagismo é a vasoconstrição. Entre os mecanismos fisiopatológicos aceitos para explicar esse fenômeno, podemos destacar a liberação de catecolaminas das terminações nervosas centrais e a liberação de endotelina 1[18, 19]. Assim, apesar da contratilidade permanecer inalterada, a depressão da função da câmara ventricular esquerda poderia ser resultado de alterações no tônus dos vasos, com conseqüente aumento da pós-carga.

Considerando, ainda, as modificações hemodinâmicas causadas pela estimulação adrenérgica e liberação de endotelina 1 após a infusão de nicotina, essas substâncias poderiam causar retenção de sódio e água, modificando, também, as condições de carga a que o coração é submetido[20, 21]. No nosso estudo, entretanto, não identificamos alterações nos pesos corporais entre os animais dos diferentes grupos, nem modificações nas relações entre os pesos úmidos e secos de diversos órgãos. Assim, provavelmente, a retenção hidrosalina não teve participação nos resultados.

Outro mecanismo potencial, que poderia interferir com o desempenho sistólico nos animais deste estudo, seria modificações na freqûencia cardíaca. O conceito de que a infusão de nicotina ou a exposição à fumaça do cigarro pode resultar em aumento da freqüência cardíaca é bem aceito[17-22]. Em nosso trabalho, entretanto, não foram encontradas diferenças na freqüência cardíaca, entre os dois grupos estudados.

Em resumo, o presente estudo indicou que ratos submetidos à exposição crônica da fumaça do cigarro, por 30 dias, apresentam depressão da função da câmara ventricular esquerda. Apesar de especulativo, o conjunto dos resultados sugere que esses achados poderiam ser conseqüência de mudanças das condições de carga à qual o coração é submetido.

Agradecimentos

Aos Srs Mario B. Bruno, Vitor Marcos de Souza e José Carlos Georgete pela colaboração prestada.

Referências

1. Ridker PM, Genest J, Libby P. Risk factors for atherosclerotic disease. In: Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine (6th ed.), edited by Braunwald E, Zipes DP and Libby P. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001, p. 1010-39.
2 Armaganijan D, Batlouni M. Impacto dos fatores de risco tradicionais. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2000; 10: 686-93.
3. English JP, Willius FA, Berkson J. Tobacco and coronary disease. JAMA 1940; 115: 1327-9.
4. Willett WC, Green A, Stampfer MJ, et al. Relative and absolute excess risks of coronary heart disease among women who smoke cigarettes. N Engl J Med 1987; 317: 1303-9.
5. Doll R, Peto R. Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on male British doctors. Br Med J 1976; 2: 1525-36.
6. Smith CJ, Fischer TH. Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction. Atherosclerosis 2001; 158: 257-67.
7. Simani AS, Inoue S, Hogg JC. Penetration of the respiratory epithelium of guinea pigs following exposure to cigarette smoke. Lab Invest 1974; 31: 75-81.
8. Wang XD, Liu C, Bronson RT, Smith DE, Krinsky NI, Russell M. Retinoid signaling and activator protein-1 expression in ferrets given beta-carotene supplements and exposed to tobacco smoke. J Natl Cancer Inst 1999; 91: 60-6.
9. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman AE. The Committee on M-Mode Standardization of the American Society of Echocardiography. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. Circulation 1978; 58: 1072-83.
10. Cicogna AC, Padovani CR, Okoshi K, Aragon FF, Okoshi MP. Myocardial function during chronic food restriction in isolated hypertrophied cardiac muscle. Am J Med Sci 2000; 320: 244-8.
11. Cicogna AC, Padovani CR, Okoshi K, Matsubara LS, Aragon FF, Okoshi MP. The influence of temporal food restriction on the performance os isolated cardiac muscle. Nutr Res 2001; 21: 639-48.
12. Cicogna AC, Padovani CR, Nardi SC, Okoshi MP. Efeito do envelhecimento sobre o comportamento mecânico dos músculos papilares de ratos wistar. Arq Bras Cardiol 1993; 60: 215-9.
13. Krebs HA, Henseleit K. Untersuchungen über die Harnstoff-bildung im Turkörper. Hoppe Deylers Z Physiol Chem 1932; 210: 33-66.
14. Glantz SA. Primer of Biostatistics. New York: McGraw-Hill, 1997. p473.
15. Hays JT, Dale LC, Hurt RD, Croghan IT. Trends in smoking-related diseases: why smoking cessation is still the best medicine. Postgrad Med 1998; 104: 56-62, 5-6, 71.
16. Greenspan K, Edmands RE, Knoebel SB, Fisch C. Some effects of nicotine on cardiac automaticity, conduction, and inotropy. Arch Intern Med 1969; 123: 707-12.
17. Gidding SS, Xie X, Liu K, Manolio T, Flack JM, Gardin JM. Cardiac function in smokers and nonsmokers: the CARDIA study. The Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. J Am Coll Cardiol 1995; 26: 211-6.
18. Marano G, Ramirez A, Mori I, Ferrari AU. Sympathectomy inhibits the vasoactive effects of nicotine in conscious rats. Cardiovasc Res 1999; 42: 201-5.
19. Haak T, Jungmann E, Raab C, Usadel KH. Elevated endothelin-1 levels after cigarette smoking. Metabolism 1994; 43: 267-9.
20. Packer M. The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. J Am Coll Cardiol 1992; 20: 248-54.
21. Miyauchi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. Annu Rev Physiol 1999; 61: 391-415.
22. Tanus-Santos JE, Sampaio RC, Hyslop S, Franchini KG, Moreno H, Jr. Endothelin ET(A) receptor antagonism attenuates the pressor effects of nicotine in rats. Eur J Pharmacol 2000; 396: 33-7.