

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:
Cardiologia e Ciências Cardiovasculares**

**Efeito agudo da ingestão de álcool sobre a função endotelial
em homens jovens**

Dissertação de Mestrado

Paulo Fernando Dotto Bau

Orientador: Guido Aranha Rosito

Porto Alegre, dezembro de 2004

Dedicatória

À minha esposa Roseane e meus filhos Sophia e Felipe, por todo amor;

Aos meus pais, Edasir e Edovirge, pelo exemplo de vida;

Aos meus sogros Daniel e Nilacyr (in memoriam).

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Guido A. Rosito, pela orientação segura e amizade;

Aos irmãos, cunhados e sobrinhos, pelo apoio;

Ao Prof. Dr. Claiton H. D. Bau, pelo estímulo constante e orientação estatística;

Ao Dr. Alexandre Naujorks, pela realização dos exames ecográficos;

Ao Dr. Moacir Alves Filho, pela interpretação de Holter e da MAPA;

Aos colegas e funcionários do ICARDIO, Instituto Cardiovascular, pela receptividade no uso de sua estrutura para o desenvolvimento do projeto;

Aos colegas do Departamento de Clínica Médica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Maria e ao chefe do Departamento, Prof. Marcos Troian, pela liberação, apoio e por assumirem as atividades enquanto estive ausente;

Ao Labimed, especialmente à Dra. Marta Duarte, Dr. Dalnei V. Pereira e Dr. Elehú Oliveira, bem como sua equipe de funcionários, pela disponibilidade, coleta e armazenamento de material;

Às secretárias do consultório, pelo imprescindível apoio diário;

Aos funcionários contratados para o apoio às atividades de pesquisa, especialmente no manejo das situações envolvendo o experimento;

Aos professores, colegas e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares - UFRGS, pelas sugestões e companheirismo;

Aos indivíduos voluntários desse estudo, pela inestimável cooperação;

Sumário

1. Introdução.....	01
Álcool e doença cardiovascular.....	01
Função endotelial.....	04
Disfunção endotelial e sua avaliação.....	06
Álcool e função endotelial: marco teórico.....	08
Referências.....	11
2. Artigo original em português.....	16
3. Artigo original em inglês.....	35
4. Anexo 1.....	53
Termo de consentimento livre e esclarecido	
5. Anexo 2.....	55
Resolução do comitê de ética em pesquisa	

1. INTRODUÇÃO

Álcool e doença cardiovascular

O conjunto de estudos epidemiológicos disponíveis atualmente aponta para um efeito bastante complexo do álcool sobre o sistema cardiovascular¹. Existe uma relação inversa entre o consumo moderado de bebidas alcoólicas e a mortalidade devido à doença coronariana². No entanto, um consumo maior de álcool aumenta o risco de mortalidade por várias causas, incluindo cirrose e câncer.^{3,4,5} Isso resulta em uma curva tipo J, entre mortalidade e consumo de álcool.⁴

No início do século XX, foi observada pela primeira vez essa relação inversa entre o consumo de álcool e doença aterosclerótica.⁶ O termo “paradoxo francês” foi cunhado por epidemiologistas para chamar a atenção sobre a incidência relativamente baixa de doença coronariana na população francesa, apesar do grande consumo de gorduras saturadas.^{7,8,9}

O projeto WHO-MONICA (“monitoring trends and determinants in cardiovascular disease”) foi delineado para analisar as relações entre fatores de risco e eventos cardiovasculares. Os dados foram coletados de mais de 100.000 homens e mulheres, de 38 populações, em 21 países.^{10,11} Esse estudo confirmou a existência de um gradiente decrescente na frequência de eventos coronarianos, do norte para o sul da Europa, com os maiores valores encontrados na Escócia e os menores na Espanha e sudoeste da França. A menor frequência de eventos coronarianos na França e outros países mediterrâneos foi associada com um escore de risco comparável ao encontrado em populações de outros países desenvolvidos.¹¹ Entretanto, a razão dessa

menor incidência de eventos coronarianos nas populações mediterrâneas ainda não foi explicada. Embora o vinho seja apenas um dos componentes da dieta mediterrânea, foi sugerido que pudesse ter efeito benéfico contra a doença coronariana.¹²

Apesar desses dados favoráveis ao vinho, não há consenso quanto ao tipo de bebida (vinho, cerveja ou destilados), bem como a quantidade que produz esse impacto favorável das bebidas alcoólicas.^{2,13,14} Os polifenóis são particularmente abundantes no vinho. Para determinar os possíveis efeitos benéficos dos componentes alcoólicos e não-alcoólicos do vinho tinto, um estudo¹⁵ comparou o vinho, uma solução com a mesma quantidade de álcool e vinho tinto sem álcool, verificando um efeito benéfico sobre os níveis lipídicos um pouco maior com o consumo moderado de vinho tinto com álcool, provavelmente devido à ação do álcool e dos polifenóis sobre as lipoproteínas. O efeito antioxidante de vários compostos presentes na casca da uva, como o resveratrol, quercetina e ácido tânico diminuem a oxidação do LDL e a doença cardiovascular.⁹ A diferença fundamental entre os vinhos tinto e branco é o conteúdo fenólico, 20 vezes superior no vinho tinto.⁹

A injúria endotelial pelo LDL oxidado está envolvida na aterogênese e na trombose. Assim, a prevenção da oxidação do LDL pelos polifenóis do vinho ou por outros extratos alcoólicos pode ter um efeito anti-trombótico e anti-aterosclerótico¹⁶. Um estudo de 15 pacientes com doença arterial coronariana e prejuízo da função endotelial demonstrou que a ingestão regular, mas por curto espaço de tempo, de suco de uva tinta melhorou significativamente a função endotelial e reduziu a suscetibilidade do LDL à oxidação, sugerindo que os

flavonóides e outros componentes possam prevenir eventos cardiovasculares, independentemente do conteúdo alcoólico¹⁷.

Embora possam existir efeitos específicos do vinho, há indícios fortes de uma redução no risco de doença coronariana devido especificamente ao etanol, independentemente do tipo de bebida alcoólica.¹⁴ O embasamento para esse efeito protetor do álcool em baixas doses ainda não foi bem estabelecido, mas tem sido atribuído à ação do álcool sobre outros fatores de risco. Em particular, o papel do álcool em aumentar o colesterol de alta densidade (HDL) parece contribuir para uma redução no risco coronariano.¹⁸ Também foi sugerido que os efeitos do álcool sobre as artérias seria mediado em parte por uma desaceleração da aterogênese.¹⁹

Klatsky documentou em um grande estudo populacional, que o álcool está associado com variações da pressão arterial.²⁰ Essa associação tem sido demonstrada em muitos estudos populacionais. Enquanto alguns verificaram uma relação linear entre o consumo e a pressão arterial,²¹ outros mostraram uma curva em formato de J, com hipertensão menor em indivíduos que consomem menos de duas doses por dia, em comparação com os abstêmios.⁴ Aqueles que bebiam grandes quantidades de álcool somente nos finais de semana tinham uma pressão arterial ambulatorial de 24 horas maior na segunda-feira do que na terça-feira, enquanto aqueles que bebiam diariamente tinham PA semelhante nos dois dias.²² Quando bebedores pesados suspendiam ou reduziam a ingestão de álcool, a pressão usualmente caía.^{23,24} Foi descrito um efeito bifásico da ingestão repetida de álcool sobre a pressão arterial de 24 horas em pacientes hipertensos, consumidores habituais de álcool, com aumento da frequência cardíaca e queda da pressão arterial diastólica após a ingestão de

etanol e menor descenso noturno fisiológico²⁵. Rosito e cols.²⁶ observaram que a ingestão aguda de álcool em homens jovens e saudáveis determinava uma resposta hemodinâmica bifásica, causando inicialmente vasodilatação e, posteriormente, um efeito pressor. A maior prevalência de hipertensão arterial em abusadores de álcool observada nos estudos epidemiológicos poderia ser, em parte, resultado de medições feitas no período em que a PA está transitoriamente aumentada durante o período de retirada (“washout”) do álcool.²⁶

Função endotelial

Durante muito tempo se considerou que as artérias fossem apenas um sistema que responderia passivamente às ações do sistema neuroendócrino. Esse conceito tem evoluído nos últimos anos, graças ao progresso da biologia vascular. Sabe-se hoje que a parede vascular não é um tecido inerte, ela apresenta uma camada interna endotelial que possui características endócrinas, produzindo substâncias que agem localmente e a distância, em várias partes do organismo.^{27,28} O endotélio é sensível às mudanças de fluxo sanguíneo, pressão arterial, sinais inflamatórios e hormônios circulantes, com capacidade de integrar sinais hemodinâmicos e humorais e modular o tônus vasomotor, de acordo com suas necessidades metabólicas teciduais locais. Um endotélio íntegro é capaz de controlar o tônus vasomotor, o estado de coagulabilidade do sangue e ainda tem ações antiinflamatórias específicas. Isso é conseguido mediante o controle da produção de agentes vasoativos, fatores hemostáticos e substâncias que atuam sobre a proliferação celular e inflamação²⁷ (Tabela 1).

Tabela 1. Fatores endoteliais que têm propriedades vasoativas, hemostáticas, moduladoras do crescimento ou inflamatórias.

VASODILATADORES

Óxido Nítrico
Prostaciclina
Fator hiperpolarizante derivado do endotélio
Peptídeo Natriurético C

VASOCONSTRITORES

Endotelina I
Angiotensina II
Endoperoxidase (PGH2)
Tromboxano A2

ANTITROMBÓTICOS

Ativador do plasminogênio tecidual
Prostaciclina
Óxido Nítrico

PRÓ-TROMBÓTICOS

Inibidor 1 do ativador do plasminogênio
Tromboxano A2

INIBIDORES DO CRESCIMENTO

Óxido Nítrico
Prostaciclina
Peptídeo Natriurético C

PROMOTORES DO CRESCIMENTO

Radicais superóxidos
Endotelina
Angiotensina II

INIBIDORES DA INFLAMAÇÃO

Óxido Nítrico

PROMOTORES DA INFLAMAÇÃO

Superóxidos e outros radicais livres
Fator alfa de necrose tumoral

Fonte: Vapaatalo e Mervaala (2001)²⁷.

Um estudo sobre a reatividade vascular em aortas de coelhos²⁸ verificou que a acetilcolina provocava vasodilatação somente se o endotélio estivesse intacto. Com a raspagem do endotélio, havia vasoconstrição do vaso. Assim, os autores lançaram a hipótese da existência de uma substância produzida pelas células endoteliais quando intactas, denominada de Fator de Relaxamento Derivado do Endotélio, que seria responsável pela vasodilatação associada à estimulação do endotélio. Posteriormente, esse fator foi caracterizado como sendo o óxido nítrico (ON).^{29,30}

A enzima responsável pela produção de ON é a ON sintetase, que está presente em vários tecidos. A capacidade de inibir a sua produção levou ao entendimento do significado fisiológico do ON na homeostasia vascular. De

forma aguda, a inibição da produção de ON resultou em vasoconstrição sistêmica, pulmonar e renal. A longo prazo, resultou em hipertensão e prejuízo da capacidade renal de aumentar a excreção de sódio em resposta à ingestão aumentada, levando a uma forma de hipertensão volume-dependente.³¹ Do ponto de vista clínico, a consequência mais importante da diminuição dos efeitos vasculares do ON é a aterosclerose.³²

Além do ON, foram descobertos posteriormente outros agentes com função no endotélio, listados na Tabela 1, com propriedades diversas.

Dentre esses agentes, destaca-se a endotelina 1, o mais potente vasoconstritor endógeno já identificado,^{33,34} produzindo constrição tanto em veias como em artérias. Vários estudos com modelos animais e em humanos demonstraram a correlação entre a produção e atividade da endotelina 1 e alguns dos principais fatores de risco para aterosclerose.^{35,36}

Disfunção endotelial e sua avaliação

Alguns investigadores têm sugerido que a função endotelial pode ser um vínculo entre os fatores de risco vasculares e a variabilidade individual, sendo que a disfunção endotelial seria um marcador pré-clínico da doença cardiovascular.³⁷ A presença de disfunção endotelial prediz a progressão da doença aterosclerótica e as taxas de eventos cardiovasculares.³⁸ Assim, a avaliação da resposta endotelial pode fornecer informações cruciais como instrumento prognóstico em pacientes sob risco de doença coronariana.

A disfunção endotelial em muitas doenças arteriais é caracterizada pela deterioração da função vasodilatadora do endotélio. Pode ser determinada pela

redução dos vasodilatadores derivados do endotélio, aumento local dos antagonistas a essas substâncias, ou pela associação desses dois fatores.³⁹

As manifestações clínicas da disfunção endotelial podem ser espasmo vascular, hipertensão, trombose e aterosclerose. Entretanto, hipertensão e aterosclerose também poderiam ser causas da disfunção endotelial. Uma vez que o processo tenha sido iniciado, vários fatores celulares participam da manutenção da disfunção endotelial.²⁷

Dentre os diferentes marcadores químicos e clínicos da disfunção endotelial, o ON e seus metabólitos são, teoricamente, os indicadores mais claros e diretos.^{40,41} Entretanto, são marcadores de modificações restritas localmente, dificultando a interpretação de suas medidas a partir do soro e urina.²⁷

A acetilcolina é freqüentemente utilizada em estudos clínicos da função endotelial. A sua administração causa uma vasodilatação dose-dependente e um aumento no fluxo sanguíneo. Por outro lado, a acetilcolina também provoca vasoconstrição por sua ação na musculatura lisa da parede vascular. Em presença de disfunção endotelial, ocorre um desequilíbrio entre a função vasodilatadora e a vasoconstritora da acetilcolina, com predomínio da vasoconstrição.³⁹

O Fator de Von Willebrand, que é sintetizado pelas células endoteliais, media a adesão e agregação plaquetárias, sendo que um nível plasmático elevado sugere dano endotelial.⁴¹ Outro indicador de disfunção endotelial e passo importante na aterogênese é a expressão das moléculas de adesão na superfície do endotélio vascular após lesões.⁴² A molécula 1 de adesão celular vascular (VCAM-1) e molécula 1 de adesão intercelular (ICAM-1) mediam a

adesão e transmigração de células inflamatórias para a parede vascular.⁴³ A emissão dessas moléculas no plasma pode ser vista como marcador de aterogênese e de disfunção endotelial. Em pacientes com dor torácica, tipo angina, porém livres de lesões limitantes do fluxo, níveis elevados desse marcador podem indicar disfunção endotelial.⁴⁴

Os principais testes funcionais de vasodilatação dependente do endotélio são a pletismografia de oclusão venosa⁴⁵ e o ultra-som da artéria braquial.^{37,46} Existe uma alta correlação entre função endotelial avaliada pela pletismografia e pelo ultra-som da artéria braquial.⁴⁷ A tomografia com emissão de pósitrons parece ser um método excelente, mas limitado devido ao seu alto custo.²⁷ O ultra-som permite a avaliação da vasodilatação mediada pelo fluxo (FMD) da artéria braquial e a vasodilatação independente do endotélio (NFMD).³⁷

Álcool e função endotelial: marco teórico

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o uso regular de álcool, em quantidade pequena a moderada, parece conferir proteção contra eventos arteriais coronarianos e acidentes cerebrais isquêmicos. Já um consumo mais intenso aumenta o risco de doença arterial coronariana e o risco de acidente vascular cerebral isquêmico e hemorrágico.

Como uma grande parte da população é usuária de álcool, vários estudos têm sido realizados sobre o seu efeito na função endotelial.¹ Embora a maioria dos autores⁴⁸⁻⁵¹ tenham demonstrado o efeito vasodilatador provocado pelo álcool, não há consenso quanto ao seu efeito na FMD.¹ Um esboço do marco teórico deste projeto está representado na Figura 1.

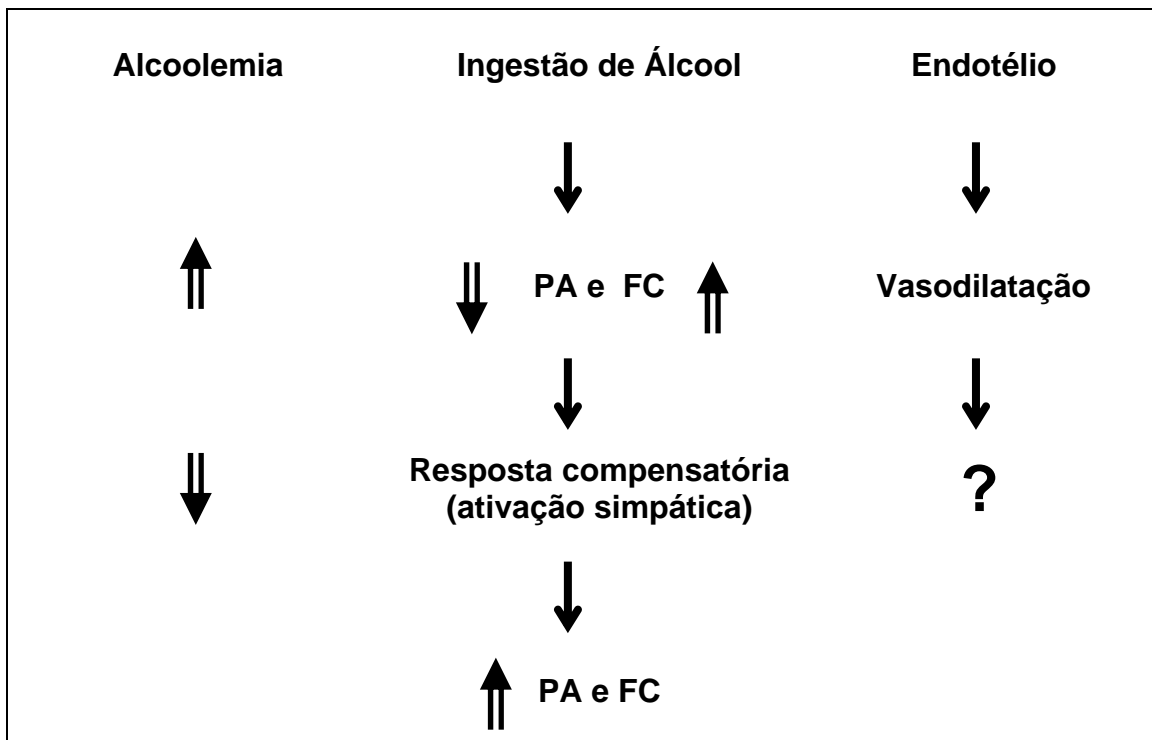


Figura 1. O aumento da alcoolemia leva a uma redução da pressão arterial (PA), aumento da frequência cardíaca (FC) e, como resposta do endotélio, vasodilatação. Com a queda da alcoolemia, ocorre uma resposta compensatória, resultante da ativação simpática. Esta resposta leva a um aumento da PA enquanto a FC permanece elevada. No entanto, não há nenhuma informação na literatura sobre qual seria a resposta do endotélio neste momento.

Os estudos em seres humanos, até a presente data, têm sido limitados em número e delineamento e não estabeleceram de maneira convincente se os efeitos do álcool sobre a função endotelial são os responsáveis pelos efeitos complexos da substância nos eventos cardiovasculares. Novas pesquisas são necessárias para avaliar cuidadosamente o efeito do álcool sobre a função endotelial e contribuir para o esclarecimento dos riscos e benefícios que podem advir do consumo.

Vale destacar que a avaliação da função endotelial é muito suscetível a fatores de confusão, como a presença de doenças, uso de medicação, sexo,

idade, ciclo menstrual, estado pós-prandial e temperatura^{27,52,53} e ritmo circadiano.⁵⁴

Este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito agudo de uma dose de álcool sobre a função endotelial e variáveis hemodinâmicas numa amostra de homens jovens, sem história de doença cardiovascular. Pretende-se estudar as alterações provocadas pelo álcool 4 horas após a ingestão e em um período posterior, após 12 horas. Além disso, também verificamos o efeito residual da ingestão aguda de álcool sobre o sistema cardiovascular no período da manhã, quando há uma maior incidência de eventos.

Referências

1. Puddey IB, Zilkens RR, Croft KD, Beilin LJ. Alcohol and endothelial function: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2001;28:1020-1024.
2. Di Castelnuovo A, Rotondo S, Iacoviello L, Donati MB, De Gaetano G. Meta-analysis of wine and beer consumption in relation to vascular risk. *Circulation*. 2002;105:2836-2844.
3. Friedman LA, Kimball AW. Coronary heart disease mortality and alcohol consumption in Framingham. *Am J Epidemiol*. 1986;124:481-489.
4. Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD. Alcohol and mortality. *Ann Intern Med*. 1992;117:646-654.
5. Renaud SC, Gueguen R, Schenker J, d'Houtaud A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. *Epidemiology*. 1998;9:184-188.
6. Klatsky AL. Alcohol and cardiovascular diseases: a historical overview. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;957:7-15.
7. Artaud-Wild SM, Connor SL, Sexton G, Connor WE. Differences in coronary mortality can be explained by differences in cholesterol and saturated fat intakes in 40 countries but not in France and Finland. A paradox. *Circulation*. 1993;88:2771-2779.
8. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet*. 1999;353:1547-1557.
9. Belleville J. The French paradox: possible involvement of ethanol in the protective effect against cardiovascular diseases. *Nutrition*. 2002;18:173-177.
10. Kuulasmaa K, Tunstall-Pedoe H, Dobson A, Fortmann S, Sans S, Tolonen H, Evans A, Ferrario M, Tuomilehto J. Estimation of contribution of changes in classic risk factors to trends in coronary-event rates across the WHO MONICA Project populations. *Lancet*. 2000;355:675-687.
11. Tunstall-Pedoe H, Vanuzzo D, Hobbs M, Mahonen M, Cepaitis Z, Kuulasmaa K, Keil U. Estimation of contribution of changes in coronary care to improving survival, event rates, and coronary heart disease mortality across the WHO MONICA Project populations. *Lancet*. 2000;355:688-700.
12. Marmot MG, Rose G, Shipley MJ, Thomas BJ. Alcohol and mortality: a U-shaped curve. *Lancet*. 1981;317:580-583.

13. Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD. Red wine, white wine, liquor, beer, and risk for coronary artery disease hospitalization. *Am J Cardiol.* 1997;80:416-420.
14. Goldberg IJ, Mosca L, Piano MR, Fisher EA. Wine and your heart. *Circulation.* 2001;103:472-475.
15. Senault C, Betoulle D, Luc G, Hauw P, Rigaud D, Fumeron F. Beneficial effects of a moderate consumption of red wine on cellular cholesterol efflux in young men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2000;10:63-69.
16. Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Glynn RJ, Hennekens CH. Association of moderate alcohol consumption and plasma concentration of endogenous tissue-type plasminogen activator. *JAMA.* 1994;272:929-933.
17. Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S, Folts JD. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 1999;100:1050-1055.
18. Stoclet JC. Bonum vinum laetificat cor hominum. *Med Sci Monit.* 2001;7:842-847.
19. Kiechl S, Willeit J, Rungger G, Egger G, Oberhollenzer F, Bonora E. Alcohol consumption and atherosclerosis: what is the relation? Prospective results from the Bruneck Study. *Stroke.* 1998;29:900-907.
20. Klatsky AL, Friedman GD, Siegelaub AB, Gerard MJ. Alcohol consumption and blood pressure Kaiser-Permanente Multiphasic Health Examination data. *N Engl J Med.* 1977;296:1194-1200.
21. Ascherio A, Hennekens C, Willett WC, Sacks F, Rosner B, Manson J, Witteman J, Stampfer MJ. Prospective study of nutritional factors, blood pressure, and hypertension among US women. *Hypertension.* 1996;27:1065-1072.
22. Rakic V, Puddey IB, Burke V, Dimmitt SB, Beilin LJ. Influence of pattern of alcohol intake on blood pressure in regular drinkers: a controlled trial. *J Hypertens.* 1998;16:165-174.
23. Aguilera MT, de la Sierra A, Coca A, Estruch R, Fernandez-Sola J, Urbano-Marquez A. Effect of alcohol abstinence on blood pressure: assessment by 24-hour ambulatory blood pressure monitoring. *Hypertension.* 1999;33:653-657.
24. Xin X, He J, Frontini MG, Ogden LG, Motala OI, Whelton PK. Effects of alcohol reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension.* 2001;38:1112-1117.
25. Abe H, Kawano Y, Kojima S, Ashida T, Kuramochi M, Matsuoka H, Omae T. Biphasic effects of repeated alcohol intake on 24-hour blood pressure in hypertensive patients. *Circulation.* 1994;89:2626-2633.

26. Rosito GA, Fuchs FD, Duncan BB. Dose-dependent biphasic effect of ethanol on 24-h blood pressure in normotensive subjects. *Am J Hypertens*. 1999;12:236-240.
27. Vapaatalo H, Mervaala E. Clinically important factors influencing endothelial function. *Med Sci Monit*. 2001;7:1075-1085.
28. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288:373-376.
29. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci*. 1987;84:9265-9269.
30. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987;327:524-526.
31. Luscher TF, Boulanger CM, Dohi Y, Yang ZH. Endothelium-derived contracting factors. *Hypertension*. 1992;19:117-130.
32. Quyyumi AA, Dakak N, Mulcahy D, Andrews NP, Husain S, Panza JA. Nitric oxide activity in the atherosclerotic human coronary circulation. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29:308-317.
33. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332:411-415.
34. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med*. 1995;333:356-363.
35. Haak T, Marz W, Jungmann E, Hausser S, Siekmeier R, Gross W, Usadel KH. Elevated endothelin levels in patients with hyperlipoproteinemia. *Clin Invest*. 1994;72:580-584.
36. Seligman BG, Biolo A, Polanczyk CA, Gross JL, Clausell N. Increased plasma levels of endothelin 1 and von Willebrand factor in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care*. 2000;23:1395-1400.
37. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:257-265.
38. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*. 2000;101:1899-1906.

39. Caramori PR, Zago AJ. Endothelial dysfunction and coronary artery disease. *Arq Bras Cardiol.* 2000;75:163-182.
40. Vallance P, Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart.* 2001;85:342-350.
41. Raitakari OT, Celermajer DS. Testing for endothelial dysfunction. *Ann Med.* 2000;32:293-304.
42. Fries JW, Williams AJ, Atkins RC, Newman W, Lipscomb MF, Collins T. Expression of VCAM-1 and E-selectin in an in vivo model of endothelial activation. *Am J Pathol.* 1993;143:725-737.
43. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet.* 1998;351:88-92.
44. Clausell N, Prado KF, Ribeiro JP. Increased plasma levels of soluble vascular cellular adhesion molecule-1 in patients with chest pain and angiographically normal coronary arteries. *Int J Cardiol.* 1999;68:275-280.
45. Wilkinson IB, Webb DJ. Venous occlusion plethysmography in cardiovascular research: methodology and clinical applications. *Br J Clin Pharmacol.* 2001;52:631-646.
46. Hijmering ML, Stroes ES, Olijhoek J, Hutten BA, Blankestijn PJ, Rabelink TJ. Sympathetic activation markedly reduces endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:683-688.
47. Irace C, Ceravolo R, Notarangelo L, Crescenzo A, Ventura G, Tamburrini O, Perticone F, Gnasso A. Comparison of endothelial function evaluated by strain gauge plethysmography and brachial artery ultrasound. *Atherosclerosis.* 2001;158:53-59.
48. Agewall S, Wright S, Doughty RN, Whalley GA, Duxbury M, Sharpe N. Does a glass of red wine improve endothelial function? *Eur Heart J.* 2000;21:74-78.
49. Hashimoto M, Kim S, Eto M, Iijima K, Ako J, Yoshizumi M, Akishita M, Kondo K, Itakura H, Hosoda K, Toba K, Ouchi Y. Effect of acute intake of red wine on flow-mediated vasodilatation of the brachial artery. *Am J Cardiol.* 2001;88:1457-1460.
50. Vlachopoulos C, Tsekoura D, Tsiamis E, Panagiotakos D, Stefanadis C. Effect of alcohol on endothelial function in healthy subjects. *Vasc Med.* 2003;8:263-265.
51. Tawakol A, Omland T, Creager MA. Direct effect of ethanol on human vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286:2468-2473.

52. Gaenger H, Sturm W, Kirchmair R, Neumayr G, Ritsch A, Patsch J. Circadian variation of endothelium-dependent vasodilatation of the brachial artery as a confounding factor in the evaluation of endothelial function. *Atherosclerosis*. 2000;149:227-228.
53. Walters J, Skene D, Hampton SM, Ferns GA. Biological rhythms, endothelial health and cardiovascular disease. *Med Sci Monit*. 2003 ;9:RA1-RA8.
54. Otto ME, Svatikova A, Barretto RB, Santos S, Hoffmann M, Khandheria B, Somers V. Early morning attenuation of endothelial function in healthy humans. *Circulation*. 2004;109:2507-2510.

2. ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS

EFEITO AGUDO DA INGESTÃO DE ÁLCOOL SOBRE A FUNÇÃO ENDOTELIAL EM HOMENS JOVENS

^{1,2}Paulo F.D. Bau, ²Alexandre A. Naujorks, ³Claiton H.D. Bau e ^{4,5}Guido A. Rosito

¹Departamento de Clínica Médica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, RS.

²ICARDIO, Santa Maria, RS.

³Departamento de Genética, Instituto de Biociências e ⁴Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

⁵Departamento de Saúde Coletiva, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

Palavras-chave: endotélio, etanol, doença cardiovascular, prevenção

Endereço para correspondência:

Dr. Paulo F. D. Bau
Rua Appel, 655/903
97015-030
Santa Maria, RS
Brasil
Tel: (55) 222-1929
Fax: (55) 223-7300
E-mail: paulobau@infoway.com.br

Resumo

A disfunção endotelial, avaliada através da vasodilatação mediada pelo fluxo (FMD) e não mediada pelo fluxo (NFMD), está associada à ocorrência de eventos cardiovasculares. Enquanto o consumo moderado de bebidas alcoólicas está associado com baixo risco para doenças cardiovasculares, a ingestão de doses mais altas predispõe a arritmias cardíacas, acidente vascular encefálico e outros eventos, que têm maior incidência no período da manhã. A investigação dos efeitos do álcool sobre a função endotelial pode trazer um melhor entendimento para esta associação. O presente estudo tem por objetivo avaliar, em uma amostra homogênea, o efeito de uma dose relativamente elevada de álcool sobre parâmetros vasculares e de função endotelial. O diâmetro da artéria braquial (DAB), a FMD e a NFMD foram mensurados em três horários (17h, 22h e 7h), em 100 indivíduos do sexo masculino, hígidos, com idades entre 18 e 25 anos (média de 20,74 anos), por ecodoppler da artéria braquial (segundo o protocolo da International Brachial Artery Reactivity Task Force). Os indivíduos foram randomizados para ingerir uma bebida contendo álcool ou uma bebida similar não alcoólica, às 18h. O grupo que consumiu álcool apresentou um aumento no DAB entre as 17h (4,03 mm) e 22h (4,41 mm). Ocorreu uma redução da FMD para 2,43% e da NFMD para 6,30% às 22h, quando comparados com os valores anteriores à ingestão (FMD = 4,22% e NFMD = 13,7%). Foi constatado um efeito bifásico para a pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), com redução às 22h (PAS = 105,18 mmHg; PAD = 60,14 mmHg), seguida de elevação às 7h (PAS = 117,50 mmHg; PAD = 70,98 mmHg). Conclui-se que, após um período inicial de vasodilatação, a ingestão aguda de álcool não afeta a função endotelial, comparado ao placebo.

Introdução

Há uma forte correlação inversa entre consumo moderado de álcool e mortalidade coronariana.¹⁻⁴ No entanto, doses altas de álcool aumentam o risco de mortalidade por várias causas, incluindo cirrose e câncer.⁵⁻⁷ Isso resulta em uma curva tipo J entre mortalidade e consumo de álcool.⁸ Especula-se que um dos mecanismos protetores para doenças cardiovasculares em consumidores de álcool seja a melhora da função endotelial.⁹

A disfunção endotelial precede a formação da placa aterosclerótica e tem valor preditivo para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.^{10,11} O método mais utilizado e padronizado para estudar a função endotelial de maneira não invasiva é a avaliação da vasodilatação mediada pelo fluxo (FMD) da artéria braquial, utilizando-se um aparelho de ultra-som^{12,13} e a vasodilatação independente do endotélio (NFMD).¹² Vários estudos têm demonstrado respostas alteradas da função endotelial associadas a uma série de fatores de risco para doenças cardiovasculares.¹⁴⁻¹⁶

Embora um estudo mostre que o abuso de álcool prejudica a FMD¹⁷, o mesmo não parece ocorrer com os indivíduos que apresentam um consumo moderado.¹⁸ Como uma grande parte da população é usuária de álcool, vários estudos têm sido realizados sobre o seu efeito na função endotelial.¹⁹ Está claro que a principal consequência vascular da ingestão aguda do álcool é a vasodilatação;^{9,20-22} no entanto, não há consenso quanto à sua ação na FMD. Enquanto um estudo²¹ observou uma redução da FMD após o uso agudo de álcool, outros verificaram uma função endotelial preservada.^{20,23} Outra observação sugeriu que o consumo moderado melhoraria a FMD em indivíduos com doença coronariana.²⁴

Uma limitação dos estudos pioneiros do efeito do álcool sobre a função endotelial é a falta de controle dos fatores de confusão. O diâmetro arterial e as medidas de função endotelial são extremamente sensíveis a variações quanto à presença de doenças, uso de medicação, sexo, idade, ciclo menstrual, estado pós-prandial e temperatura¹⁴⁻¹⁶ e ritmo circadiano.²⁵ Outros elementos presentes nas bebidas alcoólicas também podem influenciar os parâmetros vasculares. Alguns estudos verificaram um aumento da FMD como consequência dos componentes não alcoólicos do vinho^{20,21} e suco de uva.²⁶ Por fim, a resposta hemodinâmica parece ser proporcional à dose de álcool ingerida. Em uma avaliação do efeito de diferentes doses de álcool sobre a pressão arterial em 24h, foi verificado um efeito bifásico dose-dependente,^{27,28} mais pronunciado com uma dose mais elevada.²⁸

Este trabalho tem por objetivo descrever, pela primeira vez, o efeito agudo de uma dose relativamente elevada de álcool sobre a função endotelial, em diferentes horários, numa amostra de homens jovens, sem história de doença cardiovascular. Assim, pode-se estudar as alterações provocadas pelo álcool enquanto a alcoolemia ainda está elevada (até 5 horas) e em um período posterior (após 12 horas). Além disso, também é possível avaliar o efeito residual de uma ingestão aguda de álcool sobre o sistema cardiovascular no período da manhã, quando há uma maior incidência de eventos.

Métodos

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Todos os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido para a participação. A presente investigação é

parte de uma série de experimentos voltados para o efeito do álcool sobre o sistema cardiovascular. A amostra foi constituída de 100 homens jovens (18-25 anos, média: $20,74 \pm 2,36$), hígidos, sem história de doença cardiovascular ou uso de medicações, não fumantes, recrutados da população geral. O índice de massa corporal médio foi de $22,93 \text{ kg/m}^2 \pm 2,40$ (variação: 18,50 a 29,30).

Foi solicitado a todos os indivíduos que se abstivessem do uso de álcool ou outras substâncias psicoativas 48 horas antes do estudo. As avaliações foram realizadas em um laboratório de ecocardiografia com temperatura controlada, livre de ruídos, na posição supina, com monitorização eletrocardiográfica.

Ao chegarem ao laboratório, os voluntários foram avaliados por anamnese e exame físico (incluindo peso, altura e pressão arterial). Além disso, foram instalados os aparelhos de Holter e MAPA (Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial), no braço esquerdo, para outras investigações. Em seguida, os indivíduos repousaram por 10 minutos antes do início da primeira avaliação (17h).

As medidas de diâmetro da artéria braquial (DAB) e da velocidade de fluxo foram obtidas de acordo com o preconizado pelas diretrizes para avaliação ultrassonográfica da FMD.¹² Foi utilizado um aparelho de ultra-som com transdutor linear de 10 MHz (Aspen - Acuson Computed Sonography). Para cada voluntário, foram obtidas imagens otimizadas da artéria braquial acima da fossa antecubital do braço direito. Esse local foi marcado e todas as imagens subseqüentes foram obtidas na mesma posição.

Inicialmente, foram obtidas imagens basais bidimensionais longitudinais. A velocidade de fluxo sanguíneo pelo Doppler pulsado foi obtida usando um sinal em ângulo de 60 graus com o vaso, com um volume de amostra de 1,5 mm no

centro da artéria. Após a gravação das medidas basais de diâmetro e velocidade de fluxo, um esfigmomanômetro foi inflado na porção proximal do antebraço para induzir hiperemia, com pressão oclusiva de 250 mmHg por 5 minutos. Durante o procedimento, a posição do transdutor foi cuidadosamente mantida. O manguito foi rapidamente desinflado. Os sinais de Doppler pulsado foram gravados 15 segundos após o esvaziamento. Imagens bidimensionais longitudinais da artéria braquial foram obtidas 60 a 120 segundos após o esvaziamento.

Após um período de 10 minutos em repouso (para permitir o retorno do diâmetro arterial à medida basal), imagens bidimensionais longitudinais da artéria braquial foram obtidas antes e 4 minutos após a administração sublingual de 400 µg de nitroglicerina spray. Todas as imagens foram gravadas em VHS para análise posterior.

A definição dos grupos de indivíduos que receberam ou não receberam álcool foi realizada através de um gerador de números aleatórios. A cada dia, dois indivíduos foram avaliados, que poderiam ou não ter ingerido álcool. Os avaliadores e os voluntários estavam cegos quanto à bebida recebida, que seguiu uma composição sem ou com álcool em quantidade identificada por Rosito e cols.²⁸ como provocadora de um efeito mais evidente. Esta consistia em 2.6 g de ácido cítrico, 35.6 g de glicose e em 50% da amostra randomizada, 60 g de álcool etílico. Por fim, água destilada até completar 500 ml. A bebida foi ingerida entre 17h 30min e 18h.

Os mesmos passos foram repetidos às 22h e às 7h da manhã seguinte. No período entre as 17h e 22h, os voluntários permaneceram no laboratório em repouso, sendo que às 20h foi servido jantar padronizado, habitual para os

costumes locais. Após a avaliação das 22h, os voluntários receberam um lanche e foram orientados para dormir até às 6h 30min. Foram acordados pela equipe de pesquisa e em jejum, levados até a sala de ecocardiografia para a avaliação das 7h. Posteriormente, eles receberam um café da manhã e foram liberados.

Resumidamente, o DAB foi medido às 17h, às 22h e às 7h, no pico da onda R do eletrocardiograma, a partir de uma média de 3 medidas em 3 ciclos cardíacos, conforme padronizado¹² (da camada mio-intimal anterior até a camada mio-intimal posterior). A função endotelial foi avaliada por medidas ultrasonográficas na artéria braquial, sendo a FMD induzida pela hiperemia e NFMD pela nitroglicerina.

Todos os dados são apresentados como média \pm EP. A comparação entre os grupos que ingeriram álcool e o controle, nos horários em que o efeito bifásico do álcool seria presumível (22h e 7h), foi realizada através do teste t de Student. A variação da pressão arterial, da frequência cardíaca, do DAB, da FMD e da NFMD nos 3 horários foi avaliada no grupo que ingeriu álcool através da ANOVA com repetições múltiplas. As análises post-hoc entre os horários foram realizadas com a correção de Bonferroni para as repetições múltiplas implementada no programa SPSS.

Resultados

DAB

Às 22h, o grupo que ingeriu álcool apresentou um aumento do DAB (Figura 1). No grupo controle, a média do DAB foi de 3,94 mm (17h), 3,99 mm (22h) e 3,79 mm (7h). Já no grupo que ingeriu álcool, os respectivos valores foram de 4,03 mm, 4,41 mm e 3,81 mm. As diferenças foram altamente

significativas, tanto para o efeito do momento da avaliação, como para a ingestão ou não de álcool.

FMD

O FMD foi menor às 22h no grupo que ingeriu álcool (Figura 2). Neste grupo, os valores foram de 4,22%, 2.43% e 6.28% às 17h, 22h e 7h, respectivamente. Já no grupo controle, os percentuais de aumento no diâmetro foram de 5,05% (17h), 5,09% (22h) e 5,27% (7h).

NFMD

Após a administração de nitroglicerina sublingual em spray, foi avaliado o percentual de aumento no DAB. Às 22h, o grupo do álcool apresentou uma menor NFMD (Figura 3). Os percentuais neste grupo foram de 13.70%, 6.30% e 19.27% às 17h, 22h e 7h, respectivamente. Já no grupo controle, esses valores foram de 15,45%, 15,52% e 18,51%.

PAS e PAD

O álcool teve um efeito bifásico, com redução da pressão às 22h e subsequente elevação às 7h (Tabela 1). Os valores médios da PAS foram de 116,26 mmHg (17h), 113,59 mmHg (22h) e 111,91 mmHg (7h) no grupo controle e de 117,78 mmHg, 105,18 mmHg e 117,50 mmHg, no grupo que recebeu álcool. As diferenças quanto à PAS foram significativas tanto para o momento da avaliação como também no efeito da ingestão de álcool. Na comparação entre os grupos, verificaram-se diferenças, tanto no horário das 22h, quanto no das 7h.

O mesmo efeito bifásico foi observado para a PAD. Às 17h, 22h e 7h, os valores corresponderam a 70,91 mmHg, 65,76 mmHg e 67,54 mmHg, respectivamente, no grupo controle e 70,78 mmHg, 60,14 mmHg e 70,98 mmHg, no grupo que recebeu álcool. As diferenças quanto à PAD foram significativas tanto para o momento da avaliação como também no efeito da ingestão de álcool. Os grupos diferiram tanto no horário das 22h quanto no das 7h.

FC

No grupo controle, a FC média foi de 72.17 bpm, 68.76 bpm e 61.98 bpm, respectivamente, às 17h, 22h e 7h. Já no grupo que ingeriu álcool, os valores foram de 72.43 bpm, 71.84 bpm e 67.08 bpm. Verificou-se uma diferença significativa entre os grupos às 7h da manhã, com uma menor queda matinal da FC entre os que ingeriram álcool (Tabela 1).

Outros achados

A dose de álcool administrada provocou a ocorrência de sinais de intoxicação leve em 8 indivíduos e sintomas mais importantes em 7 (3 indivíduos referiram tontura intensa e 4 apresentaram vômito).

Discussão

Este trabalho demonstra que, em homens jovens e saudáveis, uma dose relativamente elevada de álcool causa uma vasodilatação significativa 4 horas após a ingestão aguda. Simultaneamente, constataram-se valores reduzidos da FMD e da NFMD devido à intensa vasodilatação. Na avaliação seguinte, 13 horas após a ingestão, o DAB, a FMD e a NFMD recuperaram-se, mostrando-se

iguais aos do grupo controle. Isto demonstra que a ingestão aguda de álcool, nesta dose, não provoca uma alteração prolongada na função endotelial e vascular.

O efeito agudo do álcool sobre o DAB foi avaliado em vários estudos. A maioria deles observou uma vasodilatação.^{9,20-22} Somente uma investigação²³ não verificou diferenças entre um grupo que ingeriu álcool e o grupo que não ingeriu, provavelmente em função da baixa dose administrada (3ml de vinho/kg).

A diminuição na FMD observada em nosso estudo é coerente com os resultados de Hashimoto e cols.²¹ que verificaram uma redução na FMD após o consumo de vodca. É provável que esses resultados sejam devidos à vasodilatação registrada após a ingestão de uma dose significativa de álcool. Duas investigações^{9,20} salientaram a possibilidade de que o aumento no diâmetro arterial provocado pelo álcool limite uma vasodilatação adicional a ser obtida após hiperemia ou nitroglicerina. De fato, a FMD é inversamente correlacionada com o diâmetro arterial basal.^{21,29}

Alguns estudos não evidenciaram alteração na FMD após a ingestão aguda de álcool.^{9,20,23} O fato de que todos eles administraram doses inferiores às do presente trabalho pode explicar a diferença quanto aos resultados. Além disso, esses estudos incluíram amostras relativamente pequenas e heterogêneas quanto ao sexo e outras variáveis, diminuindo o poder estatístico.

Nós também observamos uma redução significativa na NFMD, 4 horas após a ingestão de álcool, de maneira similar ao observado por Vlachopoulos e cols.⁹ É provável que, assim como na FMD, estando o diâmetro arterial bastante dilatado, sobraria pouca margem para uma vasodilatação adicional.

Whelan e cols.³⁰ verificaram um aumento da FMD 6 horas após a ingestão de vinho. Este resultado não observado nas demais pesquisas pode se dever aos polifenóis e outras substâncias presentes no vinho, assim como ao fato do estudo ter sido realizado em portadores de doença das artérias coronárias.

A PAS e a PAD apresentaram um efeito bifásico em consequência da ingestão de álcool, confirmando os achados de Rosito e cols.²⁸ A pressão arterial reduziu-se significativamente às 22h e mostrou-se maior do que no grupo controle, às 7h. Esse efeito poderia ser devido a um aumento da atividade simpática provocado pelo álcool³¹ que normalmente já é mais elevada pela manhã.³²⁻³⁴ Esse aumento da atividade simpática pode ter ocasionado um aumento da FC e conseqüentemente, do débito cardíaco e da pressão arterial, já que o diâmetro arterial foi semelhante nos dois grupos às 7h da manhã.

A seleção de amostras mais homogêneas é importante para o entendimento do efeito do álcool sobre a função vascular. O presente trabalho selecionou homens jovens e saudáveis em uma amostra maior que outros estudos. Em uma faixa etária em que a elasticidade das artérias está preservada (18-25 anos), é possível observar um efeito significativo do álcool tanto sobre o diâmetro como também sobre as medidas de função vascular. No entanto, não é possível afirmar que a ingestão aguda da mesma dose de álcool em uma idade mais avançada ou em portadores de patologia cardiovascular provocaria as alterações aqui relatadas.

Podemos enumerar algumas limitações nesta investigação. O delineamento do estudo não permite definir se as alterações provocadas pela dose de álcool se devem a um efeito mediado exclusivamente pelo endotélio ou sofreram influência do sistema nervoso central. Igualmente importantes são as

variáveis sexo e etnia. Os resultados observados são válidos somente para homens brasileiros, oriundos de uma região com maioria de descendência européia.

Até onde sabemos, este estudo é o primeiro a descrever a função vascular sob o efeito agudo do álcool em diferentes horários. O tamanho e a homogeneidade da amostra ajudaram a demonstrar que o uso de álcool em homens jovens não alcoolistas e sem doença cardiovascular causa uma vasodilatação transitória. No entanto, álcool e placebo não tiveram efeitos prolongados relevantes no diâmetro vascular e na função endotelial apesar de, após 12 horas da ingestão de 60 g de álcool, ter havido um aumento na PAS, na PAD e na FC.

Agradecimentos

Esta pesquisa foi financiada pelo Instituto Cardiovascular (ICARDIO).

Referências

1. Albert CM, Manson JE, Cook NR, Ajani UA, Gaziano JM, Hennekens CH. Moderate alcohol consumption and the risk of sudden cardiac death among US male physicians. *Circulation*. 1999;100:944-950.
2. Rimm EB, Williams P, Fosher K, Criqui M, Stampfer MJ. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. *BMJ*. 1999;319:1523-1528.
3. Belleville J. The French paradox: possible involvement of ethanol in the protective effect against cardiovascular diseases. *Nutrition*. 2002;18:173-177.
4. Gronbaek M. Alcohol, type of alcohol, and all-cause and coronary heart disease mortality. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;957:16-20.
5. Marmot MG, Rose G, Shipley MJ, Thomas BJ. Alcohol and mortality: a U-shaped curve. *Lancet*. 1981;317:580-583.
6. Friedman LA, Kimball AW. Coronary heart disease mortality and alcohol consumption in Framingham. *Am J Epidemiol*. 1986;124:481-489.
7. Renaud SC, Gueguen R, Schenker J, d'Houtaud A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. *Epidemiology*. 1998;9:184-188.
8. Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD. Alcohol and mortality. *Ann Intern Med*. 1992;117:646-654.
9. Vlachopoulos C, Tsekoura D, Tsiamis E, Panagiotakos D, Stefanadis C. Effect of alcohol on endothelial function in healthy subjects. *Vasc Med*. 2003;8:263-265.
10. Neunteufl T, Priglinger U, Heher S, Zehetgruber M, Soregi G, Lehr S, Huber K, Maurer G, Weidinger F, Kostner K. Effects of vitamin E on chronic and acute endothelial dysfunction in smokers. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35:277-283.
11. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*. 2000;101:1899-1906.
12. Corretti, M, Anderson, T, Benjamin, E, Celermajer, D, Charbonneau, F, Creager, M, Deanfield, J, Drexler, H, Gerhard-Herman, M, Herrington, D, Vallance, P, Vita, J, & Vogel, R: Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *Journal American College of Cardiology* 2002;39:257-265.
13. Hijmering ML, Stroes ES, Olijhoek J, Hutten BA, Blankestijn PJ, Rabelink TJ. Sympathetic activation markedly reduces endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:683-688.

14. Gaenzer H, Sturm W, Kirchmair R, Neumayr G, Ritsch A, Patsch J. Circadian variation of endothelium-dependent vasodilatation of the brachial artery as a confounding factor in the evaluation of endothelial function. *Atherosclerosis*. 2000;149:227-228.
15. Vapaatalo H, Mervaala E. Clinically important factors influencing endothelial function. *Med Sci Monit*. 2001;7:1075-1085.
16. Walters J, Skene D, Hampton SM, Ferns GA. Biological rhythms, endothelial health and cardiovascular disease. *Med Sci Monit*. 2003 ;9:RA1-RA8.
17. Maiorano G, Bartolomucci F, Contursi V, Minenna FS, Di Mise R, Palasciano A, Allegrini B, Amoroso M, Kozakova M. Noninvasive detection of vascular dysfunction in alcoholic patients. *Am J Hypertens*. 1999;12:137-144.
18. Zilkens RR, Rich L, Burke V, Beilin LJ, Watts GF, Puddey IB. Effects of alcohol intake on endothelial function in men: a randomized controlled trial. *J Hypertens*. 2003;21:97-103.
19. Puddey IB, Zilkens RR, Croft KD, Beilin LJ. Alcohol and endothelial function: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2001;28:1020-1024.
20. Agewall S, Wright S, Doughty RN, Whalley GA, Duxbury M, Sharpe N. Does a glass of red wine improve endothelial function? *Eur Heart J*. 2000;21:74-78.
21. Hashimoto M, Kim S, Eto M, Iijima K, Ako J, Yoshizumi M, Akishita M, Kondo K, Itakura H, Hosoda K, Toba K, Ouchi Y. Effect of acute intake of red wine on flow-mediated vasodilatation of the brachial artery. *Am J Cardiol*. 2001;88:1457-1460.
22. Tawakol A, Omland T, Creager MA. Direct effect of ethanol on human vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286:2468-2473.
23. Djousse L, Ellison RC, McLennan CE, Cupples LA, Lipinska I, Tofler GH, Gokce N, Vita JA. Acute effects of a high-fat meal with and without red wine on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol*. 1999;84:660-664.
24. Teragawa H, Fukuda Y, Matsuda K, Higashi Y, Yamagata T, Matsuura H, Chayama K. Effect of alcohol consumption on endothelial function in men with coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2002;165:145-152.
25. Otto ME, Svatikova A, Barretto RB, Santos S, Hoffmann M, Khandheria B, Somers V. Early morning attenuation of endothelial function in healthy humans. *Circulation*. 2004;109:2507-2510.
26. Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S, Folts JD. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1999;100:1050-1055.

27. Abe H, Kawano Y, Kojima S, Ashida T, Kuramochi M, Matsuoka H, Omae T. Biphasic effects of repeated alcohol intake on 24-hour blood pressure in hypertensive patients. *Circulation*. 1994;89:2626-2633.
28. Rosito GA, Fuchs FD, Duncan BB. Dose-dependent biphasic effect of ethanol on 24-h blood pressure in normotensive subjects. *Am J Hypertens*. 1999;12:236-240.
29. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340:1111-1115.
30. Whelan AP, Sutherland WH, McCormick MP, Yeoman DJ, de Jong SA, Williams MJ. Effects of white and red wine on endothelial function in subjects with coronary artery disease. *Intern Med J*. 2004 ;34:224-228.
31. Randin D, Vollenweider P, Tappy L, Jequier E, Nicod P, Scherrer U. Suppression of alcohol-induced hypertension by dexamethasone. *N Engl J Med*. 1995;332:1733-1737.
32. Panza JA, Epstein SE, Quyyumi AA. Circadian variation in vascular tone and its relation to alpha-sympathetic vasoconstrictor activity. *N Engl J Med*. 1991;325:986-990
33. Kool MJ, Struijker-Boudier HA, Wijnen JA, Hoeks AP, van Bortel LM. Effects of diurnal variability and exercise training on properties of large arteries. *J Hypertens*. 1992;10:S49-S52.
34. Ringqvist A, Caidahl K, Petersson AS, Wennmalm A. Diurnal variation of flow-mediated vasodilation in healthy premenopausal women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279:2720-2725.

TABELA 1. Efeito do álcool sobre variações cardiovasculares em 3 avaliações

	17 horas	22 horas	7 horas	tempo	P grupo	
	Média ± EP	Média ± EP	Média ± EP		22h	7h
PAS, mm Hg						
Álcool	117,78 ± 1,49	105,18 ± 1,44	117,50 ± 1,39	<0,001	<0,001	0,004
Controle	116,26 ± 1,28	113,59 ± 1,28	111,91 ± 1,29			
PAD, mm Hg						
Álcool	70,78 ± 1,22	60,14 ± 1,32	70,98 ± 1,19	<0,001	0,002	0,05
Controle	70,91 ± 1,33	65,76 ± 1,21	67,54 ± 1,25			
FC, bpm						
Álcool	72,43 ± 1,59	71,84 ± 1,44	67,08 ± 1,48	<0,001	0,13	0,008
Controle	72,17 ± 1,54	68,76 ± 1,44	61,98 ± 1,15			

As comparações para os 3 horários foram realizadas somente para o grupo que ingeriu álcool. As comparações entre os grupos foram realizadas nos horários em que o efeito bifásico do álcool seria presumível (22h e 7h).

Comparações post hoc (com ajustamento de Bonferroni) para o horário:
 PAS (Pressão Arterial Sistólica): 17-22, P<0,001; 17-7, P=1,00; 22-7, P<0,001
 PAD (Pressão Arterial Diastólica): 17-22, P<0,001; 17-7, P=1,00; 22-7 P<0,001
 FC (Frequência Cardíaca): 17-22, P=1,00; 17-7, P<0,001; 22-7, P=0,003

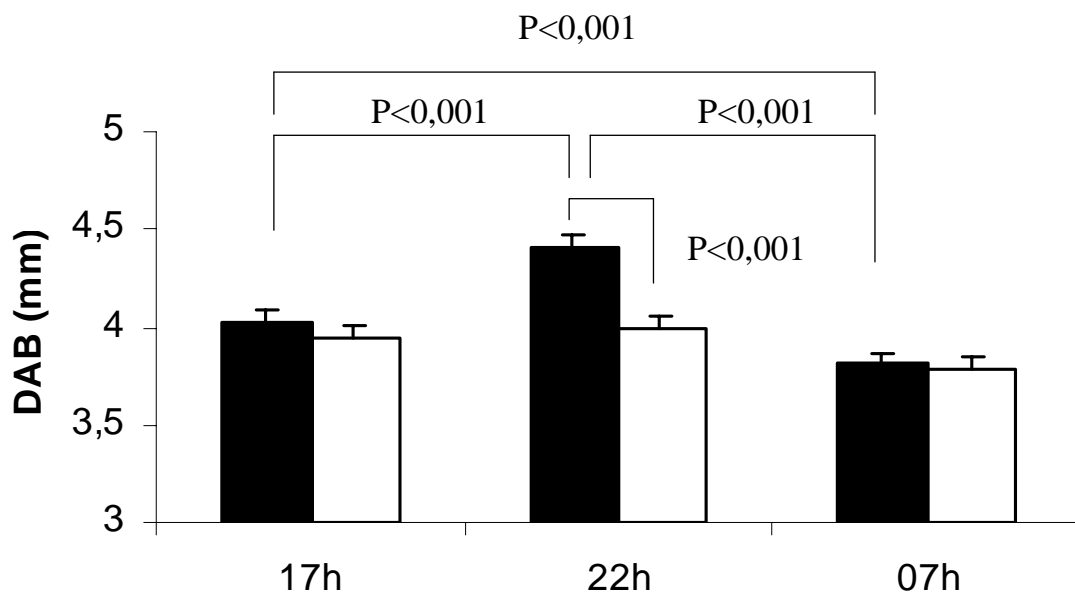


Figura 1. Diâmetro da Artéria Braquial (DAB) no grupo que ingeriu álcool (preto) e controle (branco)
 Entre horários (álcool): $P < 0.001$. Entre grupos: 22h - $P < 0.001$; 07h - $P = 0.81$

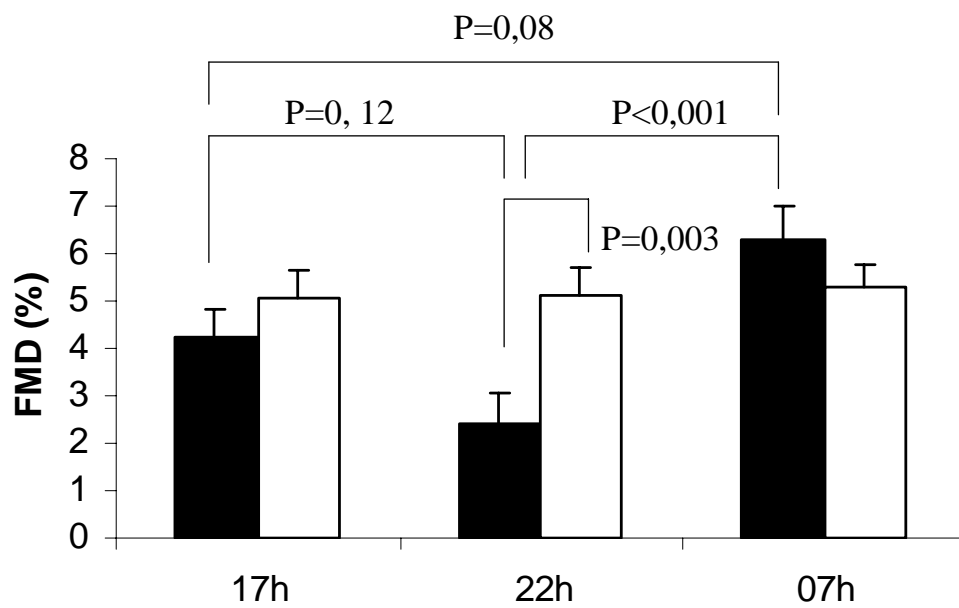


Figura 2. Vasodilatação Mediada pelo Fluxo (FMD) no grupo que ingeriu álcool (preto) e controle (branco)
 Entre horários (álcool): P <0.001. Entre grupos: 22h - P=0,003; 07h - P=0,26

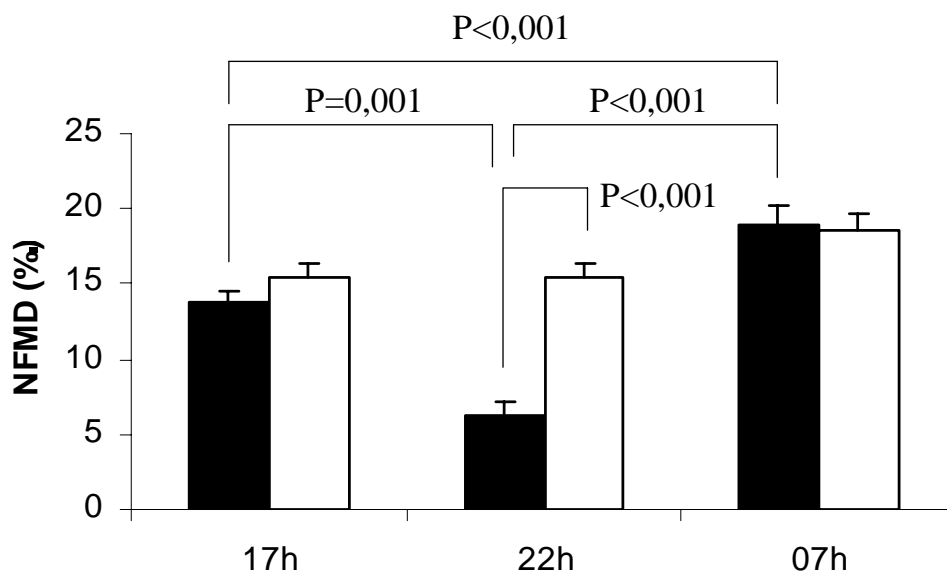


Figura 3. Vasodilatação não Mediada pelo Fluxo (NFMD) no grupo que ingeriu álcool (preto) e controle (branco)
 Entre horários (álcool): $P < 0.001$. Entre grupos: 22h - $P < 0.001$; 07h - $P = 0.77$

3. ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

ACUTE EFFECT OF ALCOHOL ON ENDOTHELIAL FUNCTION IN YOUNG MALES

^{1,2}Paulo F.D. Bau, ²Alexandre A. Naujorks, ³Claiton H.D. Bau and ^{4,5}Guido A. Rosito

¹Departamento de Clínica Médica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, RS.

²ICARDIO, Santa Maria, RS.

³Departamento de Genética, Instituto de Biociências and ⁴Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

⁵Departamento de Saúde Coletiva, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil.

Key words: endothelium, ethanol, cardiovascular disease, prevention

Corresponding address:

Dr. Paulo F. D. Bau
Rua Appel, 655/903
97015-030
Santa Maria, RS
Brazil
Tel: (55) 222-1929
Fax: (55) 223-7300
E-mail: paulobau@infoway.com.br

Abstract

The endothelial function evaluated by endothelium dependent flow-mediated dilatation (FMD) and endothelium independent nitroglycerin-mediated dilatation (NFMD) is associated to the risk of cardiovascular events. While the moderate consumption of alcoholic beverages is associated with a lower risk of cardiovascular disease, the ingestion of higher doses predispose to cardiac arrhythmias, stroke and other events that have a higher incidence in the morning. The investigation of the effects of alcohol on endothelial function may help to clarify this association. This study aims to evaluate in a homogeneous sample the effect of a relatively high dose of alcohol on vascular and endothelial function parameters. The diameter of brachial artery (DBA), FMD and NFMD were measured in three moments (5 pm, 10 pm and 7 am) in 100 healthy males aged 18 to 25 years (mean of 20.74) by brachial artery ecodoppler (following the International Brachial Artery Reactivity Task Force protocol). Subjects were randomized to drink either an alcohol containing drink or a similar non-alcoholic beverage at 6 pm. The alcohol-drinking group presented a DBA increase between 5 pm (4.03 mm) and 10 pm (4.41 mm). FMD decreased to 2,43% and NFMD to 6,30% at 10 pm from the basal values (FMD = 4.22%; NFMD = 13.7%). Alcohol induced a biphasic effect on systolic (SBP) and diastolic blood pressure (DBP), with a decrease at 10 pm (SBP = 105.18 mmHg; DBP = 60.14 mmHg) followed by an increase at 7 am (SBP = 117.50 mmHg; DBP = 70.98 mmHg). We conclude that after an initial period of vasodilatation, the acute ingestion of alcohol does not affect endothelial function compared to placebo.

Introduction

There is a strong inverse correlation between moderate alcohol consumption and coronary mortality.¹⁻⁴ However, heavy drinking increases the mortality rate for several causes, including cirrhosis and cancer.⁵⁻⁷ This pattern results in a J curve between mortality and alcohol consumption.⁸ The improvement in endothelial function is hypothesized to be one of the protective factors for cardiovascular disease among alcohol drinkers.⁹

Endothelial dysfunction precedes the formation of the atheromatous plaque and has predictive value for the development of cardiovascular diseases.^{10,11} The evaluation of the endothelium dependent flow-mediated dilatation (FMD) and endothelium independent nitroglycerin-mediated dilatation (NFMD) with an ultrasound^{12,13} is the most common and better standardized non-invasive method to measure endothelial function.¹² Several studies have shown a blunted endothelial response to be associated with various risk factors for cardiovascular disease.¹⁴⁻¹⁶

Although a study showed that alcohol abuse impairs FMD¹⁷, the same does not happen with moderate drinkers.¹⁸ Taking into consideration the fact that alcohol is consumed by a large fraction of the population, several studies have been performed on the alcohol effects on endothelial function.¹⁹ It is clear that the main vascular consequence of an acute dose of alcohol is vasodilatation;^{9,20-22} however, there is no consensus on its action in FMD. While one study²¹ observed a FMD decrease after the acute alcohol use, others did not observe any change in endothelial function.^{20,23} Another report suggested that moderate alcohol consumption would improve FMD in people with coronary disease.²⁴

A limitation of the pioneer studies on the effect of alcohol on endothelial function is the lack of control over confounding factors. Arterial diameter and endothelial function measurements are extremely vulnerable to variables like diseases, medication use, gender, age, menstrual cycle, post-prandial period, temperature¹⁴⁻¹⁶ and circadian rhythm.²⁵ Other components of alcoholic beverages may also influence vascular parameters. Some studies verified an FMD increase due to non-alcoholic substances in wine^{20,21} and grape juice.²⁶ Finally, the hemodynamic response seems to be proportional to the alcohol dose ingested. In an evaluation of different doses of alcohol on 24-hour blood pressure, a dose-dependent biphasic effect was detected,^{27,28} more pronounced with a higher dose.²⁸

The aim of the present study is to evaluate for the first time the acute effect of a relatively high dose of alcohol on the endothelial function in different times of the day in healthy young men. In this way, we studied the changes produced when the blood alcohol level is still higher (until 5 hours) and later (after 12 hours). Moreover, we evaluated the residual effect of acute alcohol ingestion on the cardiovascular system in the morning, when there is a higher incidence of events.

Methods

The study was approved by the ethics committee of the Federal University of Rio Grande do Sul. All volunteers signed an informed consent. This investigation is part of a series of experiments on the cardiovascular effects of alcohol. The sample comprises 100 healthy young men (18-25 years, mean: 20.74 ± 2.36), with no history of cardiovascular disease or medication use, non-smokers

recruited from the general population. The average body mass index was 22.93 kg/m² ± 2.40 (range: 18.50 to 29.30).

All volunteers were asked to abstain from alcohol and other psychoactive substances 48 hours before the study. The evaluations were performed in patients in the supine position in a quiet, temperature-controlled room of the echocardiography laboratory, with electrocardiographic monitoring.

At the laboratory arrival, volunteers were evaluated by clinical history and physical examination (including weight, height and blood pressure). Holter and AMBP (ambulatory monitoring of blood pressure) were used for additional investigations. Afterwards, subjects rested for 10 minutes before the beginning of the first evaluation (5 pm).

The diameter of brachial artery (DBA) and flow velocity measures were obtained according to the Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow Mediated Vasodilatation of the Brachial Artery¹² with an ultrasound machine with a 10 MHz linear transducer (Aspen - Acuson Computed Sonography). For each volunteer, optimized images of the brachial artery were obtained above the antecubital fossa of the right arm. This position was marked so that all subsequent images could be obtained in the same place.

Initially, longitudinal bidimensional images were obtained. Arterial flow velocity measurements were acquired using a pulsed Doppler signal at 60° to the vessel with the range gate (1.5 mm) in the center of the artery. After the baseline recording of the diameter and flow velocity measures, a blood pressure cuff inflated in the forearm to 250 mmHg for 5 minutes produced arterial occlusion. During the procedure, the transducer position was carefully maintained. The cuff was rapidly deflated. Following deflation of the cuff, pulsed Doppler signals were

recorded for 15 seconds, and longitudinal images were assessed after 60 to 90 seconds. Thereafter, a 10 minutes period was allowed for recovery of the vessel. Longitudinal images were then obtained before and 4 minutes after the administration of 400 µg of sublingual nitroglycerin spray. All images were recorded on VHS for posterior analysis.

The allocation of groups to either an alcohol containing drink or a similar non-alcoholic beverage was performed with a random seed generator. Each day, two volunteers were evaluated. Investigators and volunteers were blind on the administered beverage, which had a composition with or without an alcoholic content identified by Rosito et al.²⁸ as elicitor of a more pronounced effect. The solution contained citric acid (2.6 g), glucose (35.6 g) and, in 50% of the randomized sample, 60 g of ethanol. Finally, distilled water to complete 500 ml. The solution was drunk between 5:30 pm and 6 pm.

The measures were repeated at 10 pm and 7 am. Volunteers were asked to rest between 5 pm and 10 pm. A regular meal was served at 8 pm. After the 10 pm evaluation, volunteers received a snack and were allowed to sleep until 6:30 am. In the next morning, subjects were directed to the echocardiography laboratory in the fasting state for the 7 pm evaluation, when the procedures were finished.

Briefly, DBA was measured according to the guidelines¹² (from the anterior to posterior walls) at 5 pm, 10 pm and 7 am. Measures were performed on 3 consecutive cardiac cycles in the peak of the R wave of the electrocardiogram. The measurements were later averaged. Endothelial function was evaluated through ultrasound measures of the brachial artery; FMD was induced by hyperemia and NFMD by nitroglycerin.

All results are presented as mean \pm SEM. The between-groups comparisons in the time periods when the biphasic effect of alcohol is plausible (10 pm and 7 am) was performed with the Student t test. The time effects on blood pressure, heart rate (HR), DBA, FMD and NFMD were evaluated in the intervention group by the repeated-measures ANOVA. Between times post-hoc analyses were performed with the Bonferroni adjustment for repeated measures implemented in the SPSS software.

Results

DBA

DBA at 10 pm was increased in the group that was given alcohol (Figure 1). The average DBAs in the control group were 3.94 mm (5 pm), 3.99 mm (10 pm) and 3.79 mm (7 am). In the intervention group, the respective values were 4.03 mm, 4.41 mm and 3.81 mm. The differences were highly significant for time and intervention effects.

FMD

FMD was lower at 10 pm in the intervention group (Figure 2), with values of 4.22%, 2.43% and 6.28% at 5 pm, 10 pm and 7 am respectively. In the control group, the percent increases in diameter were 5.05% (5 pm), 5.09% (10 pm) and 5.27% (7 am).

NFMD

The percent increase in DBA was evaluated after subjects were given the sublingual nitroglycerin spray. At 10 pm, the intervention group presented a lower

NFMD (Figure 3). The percents in this group were 13.70%, 6.30% and 19.27% at 5 pm, 10 pm and 7 am. The corresponding values in the control group were 15,45%, 15,52% and 18,51%.

SBP and DBP

Alcohol had a biphasic effect on blood pressure, with a decrease at 10 pm and subsequent increase at 7 am (Table 1). The average values of SBP in the control group were 116.26 mmHg (5 pm), 113.59 mmHg (10 pm) and 111.91 mmHg (7 am) and 117.78 mmHg, 105.18 mmHg and 117.50 mmHg respectively in the group that was given alcohol. The SBP differences were significant for time and intervention effects. The between groups comparisons revealed differences at 10 pm and 7 am.

The same biphasic effect was detected for DBP. At 5 pm, 10 pm and 7 am the values corresponded to 70.91 mmHg, 65.76 mmHg and 67.54 mmHg in the control group and 70.78 mmHg, 60.14 mmHg and 70.98 mmHg in the intervention group. Differences on DBP were significant for time and intervention effects. The groups differed at 10 pm and 7 am.

HR

The average HRs in the control group at 5 pm, 10 pm and 7 am were 72.17 bpm, 68.76 bpm and 61.98 bpm respectively. In the intervention group, the corresponding values were 72.43 bpm, 71.84 bpm and 67.08 bpm. A significant between-groups difference was detected at 7 am, due to a lower morning HR decrease in the intervention group (Table 1).

Other findings

The dose of alcohol administered caused signs of mild intoxication in 8 subjects, while 7 presented more severe symptoms (dizziness in 3; vomit in 4).

Discussion

The present results show that a relatively high dose of alcohol causes in healthy young men a significant vasodilatation 4 hours after the ingestion. Meanwhile, FMD and NFMD decreased as a consequence of intense vasodilatation. In the next morning, 13 hours after ingestion, DBA, FMD and NFMD recovered to the same level of controls. Hence, the acute ingestion of this dose of alcohol did not cause a long-lasting alteration in vascular and endothelial function

Several investigations evaluated the acute effect of alcohol on DBA. Most of them showed a vasodilatation.^{9,20-22} Only one study²³ did not find diameter changes caused by alcohol, probably due to the small dose tested (3ml/kg of wine). The decrease in FMD detected here is coherent with the results of Hashimoto et al.²¹ which verified a FMD decrease after the consumption of vodka. These results are probably due to the vasodilatation caused by a significant amount of alcohol. Two studies^{9,20} emphasized the possibility that the alcohol-related increase in diameter restricts an additional vasodilatation to be obtained after hyperemia or nitroglycerin. In fact, FMD is inversely correlated with the basal arterial diameter.^{21,29}

Some investigations did not detect changes in FMD after alcohol ingestion.^{9,20,23} This difference to our results might be explained by smaller alcohol doses than the one we administered. Moreover, these experiments dealt

with relatively small samples, heterogeneous in gender and other variables, decreasing the statistical power.

We also detected a significant decrease in NFMD 4 hours after alcohol consumption, similarly to Vlachopoulos et al.⁹ A likely explanation is the same given to FMD, that is, a limited possibility for additional vasodilatation when the diameter is already enlarged.

Whelan et al.³⁰ reported a FMD increase 6 hours after wine consumption. This unique result may be due to the polyphenols and other substances present in wine, as well as to the fact that the study was performed in patients with coronary disease.

Alcohol induced a biphasic effect on SBP and DBP, replicating the findings of Rosito et al.²⁸ Blood pressure decreased significantly at 10 pm and was higher than in the control group at 7 am. This effect might be due to an alcohol-related increase in sympathetic activity³¹ which is ordinarily higher in the morning.³²⁻³⁴ This sympathetic activation might have prompted an increase in HR and therefore, cardiac output and blood pressure, since the arterial diameter was similar in both groups at 7 am.

The selection of homogeneous samples is important for the understanding of alcohol effects on vascular function. This study evaluated healthy young males with a higher sample size than other investigations. In an age when arterial elasticity is preserved (18-25 years), alcohol causes a significant effect in the diameter as well as vascular function measurements. However, it is impossible to tell if the same dose of alcohol in a more advanced age or in cardiovascular disease patients would cause the same results reported here.

Some limitations of this research should be taken into account. The study design can not address whether the vascular change caused by alcohol is exclusively endothelium mediated or could be partly attributed to a central nervous system influence. Equally important are the variables gender and ethnicity. These results are valid only for Brazilian men from a region where the majority of the population is of European descent.

To the best of our knowledge, this is the first report on the acute effect of alcohol on endothelial function at different times of the day. The size and homogeneity of the sample contributed to show that alcohol use in healthy young non-alcoholic men causes a transient vasodilatation. However, there were no long-lasting relevant effects in the vascular diameter and endothelial function between alcohol and placebo despite that, 12 hours after the ingestion of 60 g of alcohol, there was an increase in SBP, DBP and HR.

Acknowledgments

The Instituto Cardiovascular (ICARDIO) funded this research.

References

1. Albert CM, Manson JE, Cook NR, Ajani UA, Gaziano JM, Hennekens CH. Moderate alcohol consumption and the risk of sudden cardiac death among US male physicians. *Circulation*. 1999;100:944-950.
2. Rimm EB, Williams P, Fosher K, Criqui M, Stampfer MJ. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. *BMJ*. 1999;319:1523-1528.
3. Belleville J. The French paradox: possible involvement of ethanol in the protective effect against cardiovascular diseases. *Nutrition*. 2002;18:173-177.
4. Gronbaek M. Alcohol, type of alcohol, and all-cause and coronary heart disease mortality. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;957:16-20.
5. Marmot MG, Rose G, Shipley MJ, Thomas BJ. Alcohol and mortality: a U-shaped curve. *Lancet*. 1981;317:580-583.
6. Friedman LA, Kimball AW. Coronary heart disease mortality and alcohol consumption in Framingham. *Am J Epidemiol*. 1986;124:481-489.
7. Renaud SC, Gueguen R, Schenker J, d'Houtaud A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. *Epidemiology*. 1998;9:184-188.
8. Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD. Alcohol and mortality. *Ann Intern Med*. 1992;117:646-654.
9. Vlachopoulos C, Tsekoura D, Tsiamis E, Panagiotakos D, Stefanadis C. Effect of alcohol on endothelial function in healthy subjects. *Vasc Med*. 2003;8:263-265.
10. Neunteufl T, Priglinger U, Heher S, Zehetgruber M, Soregi G, Lehr S, Huber K, Maurer G, Weidinger F, Kostner K. Effects of vitamin E on chronic and acute endothelial dysfunction in smokers. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35:277-283.
11. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*. 2000;101:1899-1906.
12. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:257-265.
13. Hijmering ML, Stroes ES, Olijhoek J, Hutten BA, Blankestijn PJ, Rabelink TJ. Sympathetic activation markedly reduces endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:683-688.

14. Gaenzer H, Sturm W, Kirchmair R, Neumayr G, Ritsch A, Patsch J. Circadian variation of endothelium-dependent vasodilatation of the brachial artery as a confounding factor in the evaluation of endothelial function. *Atherosclerosis*. 2000;149:227-228.
15. Vapaatalo H, Mervaala E. Clinically important factors influencing endothelial function. *Med Sci Monit*. 2001;7:1075-1085.
16. Walters J, Skene D, Hampton SM, Ferns GA. Biological rhythms, endothelial health and cardiovascular disease. *Med Sci Monit*. 2003 ;9:RA1-RA8.
17. Maiorano G, Bartolomucci F, Contursi V, Minenna FS, Di Mise R, Palasciano A, Allegrini B, Amoroso M, Kozakova M. Noninvasive detection of vascular dysfunction in alcoholic patients. *Am J Hypertens*. 1999;12:137-144.
18. Zilkens RR, Rich L, Burke V, Beilin LJ, Watts GF, Puddey IB. Effects of alcohol intake on endothelial function in men: a randomized controlled trial. *J Hypertens*. 2003;21:97-103.
19. Puddey IB, Zilkens RR, Croft KD, Beilin LJ. Alcohol and endothelial function: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2001;28:1020-1024.
20. Agewall S, Wright S, Doughty RN, Whalley GA, Duxbury M, Sharpe N. Does a glass of red wine improve endothelial function? *Eur Heart J*. 2000;21:74-78.
21. Hashimoto M, Kim S, Eto M, Iijima K, Ako J, Yoshizumi M, Akishita M, Kondo K, Itakura H, Hosoda K, Toba K, Ouchi Y. Effect of acute intake of red wine on flow-mediated vasodilatation of the brachial artery. *Am J Cardiol*. 2001;88:1457-1460.
22. Tawakol A, Omland T, Creager MA. Direct effect of ethanol on human vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286:2468-2473.
23. Djousse L, Ellison RC, McLennan CE, Cupples LA, Lipinska I, Tofler GH, Gokce N, Vita JA. Acute effects of a high-fat meal with and without red wine on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol*. 1999;84:660-664.
24. Teragawa H, Fukuda Y, Matsuda K, Higashi Y, Yamagata T, Matsuura H, Chayama K. Effect of alcohol consumption on endothelial function in men with coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2002;165:145-152.
25. Otto ME, Svatikova A, Barretto RB, Santos S, Hoffmann M, Khandheria B, Somers V. Early morning attenuation of endothelial function in healthy humans. *Circulation*. 2004;109:2507-2510.
26. Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S, Folts JD. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1999;100:1050-1055.

27. Abe H, Kawano Y, Kojima S, Ashida T, Kuramochi M, Matsuoka H, Omae T. Biphasic effects of repeated alcohol intake on 24-hour blood pressure in hypertensive patients. *Circulation*. 1994;89:2626-2633.
28. Rosito GA, Fuchs FD, Duncan BB. Dose-dependent biphasic effect of ethanol on 24-h blood pressure in normotensive subjects. *Am J Hypertens*. 1999;12:236-240.
29. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340:1111-1115.
30. Whelan AP, Sutherland WH, McCormick MP, Yeoman DJ, de Jong SA, Williams MJ. Effects of white and red wine on endothelial function in subjects with coronary artery disease. *Intern Med J*. 2004 ;34:224-228.
31. Randin D, Vollenweider P, Tappy L, Jequier E, Nicod P, Scherrer U. Suppression of alcohol-induced hypertension by dexamethasone. *N Engl J Med*. 1995;332:1733-1737.
32. Panza JA, Epstein SE, Quyyumi AA. Circadian variation in vascular tone and its relation to alpha-sympathetic vasoconstrictor activity. *N Engl J Med*. 1991;325:986-990
33. Kool MJ, Struijker-Boudier HA, Wijnen JA, Hoeks AP, van Bortel LM. Effects of diurnal variability and exercise training on properties of large arteries. *J Hypertens*. 1992;10:S49-S52.
34. Ringqvist A, Caidahl K, Petersson AS, Wennmalm A. Diurnal variation of flow-mediated vasodilation in healthy premenopausal women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279:2720-2725.

TABLE 1. Alcohol effects on cardiovascular variation in 3 time periods

	5 pm	10 pm	7 am	P time	P group	
	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM		10 pm	7 am
SBP, mmHg						
Alcohol	117.78 \pm 1.49	105.18 \pm 1.44	117.50 \pm 1.39	<0.001	<0.001	0.004
Control	116.26 \pm 1.28	113.59 \pm 1.28	111.91 \pm 1.29			
DBP, mmHg						
Alcohol	70.78 \pm 1.22	60.14 \pm 1.32	70.98 \pm 1.19	<0.001	0.002	0.05
Control	70.91 \pm 1.33	65.76 \pm 1.21	67.54 \pm 1.25			
HR, bpm						
Alcohol	72.43 \pm 1.59	71.84 \pm 1.44	67.08 \pm 1.48	<0.001	0.13	0.008
Control	72.17 \pm 1.54	68.76 \pm 1.44	61.98 \pm 1.15			

The comparisons among the 3 time periods were performed only for the group that was given alcohol. The between-groups comparisons were performed in the moments when the biphasic effect of alcohol is plausible (10 pm and 7 am).

Post hoc comparisons (with Bonferroni adjustment) for time periods:

SBP (Systolic Blood Pressure): 5 pm - 10 pm, $P < 0.001$; 5 pm - 7 am, $P = 1.00$;
10 pm - 7 am, $P < 0.001$

DBP (Diastolic Blood Pressure): 5 pm - 10 pm, $P < 0.001$; 5 pm - 7 am, $P = 1.00$;
10 pm - 7 am, $P < 0.001$

HR (Heart Rate): 5 pm - 10 pm, $P = 1.00$; 5 pm - 7 am, $P < 0.001$;
10 pm - 7 am, $P = 0.003$

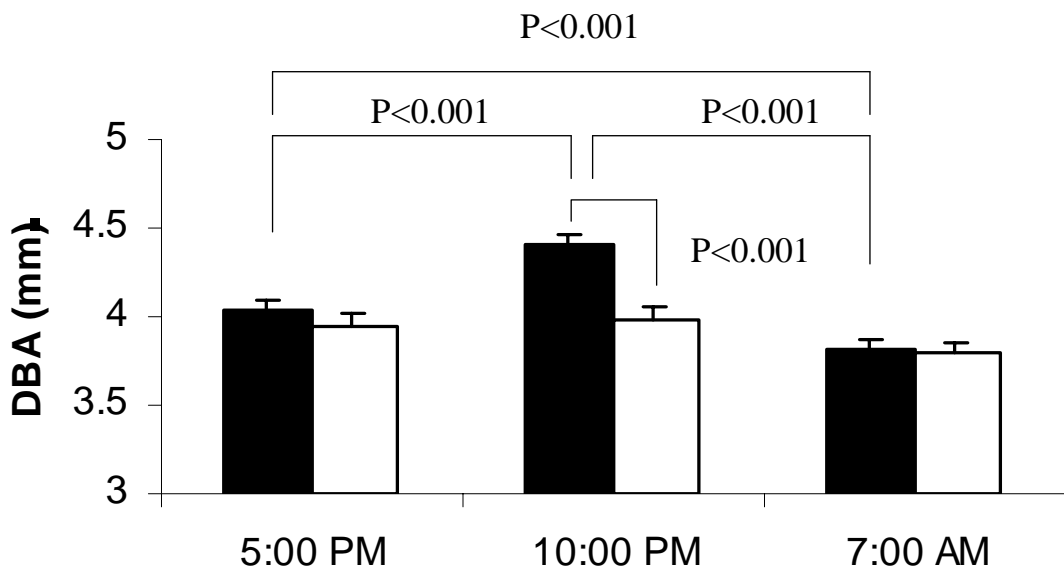


Figure 1. Diameter of Brachial Artery (DBA) in the group that received alcohol (black) and controls (white)
 Between times (alcohol): P < 0.001. Between groups: 10 PM - P < 0.001; 7 AM - P = 0.81

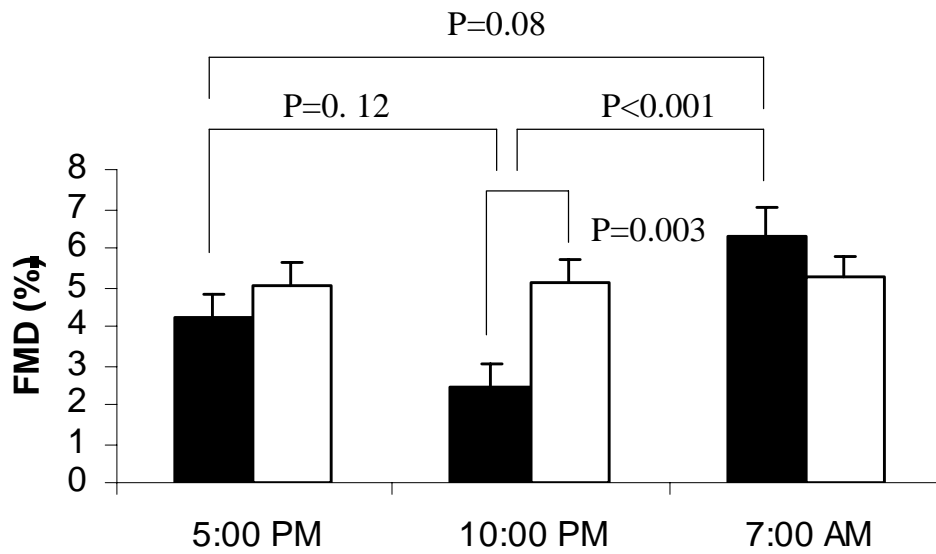


Figure 2. Flow Mediated Dilatation (FMD) in the group that received alcohol (black) and controls (white)
 Between times (alcohol): $P < 0.001$. Between groups: 10 PM – $P=0.003$;
 7 AM - $P=0.26$

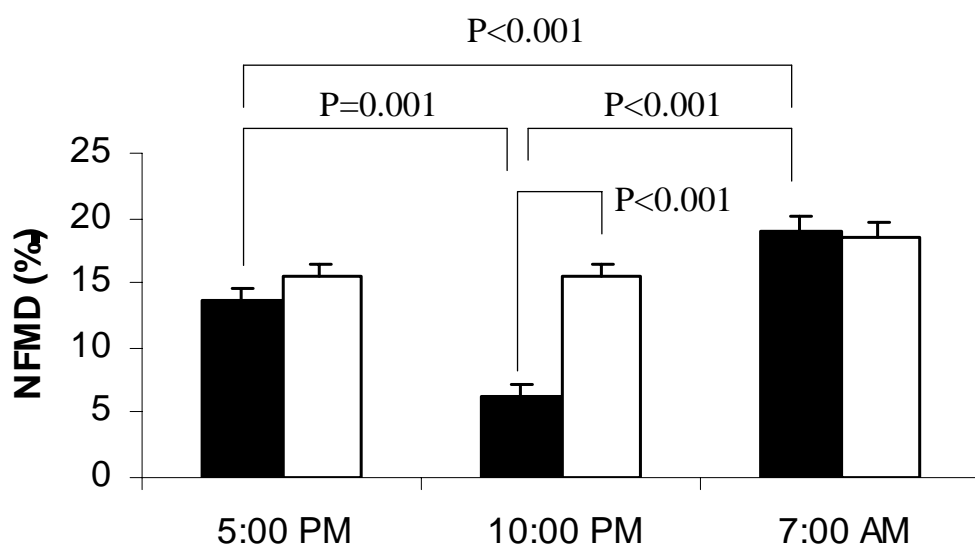


Figure 3. Endothelium Independent Dilatation (NFMD) in the group that received alcohol (black) and controls (white)
 Between times (alcohol): P <0.001. Between groups: 10 PM – P=0<001;
 7 AM - P=0.77

4. ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Muitos estudos têm demonstrado que o uso regular de álcool, em quantidade pequena a moderada, parece conferir proteção contra eventos arteriais coronarianos e acidentes cerebrais isquêmicos. Pelo contrário, o consumo pesado de álcool aumenta o risco de tais doenças. Esse aparente efeito protetor do álcool em baixas doses pode se dever às suas ações sobre a função do endotélio (que é o tecido de revestimento dos vasos sanguíneos), o que ainda não foi demonstrado de maneira convincente.

Essa pesquisa tem por objetivo avaliar o efeito do álcool sobre o tecido de revestimento dos vasos sanguíneos.

Poderão fazer parte desse estudo pessoas do sexo masculino, com idade entre 18 e 25 anos, que não apresentam hipertensão arterial sistêmica e que ingerem álcool eventualmente.

Os participantes deverão ficar três dias sem ingerir álcool, devem dormir cedo na noite anterior ao experimento e ingerir dieta balanceada. O estudo será realizado no Hospital de Caridade de Santa Maria. Inicialmente serão instalados um aparelho de Holter, que grava os batimentos cardíacos por 24 horas e a MAPA, que monitora a pressão arterial por 24 horas.

Uma hora antes da ingestão da solução em estudo, todos os casos serão avaliados do ponto de vista clínico (com verificação da PA e FC), será retirado sangue em quatro frascos para posterior análise bioquímica e será submetido a ecografia bidimensional com fluxo a cores da artéria braquial direita. Todos os exames são de caráter não-invasivo, não apresentando riscos. A ecografia vascular poderá causar algum desconforto, já que será provocada uma isquemia temporária do antebraço em estudo, havendo melhora rápida e total ao término do exame.

Após, os participantes serão selecionados ao acaso, em dois grupos: um grupo tomará a solução-padrão que é composta de ácido cítrico (2,6 g), glicose (35,6 g) e água, até completar 500 mililitros. O outro grupo tomará 60 gramas de etanol junto com a solução-padrão. A ingestão será por volta das 18 horas. Uma hora após, todos os participantes farão uma refeição (arroz, feijão, purê de batatas, bife, salada de alface e tomate).

Deverão permanecer no local do estudo, sendo que às 22 horas, aproximadamente 4 horas após a ingestão da solução, serão novamente avaliados clinicamente, retiradas novas amostras de sangue e será feita nova ecografia da artéria braquial direita. Os voluntários passarão a noite no Hospital de Caridade Astrogildo de Azevedo, onde se desenvolverá todo o experimento.

No dia seguinte, às 7 horas (13 horas após a ingestão da solução), serão novamente avaliados clinicamente, serão coletadas novas amostras de sangue e uma última ecografia da artéria braquial direita. Após, os pacientes serão liberados, devendo retornar às 16 horas para a retirada do Holter e da MAPA.

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declaro que autorizo a minha participação nesse projeto de pesquisa, pois fui informado,

de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, da justificativa, dos procedimentos a que serei submetido, dos riscos, desconfortos e benefícios, assim como das alternativas às quais poderia ser submetido, todos listados acima. Fui igualmente informado:

- da garantia de receber resposta a qualquer esclarecimento ou dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;
- da garantia de que não serei identificado, quando da divulgação dos resultados e que as informações obtidas serão utilizadas apenas para fins científicos vinculados ao presente projeto de pesquisa;
- do compromisso de proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que possa afetar a minha vontade de continuar participando;
- da disponibilidade de tratamento médico e indenização, conforme estabelece a legislação, caso existam danos a minha saúde, diretamente causados por essa pesquisa;
- de que, se existirem gastos adicionais, esses serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

O pesquisador responsável por esse projeto de pesquisa é Paulo Fernando Dotto Bau, fone 05599614676, tendo como orientador o Prof. Dr. Guido Aranha Rosito. Este documento foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS.

Data ----/----/----

Nome e assinatura do paciente ou voluntário.

Paulo Fernando Dotto Bau

Nome e assinatura do responsável pela obtenção do presente consentimento.

Observação: O presente documento, baseado no item IV das Diretrizes e Normas Regulamentadoras para a pesquisa em Saúde, do Conselho Nacional de Saúde (resolução 196/96), será assinado em duas vias, de igual teor, ficando uma via em poder do paciente e outra com o pesquisador responsável.

5. ANEXO 2



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA PROPEQ

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

RESOLUÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisou o projeto:

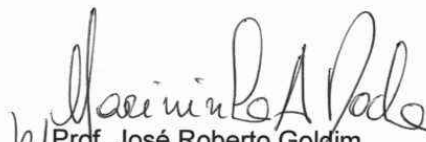
Número:2004254

Título do projeto: Efeito da ingestão aguda de etanol sobre a função endotelial

Investigador(es) principal(ais): Guido Bernardo Aranha Rosito (Pesq. Resp.) / Paulo Fernando dotto Bau

O mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, reunião n.25, ata n. 46, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 08 de abril de 2004.


p/ Prof. José Roberto Goldim
Coordenador CEP/UFRGS