

Estresse térmico agudo altera epicárdio, vasos epicárdicos, aspectos morfológicos, morfométricos e quantitativos do plexo cardíaco de frangos de granja
Acute thermal stress alters epicardium, epicardic vessels, morphological, morphometric and quantitative aspects of the cardiac plexus of the farm chicken
El estrés térmico agudo altera epicardio, los buques epicardicos, aspectos morfológicos, morfométricos y cuantitativos del pollo corazón paloma de pollo

Recebido: 22/07/2020 | Revisado: 04/08/2020 | Aceito: 13/08/2020 | Publicado: 18/08/2020

Fernando Serrano Vicentin

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1929-4259>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: fernandoserranovicentin5@gmail.com

Kariny Ferreira Moreira

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6832-4808>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: kariny_moreira@yahoo.com.br

Diogo Rodrigues Jimenes

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1862-9275>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: diogojimenes@gmail.com

Andréia Vieira Pereira

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7841-2468>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: andreiavet@hotmail.com

Eliane Gasparino

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2611-9259>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: gasparinoeliane@gmail.com

Carmem Patrícia Barbosa

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8227-5993>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: carmemmec@gmail.com

Resumo

O aprimoramento genético de aves tem sido usado com o objetivo de maximizar a produção de carne de frango. Assim, técnicas de manejo têm se destacado, pois melhoram a rentabilidade e reduzem os custos de produção, uma vez que otimizam o ganho de peso das aves e aceleram o abate. Todavia, o acelerado ganho de peso pode tornar os animais suscetíveis a transtornos metabólicos em decorrência da falta de adaptação do aparelho cardiorrespiratório cujo funcionamento se relaciona à temperatura ambiente e à inervação cardíaca. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência do estresse térmico agudo sobre o coração de frangos de granja, avaliando o epicárdio, os vasos epicárdicos e os aspectos quantitativos, morfológicos, morfométricos e histopatológicos do plexo cardíaco. Para tanto, foram utilizados 14 animais machos divididos em dois grupos (n=7): animais mantidos em ambiente de conforto térmico (18°C) e animais em ambiente de estresse térmico (mantidos a 32° C nas 12 horas prévias ao abate). Os resultados mostraram que o estresse térmico diminuiu a área dos adipócitos, a área e o comprimento dos gânglios cardíacos, aumentou o colágeno total dos adipócitos e diminuiu o colágeno total dos vasos e gânglios do coração. Pode-se concluir que de fato o estresse térmico agudo interferiu nos parâmetros avaliados, pois várias alterações histopatológicas foram identificadas tais como a presença de infiltrados linfocitários nos adipócitos do tecido epicárdico, edema, congestão vascular, infiltração de fibrina nos gânglios do plexo cardíaco e ganglionite.

Palavras-chave: Neurônios cardíacos; Sistema nervoso cardíaco intrínseco; Vasos do coração; Gordura cardíaca; Hipertermia; Avicultura.

Abstract

The genetic improvement of poultry has been used in order to maximize the production of chicken meat. Thus, management techniques have stood out, as they improve profitability and reduce production costs, since they optimize the weight gain of birds and speed up slaughter. However, the accelerated weight gain can make the animals susceptible to metabolic disorders due to the lack of adaptation of the cardiorespiratory system whose functioning is related to room temperature and cardiac innervation. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of acute thermal stress on the heart of broiler chickens, evaluating the epicardium, the epicardial vessels and the quantitative, morphological, morphometric and histopathological aspects of the cardiac plexus. For that, 14 male animals were used, divided into two groups (n = 7): animals kept in an environment of thermal comfort (18oC) and animals in an environment of thermal stress (kept at 32o C in the 12 hours prior to slaughter).

The results showed that thermal stress decreased the area of the adipocytes, the area and the length of the cardiac ganglia, increased the total collagen of the adipocytes and decreased the total collagen of the vessels and ganglia of the heart. It can be concluded that, in fact, acute thermal stress interfered in the parameters evaluated, since several histopathological changes were identified, such as the presence of lymphocyte infiltrates in the adipocytes of the epicardial tissue, edema, vascular congestion, fibrin infiltration in the cardiac plexus ganglia and ganglionitis.

Keywords: Cardiac neurons; Intrinsic cardiac nervous system; Heart vessels; Cardiac fat; Hyperthermia; Poultry.

Resumen

La mejora genética de las aves de corral se ha utilizado para maximizar la producción de carne de pollo. Así, se han destacado las técnicas de manejo, que mejoran la rentabilidad y reducen los costos de producción, ya que optimizan la ganancia de peso de las aves y agilizan el sacrificio. Sin embargo, el aumento de peso acelerado puede hacer que los animales sean susceptibles a trastornos metabólicos debido a la falta de adaptación del sistema cardiorrespiratorio cuyo funcionamiento está relacionado con la temperatura ambiente y la innervación cardíaca. Así, el objetivo de este estudio fue evaluar la influencia del estrés térmico agudo en el corazón de pollos de engorde, evaluando el epicardio, los vasos epicárdicos y los aspectos cuantitativos, morfológicos, morfométricos e histopatológicos del plexo cardíaco. Para ello se utilizaron 14 machos, divididos en dos grupos ($n = 7$): animales mantenidos en un ambiente de confort térmico (18°C) y animales en un ambiente de estrés térmico (mantenidos a 32°C en las 12 horas previas al sacrificio). Los resultados mostraron que el estrés térmico disminuyó el área de los adipocitos, el área y la longitud de los ganglios cardíacos, aumentó el colágeno total de los adipocitos y disminuyó el colágeno total de los vasos y ganglios del corazón. Se puede concluir que, de hecho, el estrés térmico agudo interfirió con los parámetros evaluados, ya que se identificaron varios cambios histopatológicos, como la presencia de infiltrados linfocitarios en los adipocitos del tejido epicárdico, edema, congestión vascular, infiltración de fibrina en los ganglios del plexo cardíaco y ganglionitis.

Palabras clave: Neuronas cardíacas; Sistema nervioso cardíaco intrínseco; Vasos del corazón; Grasa cardíaca; Hipertermia; Aves de corral.

1. Introdução

O aprimoramento genético de aves concretizou-se no Brasil na década de 50, tendo por objetivo maximizar a produção de carne de frango associando melhor qualidade e menor custo (Martins, et al., 2012). Para acompanhar a evolução do mercado, o setor de avicultura, além de avançar na área de melhoramento genético e de instalações, tem buscado inovações quanto às práticas nutricionais, de sanidade e manejo (Moura, Neto e Santana, 2017). O programa de luz, por exemplo, tem sido uma importante ferramenta de manejo para a produção destes animais (Silva e Gai, 2017). Esta técnica, quando bem planejada e executada em condições ambientais favoráveis, reduz problemas metabólicos, maximiza o consumo de ração e o ganho de peso acelerando assim o abate (Copacol, 2014).

Todavia, para Tickle et al. 2014, o acelerado ganho de peso das aves pode tornar os animais suscetíveis a transtornos metabólicos em decorrência do desajuste entre tal ganho e a inerente falta de adaptação do aparelho cardiorrespiratório. A inabilidade deste aparelho em se ajustar à demanda da massa corporal mostra-se mais evidente em situações de elevadas temperaturas ambientais às quais os frangos de corte são extremamente sensíveis. Isto porque a hipertermia ou estresse térmico associa-se à taquicardia e taquipneia a fim de manter a homeotermia. Desta forma, esta condição de diestresse é prejudicial, pois interfere diretamente nas taxas de morbidade e mortalidade e no comportamento das aves modificando o desempenho produtivo (Lima, 2018).

Dentre as principais alterações associadas à hipertermia pode-se citar lesões agudas e o comprometimento de órgãos vitais como pulmão e coração. Isto porque quando a temperatura ambiental é elevada além da zona de termo neutralidade, as aves aumentam tanto o ritmo respiratório quanto o cardíaco para reduzir a temperatura corporal e a pressão sanguínea. Tais alterações levam a falhas, inclusive em relação à inervação do coração, uma vez que as células cardíacas sofrem necrose em função do estresse térmico (Tang, et al., 2018).

A inervação do coração é diferente daquela de outros órgãos, pois está sujeita à atuação do sistema nervoso autônomo (inervação extrínseca), à inervação feita pelo sistema nodal (intrínseca) e à inervação realizada pelo plexo cardíaco. Este último, também chamado de sistema nervoso cardíaco intrínseco (SNCI), é caracterizado como uma complexa rede de neurônios agrupados em gânglios localizados predominantemente no tecido conjuntivo subepicárdico, próximo aos grandes vasos da base do órgão. Estudos demonstram que os neurônios do SNCI, além de processarem informações advindas do SNA, as enviam

diretamente às fibras cardíacas e participam ativamente da regulação da atividade cardíaca auxiliando na manutenção do débito cardíaco, na taxa de contração do coração, no volume de sangue ofertado ao miocárdio e na regulação da pressão arterial. Assim, iniciam a condução de impulsos elétricos mantendo a contração sincronizada do miocárdio e o ritmo cardíaco. Por isso, alterações morfológicas e/ou funcionais deste plexo podem ocasionar graves disfunções no funcionamento do coração alterando as atividades cardíacas (Jimenes, et al., 2017).

Desta forma, tendo em vista que o estresse térmico pode alterar os ritmos respiratório e cardíaco, a temperatura corporal e a pressão sanguínea, e que tais alterações podem modificar o funcionamento do coração e conseqüentemente sua inervação, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil morfológico, morfométrico e quantitativo do plexo cardíaco, bem como os aspectos morfométricos e histopatológicos do tecido adiposo epicárdico de frangos de granja submetidos ao estresse térmico.

2. Metodologia

2.1 Animais

Todo o protocolo experimental descrito a seguir foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob o parecer número 4000170615.

Este estudo utilizou 14 frangos de corte machos (Cobb 500) com 1 dia de idade os quais foram mantidos no Laboratório de Bioclimatologia da Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá até os 42 dias. As aves foram divididas por delineamento inteiramente casualizado em 2 grupos (n=7): ambiente de conforto térmico (animais mantidos a 18°C) e ambiente de estresse térmico (animais sujeitos a 32° C nas 12 horas prévias ao abate).

Em todo o período experimental os animais tiveram livre acesso à água e às dietas para as duas fases de criação (Tabela 1), as quais atendem as exigências nutricionais durante os períodos de 1 a 21 dias e 22 a 42 dias (Rostagno, et al., 2011).

Tabela 1. Dietas Experimentais.

	1-21 dias	22-42 dias
Ingredientes (%)		
Milho PR 7,8%	54,17	59,8
Óleo Soja	3,8	4,5
Farelo de soja 46% PB	37,3	32,4
Sal comum	0,45	0,43
Calcáreo calcítico 38%Ca	1,16	0,93
Fosfato bicálcico 20%	1,53	1,07
DL - Metionina 99%	0,28	0,27
L-Treonina 98,5%	0,04	0,002
L-Lisina-78%	0,15	0,15
PREMIX	0,4	0,4
Inerte	0,03	0,02
Nutrientes		
PB (%)	22	20
Energia (Kcal)	3053	3169
M+C Dig	0,856	0,810
Lis Dig	1,199	1,080
TripDig	0,244	0,218
Treo Dig	0,779	0,700
IsolDig	0,855	0,772
ValinDig	0,923	0,842
ArgDig	1,384	1,243
Sódio	0,200	0,19
Cálcio	0,876	0,68
Pdisp	0,450	0,35
Análise da composição (%)		
Proteína bruta	22,36	19,53
Lisina digestível	1,091	1,139
Metionina+Cistina	0,585	0,891
Treonina	0,726	0,756
Valina	0,900	0,939
Isoleucina	0,813	0,853
Arginina	1,225	1,272

Fonte: Rostagno et al. (2011).

2.2 Coleta do coração e processamento histológico

As aves foram abatidas por deslocamento cervical aos 42 dias de idade e posteriormente submetidas à toracotomia para a remoção do coração e dos grandes vasos da

base. O órgão removido foi então pesado em balança analítica (SHIMADZU®¹), lavado com solução de PBS (0,1 M; pH 7,4) e armazenado em paraformaldeído 4% por 48 horas. Posteriormente, foi submetido à rotina de processamento histológico para emblocamento e corte.

O órgão foi emblocado com o ápice voltado para baixo e todos os cortes foram realizados acima do septo atrioventricular, uma vez que o número de gânglios do plexo cardíaco nos tecidos atriais é maior em relação aqueles dos tecidos ventriculares (Jimenes et al., 2017). Cortes transversais semi-seriados de 5 µm foram realizados no sentido ápice-base com micrótomo (Leica RM 2255®²) e foram distribuídos em 20 lâminas por ave, contendo 3 cortes cada lâmina, totalizando assim 60 cortes por ave.

2.3 Análise histopatológica dos adipócitos e vasos

A análise histopatológica do tecido adiposo epicárdico foi realizada em cortes corados com H.E. Para tanto, foram analisados 20 campos por lâmina, os quais foram observados em objetiva de 40x. Os infiltrados inflamatórios foram quantificados com base na intensidade e distribuição (Lopes et al., 2013). A intensidade considerou o número de células inflamatórias: ausente (0 – 9 células), discreto (10 – 25 células), moderado (26 – 50 células) e intenso (> 50 células). A distribuição considerou o aparecimento por campo visual: focal (um único infiltrado), multifocal (mais de um infiltrado) e difuso (células inflamatórias difusamente distribuídas).

Adicionalmente, foram mensuradas as áreas e os diâmetros de 100 adipócitos uniloculares do tecido epicárdico por grupo. Para tanto, os adipócitos capturados em microscópio óptico (MOTIC®³) equipado com uma câmera associada a um sistema computadorizado de análise de imagem (*Image Pró-Plus 4.0*⁴) foram analisados em objetiva de 20x.

Para a análise dos vasos do tecido epicárdico foram utilizados os cortes corados em H.E. (em microscópio óptico MOTIC®) e em Picrossirius (microscópio MOTIC® de luz

¹ Marte Científica, Santa Rita do Sapucaí - Brasil.

² Leica Biosystems, Estados Unidos.

³ Laborama, São Paulo, Brasil.

⁴ Media Cybernects, Rockville, Estados Unidos.

comum e polarizada). Foram observados aspectos histopatológicos relacionados a possíveis processos inflamatórios e percentual de fibras colágenas nos vasos.

2.4 Análise dos aspectos morfológicos do coração e do plexo cardíaco

A análise morfológica descreveu características estruturais do coração, dos neurônios, dos gânglios e das células da glia constituintes deste plexo. Assim, além da localização do plexo cardíaco, aspectos celulares básicos como núcleo e citoplasma foram descritos por meio de uma análise observacional descritiva pormenorizada.

2.5 Análise dos aspectos morfométricos do plexo cardíaco

A análise morfométrica considerou a área total do corpo celular de 100 neurônios do plexo cardíaco por animal, distribuídos em diferentes cortes. Para tanto, os cortes foram visualizados em microscópio óptico (MOTIC®) equipado com uma câmera associada a um sistema computadorizado de análise de imagem (*Image Pro-Plus 4.0*). Adicionalmente, a área total e o comprimento dos gânglios do plexo foram medidos.

Por fim, a quantificação da área e do diâmetro do tecido adiposo epicárdico foi feita. Para tanto, foi utilizado o programa analisador de imagens (*Image Pró-Plus 4.0*) com calibragem de régua de 20x, seguido da ferramenta manual *Measurements*. Para a medida da área foi utilizada a ferramenta *Create Polygon Feature* e, para a medida do diâmetro, a ferramenta *Add Distance Measurement Between Two Existing Features*.

2.6 Análise dos aspectos quantitativos do plexo cardíaco

A análise quantitativa dos neurônios foi realizada contando todos os neurônios dos gânglios do plexo cardíaco por meio de um microscópio fotônico (MOTIC®), na objetiva de 20x.

A análise quantitativa das fibras colágenas foi realizada nos cortes corados com a técnica de Picrossirius com o auxílio de um microscópio de luz comum e polarizada (MOTIC®) a fim de diferenciar a birrefringência e a organização dos diferentes tipos de fibras colágenas. Assim, foram contabilizadas a área de ocupação das fibras dos tipos I, III e totais da matriz extracelular associada ao plexo.

2.7 Análise estatística

Os dados foram comparados usando o *software* BioEstat 5.4 (Mamirauá⁵). Os testes de D'Agostino Pearson ou Shapiro-Wilk foram realizados para determinar a normalidade dos dados. Variáveis com distribuição normal foram quantificadas por meio de análise unidirecional de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey (*GraphPad Prism 5*⁶). As variáveis que apresentaram distribuição não normal foram avaliadas por meio do teste de Kruskal-Wallis (*GraphPad Prism 5*⁶). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão e $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

3. Resultados

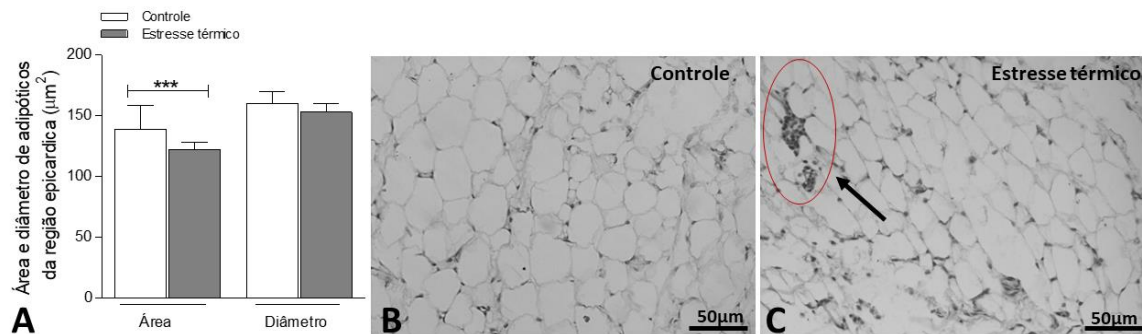
3.1 Análise da gordura epicárdica e dos vasos

A Figura 1A apresenta os resultados referentes à área e ao diâmetro dos adipócitos do tecido epicárdico. Sua análise permite constatar que os animais do grupo submetido ao estresse térmico (Figura 1C) apresentaram diminuição significativa da área destas células ($122,6 \pm 5,9 \mu\text{m}^2$) quando comparados aos animais do grupo controle ($139,0 \pm 19,1 \mu\text{m}^2$; Figura 1B). Todavia, embora tenha sido constatada diminuição no diâmetro dos adipócitos do grupo de estresse, esta não foi significativa. Ademais, nestes animais foram vistos infiltrados linfocitários intensos e difusamente dispersos.

⁵ Instituto Mamirauá, Belém, Pará.

⁶ GraphPad Software, Califórnia, Estados Unidos.

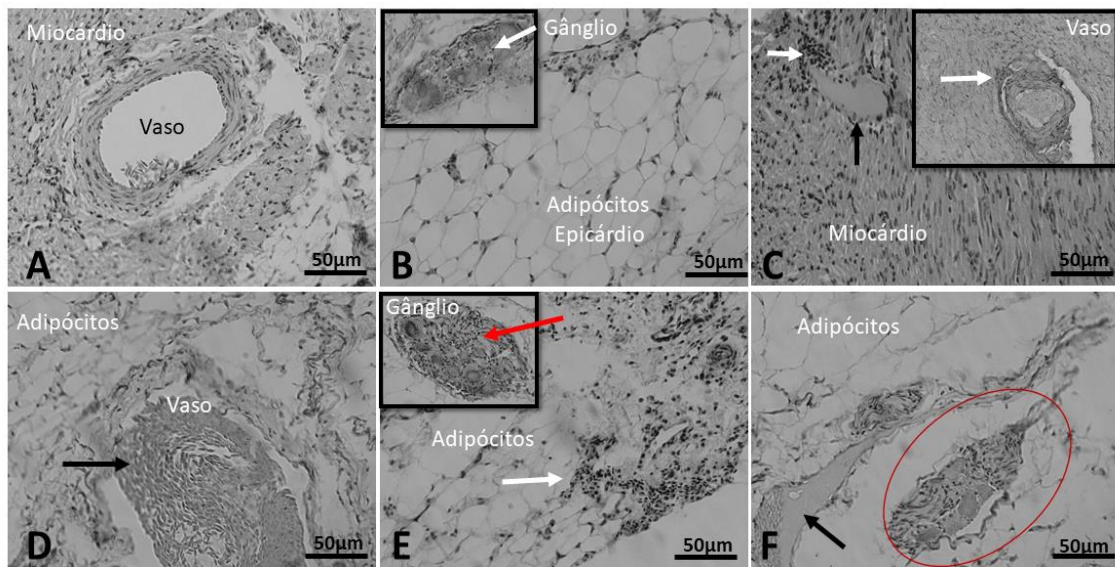
Figura 1. A: Média \pm desvio padrão da área e do diâmetro dos adipócitos do tecido epicárdico de frangos de granja mantidos em condições de conforto e estresse térmico. **B:** Fotomicrografia dos adipócitos do tecido epicárdico do grupo controle. **C:** Fotomicrografia dos adipócitos do tecido epicárdico do grupo submetido ao estresse térmico. Observar a presença de foco inflamatório moderado (círculo vermelho e seta). Cortes corados em H.E. e visualizados na objetiva de 40x. ANOVA *One-way*, seguido pelo pós-teste de *Tukey*. *** $p < 0,05$ comparado ao grupo controle (n=7).



Fonte: elaborado pelos autores com base nos dados da pesquisa.

A análise histopatológica dos corações dos frangos de granja está apresentada na Figura 2. Nos adipócitos do tecido epicárdico dos animais submetidos ao estresse térmico nota-se edema (Figura 2C), congestão vascular (Figura 2D), infiltrado inflamatório no tecido adiposo epicárdico e no gânglio do plexo cardíaco (Figura 2E). Ademais, foram observados focos inflamatórios discretos no músculo circunjacente à região epicárdica.

Figura 2. Análise histopatológica dos corações de frangos de granja. **A e B:** Grupos controle. Observar em **A** o miocárdio, um vaso não congestionado e a ausência de infiltrados inflamatórios. Observar em **B** adipócitos do tecido epicárdico, ausência de infiltrados inflamatórios e um gânglio do plexo cardíaco (em destaque). **C, D, E e F:** Grupos submetidos ao estresse térmico. Observar em **C** edema (seta preta), linfócitos (seta branca pequena à esquerda) e um vaso em intensa congestão (seta branca maior, destaque à direita). Adicionalmente, em **D** um vaso congestionado (seta preta). Observar em **E** infiltrado inflamatório intenso em adipócitos do tecido adiposo epicárdico (seta branca) e infiltração linfocitária em gânglio do plexo cardíaco (seta vermelha). Observar em **F** infiltração de leucócitos e de fibrina no tecido epicárdico (seta preta) e de leucócitos em gânglio (círculo vermelho).

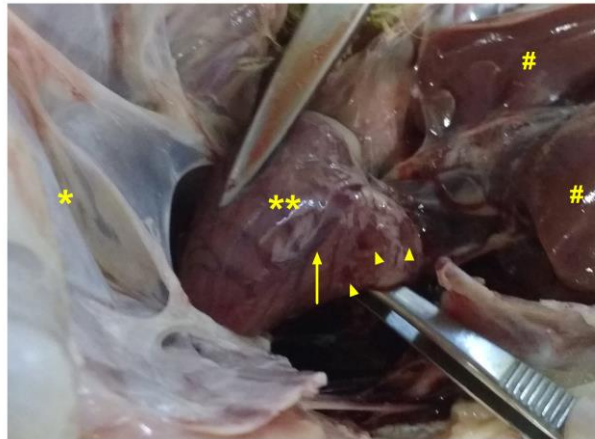


Fonte: elaborado pelos autores com base nos dados da pesquisa.

3.2 Análise dos aspectos morfológicos do coração e do plexo cardíaco

Após a eutanásia dos animais submetidos ao estresse térmico, constatou-se que alguns deles apresentavam corações com características de infarto agudo do miocárdio, tais como necrose do miocárdio e vasos congestionados (Figura 3).

Figura 3. Foto de um coração do grupo submetido ao estresse térmico. Nota-se vaso congesto (seta amarela), necrose do miocárdio (cabeça de seta). Pulmões (#), pericárdio fibroso ou saco pericárdico (*) e epicárdio seroso (**).

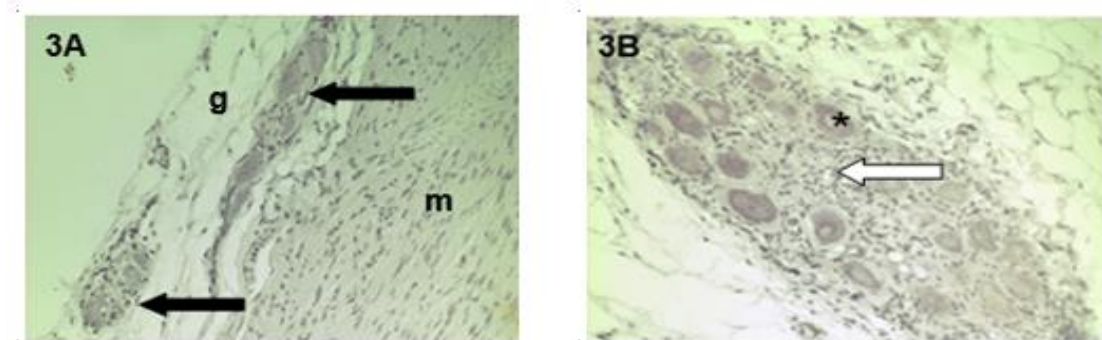


Fonte: elaborado pelos autores com base nos dados da pesquisa.

A Figura 4A apresenta aspectos morfológicos básicos do tecido cardíaco, os quais foram semelhantes entre os grupos controle e de estresse térmico. Pode-se observar que os gânglios apresentam tamanhos e formatos diversificados e de fato concentram-se na base do coração, submersos no tecido adiposo unilocular, adjuntos aos grandes vasos deste órgão.

Na Figura 4B é possível notar que os neurônios ganglionares apresentam forma esférica e núcleos centralizados, e as células da glia revelam-se em formato padrão, posicionadas periféricamente aos neurônios.

Figura 4. A. Fotomicrografia do tecido cardíaco de frangos de granja submetido ao estresse térmico. Notam-se dois gânglios (setas pretas), miocárdio (m) e tecido adiposo unilocular (g). **B.** Fotomicrografia de neurônios (*) e células da glia (seta branca). Coloração em H.E. e visualização na objetiva de 20x.



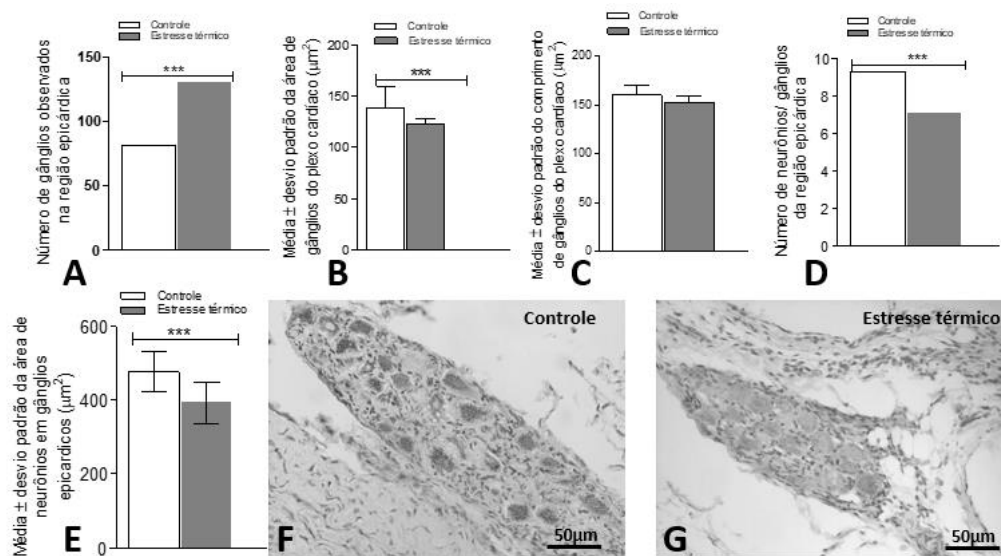
Fonte: elaborado pelos autores com base nos dados da pesquisa.

3.3 Análise dos aspectos morfométricos do plexo cardíaco

A Figura 5 refere-se à avaliação morfométrica dos gânglios do plexo. Nota-se aumento no número de gânglios nos frangos submetidos ao estresse térmico ($130 \pm 0,0 \mu\text{m}^2$) em relação aos mantidos em condições de conforto ($81 \pm 0,0 \mu\text{m}^2$; Figura 5A). Porém, houve diminuição significativa da área e não significativa do comprimento dos gânglios neste grupo ($122,6 \pm 5,0 \mu\text{m}^2$; $152,7 \pm 6,7 \mu\text{m}^2$) em relação ao grupo controle ($144,3 \pm 15,0 \mu\text{m}^2$; $160,4 \pm 9,3 \mu\text{m}^2$), respectivamente (Figura 5B e C).

Ademais, foi observada diminuição no número de neurônios e na área dos mesmos no grupo submetido ao estresse térmico ($7,03 \pm 0,00 \mu\text{m}^2$; $392,4 \pm 55,6 \mu\text{m}^2$) em relação ao grupo controle ($9,29 \pm 0,00 \mu\text{m}^2$; $476,7 \pm 53,8 \mu\text{m}^2$), respectivamente (Figura 5D e E).

Figura 5. **A:** Número de gânglios cardíacos. **B:** Média \pm desvio padrão da área dos gânglios cardíacos. **C:** Média \pm desvio padrão do comprimento dos gânglios cardíacos. **D:** Número de neurônios por gânglios na região epicárdica. **E:** Média \pm desvio padrão da área dos neurônios dos gânglios cardíacos. Fotomicrografias destacando um gânglio do plexo cardíaco do grupo controle (**F**) e do grupo submetido ao estresse térmico (**G**). Cortes corados em H.E. visualizados na objetiva de 20x. ANOVA *One-way*, seguido pelo pós-teste de *Tukey*. *** $p < 0,05$ comparado ao grupo controle (n=7).

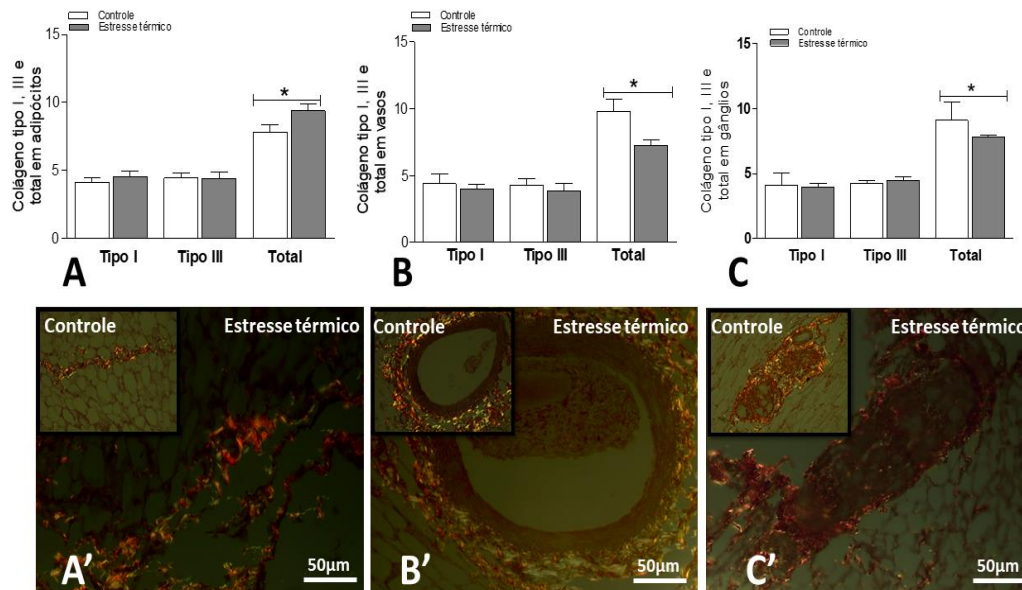


Fonte: elaborado pelos autores com base nos dados da pesquisa.

3.4 Análise do colágeno presente no plexo cardíaco

A quantificação das fibras colágenas dos tipos I, III e total, tanto do tecido epicárdico quanto dos vasos epicárdicos e dos gânglios, está apresentada na Figura 6. Observou-se aumento do colágeno total nos adipócitos do tecido epicárdico do grupo submetido ao estresse térmico ($9,3 \pm 0,4 \mu\text{m}^2$) em relação ao grupo controle ($7,8 \pm 0,5 \mu\text{m}^2$; Figura 6A). Todavia, houve diminuição do percentual de colágeno total nos vasos sanguíneos ($7,2 \pm 0,3 \mu\text{m}^2$) (Figura 6B) e nos gânglios do plexo cardíaco ($7,8 \pm 0,1 \mu\text{m}^2$) em relação aos seus respectivos controles ($9,7 \pm 0,9 \mu\text{m}^2$; $9,1 \pm 1,4 \mu\text{m}^2$) (Figura 5C).

Figura 6. Percentual de fibras colágenas dos tipos I, III e total em adipócitos do tecido epicárdico (A), vasos sanguíneos (B) e gânglios do plexo cardíaco (C). Fotomicrografias com destaques no canto superior esquerdo de adipócitos (A'), vasos epicárdicos (B') e gânglios do plexo cardíaco (C'). Cortes histológicos corados em picrossirius e visualizados na objetiva de 20x. ANOVA *One-way*, seguido pelo pós-teste de *Tukey*. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle (n=7).



Fonte: elaborado pelos autores com base nos dados da pesquisa.

4. Discussão

Este estudo avaliou a influência do estresse térmico ambiental agudo sobre aspectos morfológicos, morfométricos e histopatológicos do tecido adiposo epicárdico, dos vasos epicárdicos e do plexo cardíaco de frangos de granja. Isto porque o estresse térmico pode alterar a temperatura corporal, a pressão sanguínea e o ritmo cardíaco, modificando o funcionamento de órgãos vitais como o coração, e predispondo severos danos cardiovasculares (Laganá, 2008).

Embora as aves possuam capacidade de manter o equilíbrio térmico em situações adversas, tal capacidade diminui drasticamente quando a temperatura é elevada acima da zona de conforto. O aumento da temperatura ambiental pode, por exemplo, diminuir a ingestão nutricional e consequentemente a quantidade de células adiposas. De fato, nossos resultados mostraram que o estresse térmico reduziu a área dos adipócitos, corroborando com os relatos de Queiroz et al. (2009) os quais salientaram que a manutenção da temperatura corpórea

depende de grande gasto energético, podendo inclusive ocasionar diminuição do tamanho dos adipócitos e do peso corporal. Mais recentemente, Oba et al. (2012), que também relataram menores porcentagens de gordura em aves submetidas ao estresse térmico, associaram esta condição à liberação de glicocorticoides os quais aumentam a oxidação de ácidos graxos visando elevar a produção de acetil coenzima A e a reposição dos níveis celulares de ATP.

Além disso, a análise histopatológica do tecido cardíaco realizada no presente estudo evidenciou correlação entre estresse térmico, infiltração leucocitária, edema e congestão vascular. Para Kumar, Abbas e Fausto (2010) tal fato pode estar associado à dilatação dos poros dos vasos, o que desencadeia extravasamento de líquidos e células imunológicas aos tecidos adjacentes. Ademais, vale destacar que a inflamação tecidual e a ganglionite observadas em nosso estudo podem interferir em aspectos funcionais do coração como a manutenção do débito cardíaco, do volume de sangue ofertado ao miocárdio e no controle da pressão arterial (Brasileiro Filho, 2017).

Em relação à análise morfológica do plexo, nossos achados estão em concordância com a literatura atual (Jimenes, et al., 2017) uma vez que foram identificados vários neurônios agrupados em gânglios difusamente dispostos por toda a região atrial. Adicionalmente, inúmeras células da glia foram vistas ladeando as células nervosas que apresentaram tamanhos e formatos ovulares.

A análise morfométrica revelou que o estresse térmico de fato pode modificar importantes aspectos métricos e quantitativos do plexo cardíaco. Houve, por exemplo, redução no número de neurônios e redução na área destas células concomitante à diminuição na área dos gânglios. Não foram encontrados estudos que possam explicar tal alteração especificamente no plexo cardíaco em relação ao estresse térmico. Todavia, estudos comprovam que o aumento da temperatura corporal está intimamente relacionado a danos neuronais e déficits neurológicos em cérebro de roedores (Ohk, et al., 2020).

Houve diferença significativa na quantificação das fibras colágenas totais nos adipócitos do tecido epicárdico, nos vasos epicárdicos e nos gânglios do plexo cardíaco. Não foram encontrados na literatura atual estudos correlacionando a quantificação de colágeno do tecido adiposo ao estresse térmico. Porém, estudos de remodelação cardíaca em ratos submetidos ao infarto agudo do miocárdio evidenciam aumento do colágeno total (Wang, et al., 2017).

Vale ressaltar que, após a eutanásia dos animais submetidos ao estresse térmico, constatou-se que alguns deles apresentavam seus corações com características de infarto agudo do miocárdio, tais como necrose do miocárdio e vasos congestos. Tal fato é de extrema

relevância uma vez que o miocárdio apresenta sensibilidade à elevação da temperatura ambiental, a qual exerce efeitos inotrópicos negativos no coração (Obata et al., 2020), afetando inclusive sua contratilidade (Hausfater, et al., 2010).

Considerando que tanto o saco pericárdico quanto o tecido adiposo cardíaco têm como característica absorver impactos durante o ritmo cardíaco (Sacks e Fain, 2011) e que o mesmo mostrou aumento na quantidade de colágeno total, pode-se inferir que tal aumento desfavoreça a função protetora e absorviva desta gordura cardíaca, pois a fibrose pode limitar esta ação.

Ademais, foi observado que a exposição aguda ao estresse térmico causou diminuição do colágeno total presente nos vasos coronários. Isto pode ser explicado pelo aumento na produção de óxido nítrico (ON) a fim de promover vasodilatação em consequência ao estresse térmico. Estudo de Kolpakov, Gordon e Hulk (1995) mostrou que o ON, além de sua importante ação vasodilatadora, atua como modulador na síntese de proteínas da matriz extracelular e sua alta produção pode interferir negativamente na produção de colágeno na parede dos vasos.

Por fim, a diminuição do colágeno presente no plexo cardíaco no grupo submetido ao estresse térmico pode estar relacionada diretamente com a redução do número e da área dos neurônios, assim como da área dos gânglios do plexo cardíaco. Isto porque a quantidade total de colágeno considera o número de células e de gânglios presentes no referido plexo sendo assim proporcional ao seu tamanho. Vale destacar que tanto o colágeno perineural quanto o colágeno periganglionar garantem suporte e manutenção da organização do plexo durante o ritmo cardíaco (Akamatsu, 2007).

5. Considerações Finais

Em conjunto, nossos resultados revelaram que o estresse térmico causou diminuição da área dos adipócitos sem alterações no diâmetro dos mesmos. Adicionalmente, várias alterações histopatológicas foram observadas, tais como infiltrados linfocitários nos adipócitos do tecido epicárdico, edema, congestão vascular, infiltração de fibrina e ganglionite. De igual modo, o número e a área dos neurônios do plexo cardíaco diminuíram concomitantemente à diminuição da área e do comprimento dos gânglios, embora o número dos mesmos tenha aumentado. Ademais, verificou-se aumento de colágeno total em adipócitos do tecido epicárdico e diminuição de colágeno ao redor dos gânglios do plexo cardíaco de frangos submetidos ao estresse térmico. Por todo o exposto, pode-se concluir que

o estresse térmico ambiental agudo pode ser prejudicial ao coração gerando um ambiente inflamatório e mudanças estruturais no plexo cardíaco, podendo comprometer o funcionamento do coração. Sugerimos mais estudos a fim de ampliar a compreensão dos mecanismos que possam estar envolvidos nessas alterações como, por exemplo, dosagem de marcadores e mediadores inflamatórios.

Referências

Akamatsu, F. E., Gama, E. F., Souza, R. R., Leme, R. J. A., Liberti, E. A. (2007). Pre and post natal undernutrition influences the development of the subepicardic ganglion capsule. *Braz. J. Morphol*, 24 (2), 118-125.

Brasileiro Filho, G. (2017). *Bogliolo patologia*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1556p.

COPACOL. (2014). Manual de produção de frango de corte. Equipe técnica integração avícola Copacol Paraná, Copacol, p. 30-32.

Hausfater, P., Doumenc, B., Chopin, S., Le, M.Y., Santin, A., Dautheville, S., Patzak, A., Hericord, P., Mégarbane, B., Andronikof, M., Terbaoui, N., Riou, B. (2010). Elevation of cardiac troponin I during non-exertional heat-related illnesses in the context of a heat wave. *Crit Care.*;14(3).

Jimenes, D. R., Muniz, E., Sant'ana, D. M. G., Gomes, C. R. G., Barbosa, C. P. (2017). Inervação cardíaca: um estudo de revisão com ênfase no plexo cardíaco. *Revista Uningá*, 52 (1), 92-99.

Kolpakov, V., Gordon, D., Hulk, T.J. (1995). Nitric Oxide-Generating Compounds Inhibit Total Protein and Collagen Synthesis in Cultured Vascular Smooth Muscle Cells. *Circulation Research*, 76 (2), 305-309.

Laganá C. (2008). Influência de altas temperaturas na alimentação de frangos de corte. Pesquisa e tecnologia. Acessado em 26/06/2020, em http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/FrangoCorte/index.htm.

Lopes, C.R., Falkowski, G.J.S., Brustolin C.F., Massini, P. F.; Moreira, N. M., Braga, C. F., Ferreira, E. C., Aleixo, D. L., Araújo, S. M. (2013). Effect of different homeopathic medicines on histopathology of mice infected by Trypanosomacruzi. *Int. J. High Dilution Res*, 12 (44), 141-142.

Martins, J. M. S., Litz F. H., Castilhano, H., Campos, D. F., Taveira R. Z., Neto, O.J.S. (2012). Melhoramento genético de frangos de corte. *PUBVET*, 6 (18), 1369-1374.

Moura, G. G. C., Neto, L. F., Santana, A. P. L. (2017). Melhoramento genético em aves de corte. *Revista Conexão eletrônica*, 14 (1), 363-369.

Oba, A., Lopes, P. C. F., Boiago, M. M., Silva, A. M. S., Montassier H. J., Souza P. A. (2012). Características produtivas e imunológicas de frangos de corte submetidos a dietas suplementadas com cromo, criados sob diferentes condições de ambiente. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41 (5), 1186-1192.

Obata, K., Morita, H., & Takaki, M. (2020). Mechanism underlying the negative inotropic effect in rat left ventricle in hyperthermia: the role of TRPV1. *The journal of physiological sciences*, 70 (1), 4.

Ohk, T. G., Ahn, J. H., Park, Y. E., Lee, T. K., Kim, B., Lee, J. C., Cho, J. H., Park, J. H., Won, M. H., Lee, C. H. (2020). Comparison of neuronal death and expression of TNF α and MCT4 in the gerbil hippocampal CA1 region induced by ischemia/reperfusion under hyperthermia to those under normothermia. *Molecular medicine reports*, 22 (2), 1044–1052.

Queiroz J. C. F., Alonso-Vale M. I. C., Curi R., Lima F. B. (2009). Controle da adipogênese por ácidos graxos. *Arq. Bras. Endocrinol Metab*, 5 (53), 582-594.

Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J. L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S.L.T. Brazilian tables for birds and pigs: composition of foods and nutritional requirements. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais, 2011.

Sacks, H.S., Fain, J.N. (2011). Human epicardial fat: what is new and what is missing? *Clinical and Experimental. Clin Exp Pharmacol Physiol.* 38, 879–887.

Silva, L. S., Gai, V. F. (2017). Produtividade de frangos de corte em sistema lona azul submetidos a diferentes programas de luz. *Revista Cultivando o saber*, 10 (2) 259-268.

Tang, S., Yin, B., Xu, J., Bao, E. (2018). Rosemary Reduces Heat Stress by Inducing CRYAB and HSP70 Expression in Broiler Chickens. *Oxid Med Cell Longev*, <https://doi.org/10.1155/2018/7014126>.

Tickle, P. G., Paxton, H., Rankin, J. W., Hutchinson, J. R., Codd, J. R. (2014). Anatomical and biomechanical traits of broiler chickens across ontogeny. Part I. Anatomy of the musculoskeletal respiratory apparatus and changes in organ size. *PeerJ*, PMID: 25071981 PMCID: PMC4103091.

Wang, J., He, W., Guo, L., Zhang, Y., Li, H., Han, S., Shen, D. (2017). The ACE2-Ang (1-7)-Mas receptor axis attenuates cardiac remodeling and fibrosis in post-myocardial infarction. *Mol Med Rep*, 16 (2), 1973-1981.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Fernando Serrano Vicentin - 25%

Kariny Ferreira Moreira - 15%

Diogo Rodrigues Jimenes - 15%

Andréia Vieira Pereira - 15%

Eliane Gasparino - 15%

Carmem Patrícia Barbosa - 15%