

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE HIPERTENSÃO – NUPEB

**AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO EM MODELO
EXPERIMENTAL DE HIPERCOLESTEROLEMIA CO-EXISTENTE COM
HIPERTENSÃO RENAL**

AUTORA: Giselle Menelli Spinassé

ORIENTADOR: Prof^ª. Dr^ª. Raquel do Pilar Machado

CO-ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Andréia Carvalho Alzamora

*Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação do
Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante
dos requisitos para obtenção do título de Mestre, em
Ciências Biológicas, área de concentração: Bioquímica
Estrutural e Fisiológica.*

Ouro Preto, novembro de 2006

S757a ***Spinassé, Giselle Menelli.***

Avaliação da sensibilidade do barorreflexo em modelo experimental de hipercolesterolemia co-existente com hipertensão renal [manuscrito] . / Giselle Menelli Spinassé. - 2006.

xxii, 104f.: il., color; graf.; tabs.; fots.

Orientadora: Profa Dra. Raquel do Pilar Machado.

Co-orientadora: Profa. Dra. Andréia Carvalho Alzamora.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Área de concentração: Bioquímica Estrutural e Fisiológica.

1. Hipercolesterolemia - Teses. 2. Hipertensão renal - Teses. 3. Taquicardia - Teses. 4. Pressão arterial - Teses. I.Universidade Federal de Ouro Preto.

II. Título.

CDU: 616.12-008.31

*Este trabalho foi realizado no **Laboratório de Hipertensão** do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, com o auxílio da CAPES, FAPEMIG, PRONEX e CNPq.*

*Deus não escolhe os capacitados e sim capacita os
escolhidos.*

Dedicatória

*À minha mãe e meu pai, por acreditarem sempre em mim,
mesmo quando nem eu mesma acreditava.
Ao meu noivo Weiller por me fortalecer com seu amor.*

Agradecimentos

A **Deus** por habitar em mim com Seu Espírito Santo, Seu Corpo e Seu Sangue, nunca me deixando sem a força e a alegria do Seu amor de Pai.

A **Maria Santíssima** e **Santa Teresinha do Menino Jesus** por intercederem por mim junto a Deus.

A **Mamãe e Papai** pelo amor, confiança e cuidados dedicados a mim e por terem me dado o exemplo de buscar o crescimento e a aprendizagem com honestidade e simplicidade.

Ao meu **irmão Ricardo** (*in memoriam*) pelo carinho e por estar ao lado dos meus pais enquanto eu precisava estar tão longe.

Ao meu **noivo Weiller** por tanto amor, dedicação, companheirismo, enfim, por ter feito tudo o que poderia para me ajudar neste trabalho.

A minha orientadora **Prof^a. Dr^a. Raquel do Pilar Machado** pelos ensinamentos, paciência, amizade e exemplo de vitória.

A minha co-orientadora **Prof^a. Dr^a. Andréia Carvalho Alzamora** pelos ensinamentos e tantas contribuições.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva**, pela ajuda, pela prontidão, pelo incentivo e ensinamentos.

Aos meus irmãos do **Grupo de Oração Universitário (GOU)** por caminharem comigo na fé em direção a Jesus.

Aos companheiros do **Laboratório de Hipertensão** – **Amanda, Analina, Carolina, Edvaldo, Elton, Enyara, Everton, Gilberto, Janete, José Luiz, Karina, Luiza**

Michelli, Miriam, Sheyla, Uberdam, Vinícius (in memorian) - pela amizade, incentivo, ensinamentos e diversão.

Pelas irmãzinhas da **República Magnificat - Anelisa, Daiane, Fabiana, Mariana, Patrícia, Valdinéia, Taís, Miriam e Helaine** - por dividirem comigo as responsabilidades e alegrias de um lar cristão.

Ao **Sr. João Gregório Cunha e Dona Maria** por me acolherem em sua casa e partilharem comigo o convívio familiar e a fé de seus corações. E a todos da **família Cunha** que me acolheram maravilhosamente bem.

Ao **Pe. César** e a **todos da Paróquia de Cristo Rei** pela acolhida e carinho.

Ao colega **Daniel** por auxiliar indiretamente na realização dos experimentos.

Ao **Hernani** pela contribuição nas tarefas do laboratório.

Ao **Jair e Cida** pela dedicação e simpatia.

Aos **colegas de mestrado, principalmente Arlete, Carlito, Eneida, Fabiana, Igor, Valéria e Yara** pela amizade, estudos e exemplos de dedicação.

Aos demais **professores e colegas do NUPEB** pelo convívio, ensinamentos e auxílio.

Resumo

Hipercolesterolemia (HC) e hipertensão arterial (HA) são os principais fatores de risco para o desenvolvimento e progressão da doença cardíaca aterosclerótica, e sua co-existência foi associada a uma alta incidência de eventos cardíacos em estudos clínicos. A sensibilidade do barorreflexo tem importante valor prognóstico para diversas condições patofisiológicas cardiovasculares. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade do barorreflexo em ratos apresentando simultaneamente HC e HA. Foram utilizados ratos *Wistar* e *Fisher*. Os animais foram submetidos à dieta hipercolesterolêmica (Hiper) (1% de colesterol, 25% de óleo de soja) ou controle (Cont) 30 dias antes e 30 dias após cirurgia 2R1C (2 rins, 1 clip) para produção da hipertensão renal ou cirurgia fictícia (Sham). Com o objetivo de obter níveis maiores de colesterol sérico, ratos sham (*Fisher*) foram submetidos à dieta Hiper com adição de 0,3% de deoxicolato de sódio (DS). A sensibilidade do barorreflexo foi determinada através de alterações de pressão arterial (PA) induzidas por injeções endovenosas, em *bolus*, de doses crescentes de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, para avaliação dos componentes bradicárdicos e taquicárdicos, respectivamente. A dieta Hiper não elevou os níveis séricos de colesterol nos ratos *Wistar* (45,9±18,5 mg/dL, ShamHiper e 74,6±mg/dL, 2R1CHiper) em relação ao controle (54,4±21,6 mg/dL, ShamCont e 50,6±17 mg/dL, 2R1CCont). No entanto, os ratos *Fisher* desenvolveram HC (98,06±28,59 mg/dL, ShamHiper e 100,11±25,47 mg/dL, 2R1CHiper) em relação ao controle (75,2±23,1 mg/dL, ShamCont e 62,7±12,7 mg/dL, 2R1CCont), além de desenvolverem HA (142,2±9,7 mmHg, 2R1CCont e 143,8±12 mmHg, 2R1CHiper) comparados aos animais sham (101,4±10,5 mmHg, ShamCont e 99,5±11,1 mmHg, ShamHiper), adequando-se ao modelo proposto. A dieta Hiper com DS não elevou significativamente os níveis séricos de colesterol dos ratos sham *Fisher* (99,3±8,2 mg/dL) em relação à dieta Hiper sem DS (98,1±10,8 mg/dL). Os ratos *Fisher* 2R1C apresentaram frequência cardíaca (FC) elevada (449,4±39 bpm, 2R1CCont e 464,0±29,8 bpm, 2R1CHiper) em relação aos animais sham (401,7±35,8 bpm, ShamCont e 378,1±32,6 bpm, ShamHiper). Nos ratos *Fisher* a sensibilidade bradicárdica foi reduzida em animais submetidos à hipertensão renovascular (HR), associada ou não à HC, enquanto a sensibilidade taquicárdica não foi alterada

significativamente em nenhum grupo avaliado. Nossos dados sugerem que, no modelo proposto, o aumento da FC associado à diminuição da sensibilidade bradicárdica e à manutenção da sensibilidade taquicárdica podem estar correlacionados a aumentos da atividade simpática e principalmente à redução da atividade parassimpática, uma vez que a alteração é mais evidente frente a aumentos do que a quedas da PA. Sugerem também que a HC não afeta a sensibilidade barorreflexa, reduzida em decorrência da HR, no organismo onde HC e HR co-existem.

Abstract

Hypercholesterolemia (HC) and arterial hypertension (AH) are both major risk factors for the development and progression of atherosclerotic heart disease, and their co-existence has been associated with an increased incidence of cardiac events in clinical studies. The baroreflex sensitivity is a very important index in the prognosis of various cardiovascular diseases. Thus, the aim of this study is evaluate the baroreflex sensitivity in simultaneously hypercholesterolemic and hypertensive rats. Wistar and Fisher rats were used. The animals were submitted to the hipercolesterolemia (Hyper) (1% cholesterol, 25% soy oil) or control (Cont) diet 30 days before and 30 days after the 2K1C (2 kidney, 1 clip) para produção da hipertensão renal or fictitious surgery (Sham). Com o objetivo de obter níveis maiores de colesterol sérico, sham rats (*Fisher*) were submitted to the hyper diet supplemented with 0,3% of sodium deoxycholate (SD). The baroreflex sensitivity was determined by alterations on arterial pressure induced by intravenous *bolus* injections of increasing doses of phenylephrine and sodium nitroprusside to evaluate bradycardic and tachycardic components, respectively. The Hyper diet didn't increased the serum cholesterol levels in *Wistar* (45,9±18,9 mg/dL, 2R1Chiper e 74,6±13,5 mg/dL, ShamHiper) when compared to control animals (54,4±21,6 mg/dL, ShamCont e 50,6±17 mg/dL, 2R1CCont). Nevertheless, the *Fisher* rats developed HC (98,06±28,59 mg/dL, ShamHiper e 100,11±25,47 mg/dL, 2R1CHiper) when compared to control animals (75,2±23,1 mg/dL, ShamCont e 62,7±12,7 mg/dL, 2R1CCont), beyond developed AH (142,2±9,7 mmHg, 2R1CCont e 143,8±12 mmHg, 2R1CHiper) in relation to the sham animals (101,4±10,5 mmHg, ShamCont e 99,5±11,1 mmHg, ShamHiper), serving thus, as experimental model to this work. The sham rats (*Fisher*) that received hyper diet supplemented with SD showed no statistical differences the serum cholesterol levels when compared to sham rats that received Hyper diet without SD. The 2K1C *Fisher* rats showed increased heart rate (449,4±39 bpm, 2R1CCont e 464,0±29,8 bpm, 2R1CHiper) when compared to sham rats (401,7±35,8 bpm, ShamCont e 378,1±32,6 bpm, ShamHiper). The bradycardic sensitivity was reduced in *Fisher* rats submitted to renovascular hypertension, associated or not to HC, while the tachycardic sensitivity didn't change in any of the groups. Our results suggest that the increasing in heart rate associated to the decreasing in bradycardic sensitivity and the maintenance of tachycardic sensitivity are correlated

to sympathetic hyperactivity and mainly to the reduction of the vagal efferent component, once the alterations are more evident on the increasing than the decreasing of arterial pressure. Our data also suggest that HC do not affect the baroreflex sensitivity, decreased due to renovascular hypertension, in the organism where HC and AH co-exist.

Índice Analítico

1- Introdução.....	1
1.1- Dislipidemia.....	2
1.1.1-Hipercolesterolemia.....	3
1.2 - Hipertensão Arterial.....	7
2- Objetivos.....	16
2.1- Objetivo Geral.....	16
2.2- Objetivos Específicos.....	16
3- Animais, Material e Métodos.....	17
3.1- Animais.....	17
3.2- Protocolo Experimental	17
3.3- Produção da Hipercolesterolemia.....	19
3.3.1- Dietas.....	19
3.3.2- Dosagem do Colesterol Sérico.....	20
3.3.2.1 - Obtenção da amostra.....	21
3.3.2.2 - Dosagem de Colesterol.....	21
3.4 - Produção de Hipertensão Renovascular.....	22
3.4.1 – Cirurgia.....	22
3.4.2- Medida Indireta da Pressão Arterial.....	23
3.5- Avaliação dos Parâmetros Cardiovasculares.....	24
3.5.1- Drogas e Soluções utilizadas.....	24
3.5.2- Confeção e implantação das Cânulas Vasculares.....	25
3.5.3- Registros da Pressão Arterial e Freqüência Cardíaca.....	26
3.5.4- Teste da Sensibilidade do Barorreflexo.....	26
3.5.5 - Coleta dos dados a partir dos registros obtidos.....	27
3.6- Avaliação do Peso Corporal e Peso dos Órgãos.....	29
3.7 - Análise Estatística.....	29
4 - Resultados.....	30
4.1 - Resultados do experimento I (<i>Wistar</i>).....	30
4.1.1 - Níveis séricos de colesterol em ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica por 30 dias.....	30

4.1.2 - Níveis séricos de colesterol em ratos <i>Wistar</i> normotensos ou hipertensos (2R1C) submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica por 60 dias.....	31
4.1.3 - Avaliação de parâmetros cardiovasculares ratos <i>Wistar</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica.....	33
4.1.3.1 - Níveis basais de Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC).....	33
4.1.4 - Avaliação do peso corporal em ratos <i>Wistar</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica.....	36
4.2 - Resultados do Experimento II (<i>Fisher</i>).....	38
4.2.1 - Níveis séricos de colesterol em ratos <i>Fisher</i> submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica por 30 dias.....	38
4.2.2 - Níveis séricos de colesterol em ratos <i>Fisher</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica por 60 dias.....	39
4.2.3 - Avaliação da pressão arterial após a cirurgia para produção da hipertensão renal tipo 2 rins 1 clip (2R1C) ou cirurgia fictícia (Sham).....	41
4.2.4 - Avaliação do peso seco do coração, rim esquerdo e rim direito em relação ao peso corporal (g/ 100 g do peso corporal).....	44
4.2.5 - Avaliação dos Parâmetros Cardiovasculares em ratos <i>Fisher</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica....	47
4.2.5.1 - Níveis basais de Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC).....	47
4.2.5.2 - Avaliação da Bradicardia Reflexa.....	50
4.2.5.3 - Avaliação da Taquicardia Reflexa.....	56
4.2.6 - Avaliação do peso corporal e peso do fígado em ratos <i>Fisher</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica.....	62
4.3 - Resultados do Experimento III (<i>Fisher</i>).....	65
4.3.1 - Níveis séricos de colesterol em ratos <i>Fisher</i> submetidos à dieta controle, hipercolesterolêmica ou hipercolesterolêmica com 0,3% de DS (deoxicolato de sódio) por 30 dias.....	65

4.3.2 - Níveis séricos de colesterol em ratos <i>Fisher</i> normotensos (Sham) submetidos à dieta hipercolesterolêmica ou hipercolesterolêmica com 0,3% de DS por 60 dias.....	66
4.3.3 - Avaliação de Parâmetros Cardiovasculares em ratos <i>Fisher</i> normotensos (Sham) submetidos à dieta hipercolesterolêmica ou hipercolesterolêmica com DS.....	67
4.3.3.1 - Níveis basais de Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC).....	67
4.3.4.2 - Avaliação da Bradicardia Reflexa.....	69
4.3.4.3 - Avaliação da Taquicardia Reflexa.....	71
4.3.5 - Avaliação do peso corporal e peso do fígado em ratos <i>Fisher</i> submetidos à cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica ou hipercolesterolêmica com DS.....	73
5- Discussão.....	75
6 – Sumário dos Resultados e Conclusão.....	87
7 – Referências Bibliográficas.....	89

Índice de Figuras

Figura 1 – Representação esquemática do protocolo experimental.....	18
Figura 2 – Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda utilizado.....	23
Figura 3 – Bradicardia Reflexa. Exemplo de um registro durante um experimento com uma infusão em <i>bolus</i> de fenilefrina. A pressão sanguínea e a frequência cardíaca estão representados. A linha contínua indica o início da resposta a fenilefrina e a tracejada o fim da resposta. Os círculos indicam os pontos onde os dados foram coletados (retirada de Soares <i>et al.</i> , 2005).....	27
Figura 4 - Taquicardia Reflexa. Exemplo de um registro durante um experimento com uma infusão em <i>bolus</i> de nitroprussiato de sódio. A pressão sanguínea e a frequência cardíaca estão representados. A linha contínua indica o início da resposta ao nitroprussiato de sódio e a tracejada o fim da resposta. Os círculos indicam os pontos onde os dados foram coletados (retirada de Soares <i>et al.</i> , 2005).....	28
Figura 5 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos <i>Wistar</i> alimentados por 30 dias com dieta controle (n=12) ou hipercolesterolêmica (n=10). Valores expressos como média ± EPM (erro padrão da média). Teste t de <i>Student</i> , $p > 0,05$	30
Figura 6 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos <i>Wistar</i> normotensos (Sham) ou hipertensos (2R1C), alimentados por 60 dias com dieta controle (ShamCont; n=6 e 2R1CCont; n=5) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=5 e 2R1CHiper; n=4). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA <i>two-way</i> , ns = não significativo, $p > 0,05$	32
Figura 7 – Pressão Arterial Média basal (mmHg) em ratos <i>Wistar</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=6 e 2R1CCont; n=6) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=5 e 2R1CHiper; n=5). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA <i>two-way</i> , ns = não significativo, $p > 0,05$	34
Figura 8 – Frequência Cardíaca basal (FC) (bpm) em ratos <i>Wistar</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=6 e 2R1CCont; n=6) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=5 e 2R1CHiper; n=5). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA <i>two-way</i> , ns = não significativo, $p > 0,05$	35

Figura 9 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos <i>Fisher</i> alimentados por 30 dias com dieta controle (n=12) ou hipercolesterolêmica (n=14). Valores expressos como médias ± EPM. * p < 0,05 (teste t de <i>Student</i>).....	38
Figura 10 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos <i>Fisher</i> normotensos (Sham) ou hipertensos (2R1C), alimentados com dieta controle (ShamCont; n=5 e 2R1CCont; n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=7 e 2R1CHiper; n=7) por 60 dias. Valores expressos como média ± DPM. ANOVA <i>two-way</i> , ns = não significativo, p>0,05.....	40
Figura 11 – Evolução da PAM (mmHg) em ratos <i>Fisher</i> submetidos à cirurgia para produção de hipertensão renal (2R1C) ou cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta controle (ShamCont, n=7; 2R1CCont, n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7; 2R1CHiper, n=7). Valores obtidos por pletismografia um dia antes da cirurgia e 10, 20 e 30 dias após. * p < 0,05 em relação à PAM antes da cirurgia 2R1C. ANOVA <i>one-way</i>	43
Figura 12 – (A) Rim esquerdo (E) e rim direito (D) de um animal normotenso (Sham). (B) Rim esquerdo (clipado - E) e rim direito (não clipado - D) de um animal com hipertensão renovascular (2R1C).....	45
Figura 13 – Peso seco relativo de rim esquerdo (E – clipado) e rim direito (D – não clipado) de ratos <i>Fisher</i> normotensos (sham) e hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont, n=7 e 2R1CCont, n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7 e 2R1CHiper, n=7). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA <i>two-way</i> , ns = não significativo, p> 0,05.....	45
Figura 14 - Peso seco relativo do coração de ratos <i>Fisher</i> normotensos (sham) e hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont, n=7 e 2R1CCont, n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7 e 2R1CHiper, n=7). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA <i>two-way</i> , p>0,05.....	46
Figura 15 – Pressão Arterial Média basal (mmHg) em ratos <i>Fisher</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=7 e 2R1CCont; n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=7 e 2R1CHiper; n=7). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA <i>two-way</i> , ns = não significativo, p>0,05.....	48
Figura 16 –FC basal (bpm) de ratos <i>Fisher</i> normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=7 e 2R1CCont; n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=7 e 2R1CHiper; n=7). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA <i>two-way</i> , p > 0,05.....	49

Figura 17 – Registro típico mostrando o efeito da infusão endovenosa de uma dose de fenilefrina em rato normotenso (Sham) **(A)** e em rato com hipertensão renovascular (2R1C) **(B)**. PAP (pressão arterial pulsátil), FC (frequência cardíaca) e PAM (pressão arterial média).....50

Figura 18 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos ShamCont (n=7) e 2R1CCont (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação **(A)**. As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear **(B)**. Teste t de *Student*, * p < 0,05.....51

Figura 19 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos ShamHiper (n=6) e 2R1CHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação **(A)**. As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear **(B)**. Teste t de *Student*, * p < 0,05.....52

Figura 20 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos ShamCont (n=7) e ShamHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação **(A)**. As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear **(B)**. Teste t de *Student*, p > 0,05.....54

Figura 21 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos 2R1CCont (n=6) e 2R1CHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação **(A)**. As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear **(B)**. Teste t de *Student*, p > 0,05.....55

Figura 22 – Registro típico mostrando o efeito da infusão endovenosa de uma dose de nitroprussiato de sódio em rato normotenso (Sham) **(A)** e em rato com hipertensão renovascular (2R1C) **(B)**. PAP (pressão arterial pulsátil), FC (frequência cardíaca) e PAM (pressão arterial média).....56

Figura 23 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos ShamCont (n=7) e 2R1CCont (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$57

Figura 24 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos ShamHiper (n=6) e 2R1CHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$58

Figura 25 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos ShamCont (n=7) e ShamHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$60

Figura 26 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos 2R1CCont (n=6) e 2R1CHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$61

Figura 27 – Foto ilustrativa de (A) Fígado de animal alimentado com dieta controle; (B) Fígado de animal alimentado com dieta hipercolesterolêmica.....64

Figura 28 - Peso seco relativo de fígado de ratos *Fisher* normotensos (Sham) e hipertensos (2R1C) submetidos à dieta controle (ShamCont, n=7 e 2R1CCont, n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7 e 2R1CHiper, n=7). Valores expressos como média \pm DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$64

Figura 29 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos *Fisher* que receberam dieta hipercolesterolêmica (n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (deoxicolato de sódio)

(n=9) por 30 dias. Valores expressos como média ± EPM. Teste t de <i>Student</i> , $p > 0,05$	65
Figura 30 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos <i>Fisher</i> submetidos à cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS, n=7) por 60 dias. Valores expressos como média ± EPM. Teste t de <i>Student</i> , $p > 0,05$	66
Figura 31 – Pressão Arterial Média (PAM) (mmHg) em ratos <i>Fisher</i> submetidos à cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS, n=6) por 60 dias. Valores expressos como média ± EPM. Teste t de <i>Student</i> , $p > 0,05$	67
Figura 32 – Frequência Cardíaca (FC) (bpm) em ratos <i>Fisher</i> submetidos à cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS, n=6) por 60 dias. Valores expressos como média ± EPM. Teste t de <i>Student</i> , $p > 0,05$	68
Figura 33 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos ShamHiperDS (n=5) e ShamHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média ± EPM) representam o coeficiente de regressão (<i>slope</i>) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de <i>Student</i> , $p > 0,05$	70
Figura 34 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos ShamHiperDS (n=5) e ShamHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média ± EPM) representam o coeficiente de regressão (<i>slope</i>) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de <i>Student</i> , $p > 0,05$	72
Figura 35 - Peso seco relativo do fígado em ratos <i>Fisher</i> normotensos (Sham) que receberam dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS, n=7). Valores expressos como média ± EPM. Teste t de <i>Student</i> , $*p < 0,05$	74

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Composição das dietas controle e hipercolesterolêmica em gramas para cada 1000 g de dieta.....	20
Tabela 2 – Peso corporal inicial, peso corporal final e ganho de peso de ratos <i>Wistar</i> normotensos (Sham) e hipertensos renais (2R1C), submetidos à dieta controle (Cont) ou hipercolesterolêmica (Hiper) por 60 dias.....	37
Tabela 3 – Valores basais da PAM, obtidos por pletismografia, antes e após a cirurgia para produção de hipertensão renal (2R1C) ou cirurgia fictícia (Sham) em ratos <i>Fisher</i> submetidos à dieta controle (Cont) ou hipercolesterolêmica (Hiper) ao longo de 60 dias.....	42
Tabela 4 – Peso corporal inicial, peso corporal final e ganho de peso de ratos <i>Fisher</i> com hipertensão renal (2R1C) ou normotensos (Sham), alimentados com dieta controle (ShamCont e 2R1CCont) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper e 2R1CHiper).....	64
Tabela 5 – Peso corporal inicial, peso corporal final e ganho de peso de ratos <i>Fisher</i> normotensos (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS).....	74

Lista de Abreviaturas

ShamCont - Grupo submetido à cirurgia fictícia e dieta controle
ShamHiper - Grupo submetido à cirurgia fictícia e dieta hipercolesterolêmica
2R1CCont - Grupo submetido à cirurgia 2R1C de Goldblatt e dieta controle
2R1CHiper - Grupo submetido à cirurgia 2R1C de Goldblatt e dieta hipercolesterolêmica
LDL – Lipoproteína de baixa densidade
VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade
IDL – Lipoproteína de densidade intermediária
HDL – Lipoproteína de alta densidade
SNS – Sistema Nervoso Simpático
ACAT – Acil-CoA-colesterol-acil-transferase
Ang - angiotensina
Ang I - angiotensina I
Ang II - angiotensina II
Ang III - angiotensina III
Ang IV - angiotensina IV
Ang-(1-7) – angiotensina-(1-7)
ANOVA – análise de variância
AT₁ – receptores angiotensinérgicos do tipo 1
AT₂ – receptores angiotensinérgicos do tipo 2
ECA – enzima conversora de angiotensina
EPM – erro padrão da média
DPM – desvio padrão da média
EV – endovenoso
IV - intravascular
FC – frequência cardíaca
PA – pressão arterial
PAP – pressão arterial pulsátil
PAM – pressão arterial média
SNA – sistema nervoso autônomo

SRA – sistema renina angiotensina

2R1C – hipertensão renal tipo dois-rins, um clip

mmHg – milímetros de mercúrio

bpm – batimentos por minuto

UI – unidades internacionais

Δ mmHg – variação de pressão arterial em milímetros de mercúrio

Δ bpm - variação de frequência cardíaca em batimentos por minuto

1 - Introdução

A doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de mortalidade global, perfazendo cerca de 29% do total de mortes (Beaglehole, 1999) e tornando-se uma causa onipresente de morbidade e uma importante colaboradora da mortalidade na maioria dos países (Reddy e Yusuf, 1998).

No entanto, a identificação dos principais fatores de risco (FR) da DCV, através de estudos baseados na população e as estratégias de controle efetivas, combinando educação comunitária e o direcionamento objetivo de indivíduos com FR, contribuíram para a queda nas taxas de mortalidade da DCV (inclusive mortes por derrame e coronárias) que foi observada em quase todos os países industrializados (Lopez, 1993).

Entretanto, dados de uma população urbana do Canadá mostraram que embora tenha havido um declínio na mortalidade total por DCV de 1971 a 1991, o risco relativo da mesma aumentou para homens e mulheres com *status* econômico mais baixo comparado com aqueles de *status* econômico mais elevado (Terris, 1999).

Nos países em desenvolvimento, no entanto, as mudanças demográficas e o novo estilo de vida estão resultando em uma “transição epidemiológica” de doenças infecciosas e perinatais para doenças não-comunicáveis tais como DCV (Okraïnec *et al.*, 2004). A experiência da China urbana, na qual a proporção de mortes por DCV cresceu de 12,1% em 1957 para 35,8% em 1990, é ilustrativo deste fenômeno (Yao *et al.*, 1993).

Epidemiologistas e estudiosos em geral apontam uma associação entre diversos acontecimentos como responsável por essa realidade atual. Na segunda metade do século XX, a maioria dos países em desenvolvimento experimentou um aumento repentino importante na expectativa de vida (Reddy e Yusuf, 1998). O crescimento da longevidade fornece períodos maiores de exposição aos FR da DCV, resultando em uma probabilidade maior de manifestar clinicamente a doença (Reddy, 1993). Ao mesmo tempo, a mudança na dieta global de carboidratos complexos e fibras para proporções mais altas de açúcares e gorduras vem caracterizando a chamada “transição nutricional” (Drewnoski e Popkin, 1997). Ultimamente, a transição nutricional é percebida frequentemente como sendo devida, em grande parte, à disponibilidade e utilização elevadas de gorduras baratas como os óleos vegetais (Drewnoski e Popkin, 1997).

Neste cenário de “transição nutricional” surge outra definição recente, a chamada “síndrome metabólica”. Esta síndrome é caracterizada por hipertensão, níveis elevados de triglicérides e colesterol, resistência à insulina, dislipidemia e obesidade abdominal, trazendo junto destas condições a noção de que elas estão ligadas e representam um grupo de fatores que são sinérgicos para DCV (Ginsberg e Stalenhoef, 2003).

No início dos anos 60, no estudo *Framingham Heart Study*, hipercolesterolemia, hipertensão e fumo foram identificados como os principais FR para DAC (Okraïnec *et al.*, 2003). Com frequência vemos esses fatores associados no mesmo indivíduo, de modo que, aproximadamente 40% dos pacientes com hipertensão têm hipercolesterolemia, que é fator central para a patogênese da aterosclerose e DCV (Kannel, 2000).

Em 1995, a Sociedade Americana de Cardiologia estabeleceu que os FR para as DCV são divididos em duas categorias amplas: os não-modificáveis (idade, sexo e predisposição familiar) e os modificáveis (tabagismo, hipertensão arterial, níveis elevados de colesterol sanguíneo, diabetes, obesidade, sedentarismo e estresse).

É importante o entendimento claro de cada um desses FR, assim como os mecanismos fisiológicos e moleculares de interação entre eles, para a definição de estratégias eficazes de prevenção e de controle terapêutico, que beneficiem a população atingida.

1.1 - Dislipidemias

A dislipidemia é caracterizada pelos níveis sanguíneos elevados de lipídios e lipoproteínas. É uma alteração metabólica frequentemente observada em indivíduos com sobrepeso ou obesidade. As dislipidemias podem ser classificadas quanto ao perfil lipídico e sua etiologia. De acordo com o perfil lipídico, a dislipidemia pode ser classificada em quatro tipos: hipercolesterolemia isolada, hipertrigliceridemia isolada, hipercolesterolemia com hipertrigliceridemia e HDL-colesterol baixo isolado ou em associação com aumento de LDL-colesterol e/ou triglicérides. Quanto à etiologia, as

dislipidemias podem ser primárias, de causa genética; ou secundárias, causadas por doenças, medicamentos e hábitos de vida inadequados (SBC, 1998). A dislipidemia mais extensamente estudada e associada à presença de DAC é a hipercolesterolemia, particularmente do LDL colesterol, que está diretamente envolvido na etiologia da aterosclerose.

A hipercolesterolemia é um dos principais problemas de saúde pública na maioria dos países em desenvolvimento, onde prevalências maiores ou iguais a 10% são comuns (critério WHO - *World Health Organization*) (Fuentes *et al.*, 2003). Existem três diferentes critérios frequentemente usados para definir hipercolesterolemia. O critério EAS (*European Atherosclerosis Society*) tem o limite de corte para colesterol total (CT) mais baixo, $CT \geq 5.2$ mmol/l (cerca de 200 mg/dL). O NCEP (*National Cholesterol Education Program*) descreve um $CT \geq 6.2$ mmol/l (240 mg/dl) como 'colesterol total de alto risco' e relativamente próximo ao limite de corte da WHO, $CT \geq 6.5$ mmol/l (250 mg/dL) (Fuentes *et al.*, 2003).

1.1.1 - Hipercolesterolemia

O colesterol tem funções chaves importantes para a viabilidade celular e a biologia esteróide. Embora o colesterol esteja distribuído ao longo de toda a membrana plasmática das células, onde modula a fluidez, ele concentra-se em domínios especializados ricos em esfingolipídios denominados *rafts* e *caveolae* (Anderson, 1998). Estes contêm uma variedade de moléculas de sinalização que dependem da boa manutenção do conteúdo de colesterol para a atividade normal. Além disso, o colesterol é um substrato para a produção de hormônios esteróides e liga-se covalentemente a uma proteína (*hedgehog*) envolvida no desenvolvimento do embrião (Lewis, 2001).

O excesso de colesterol circulante e nas células, entretanto, pode ter conseqüências patológicas. Isto é particularmente verdade para as células da parede arterial, onde o acúmulo de colesterol inicia a DCV aterosclerótica (Guyton e Klemp, 1996). Desde que a síntese endógena do colesterol é a principal colaboradora para o colesterol que é requerido no metabolismo basal diário, o conhecimento dos mecanismos que regulam este processo constitui um ponto chave para o entendimento da homeostase do colesterol (Ness e Chambers, 2000).

A reação limitante da taxa de biossíntese de colesterol é catalisada pela enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase). A expressão desta enzima é regulada por vários fatores dietéticos e hormonais e particularmente pelo produto final, o colesterol (Ness e Chambers, 2000). A regulação por retroalimentação mediada por colesterol ocorre no fígado, principalmente ao nível de transcrição (Chambers e Ness, 1998) e o nível relativo de expressão do gene da HMG-CoA redutase pode, em parte, determinar o grau de suscetibilidade ao colesterol, servindo para ajudar a contrabalancear o efeito do colesterol dietético sobre os níveis sanguíneos e teciduais (Ness e Chambers, 2000). A atividade da HMG-CoA redutase pode ser inibida por drogas da família da estatina, que são largamente utilizadas para diminuir os níveis séricos de colesterol em pacientes hipercolesterolêmicos, alcançando reduções de 25 a 60% (Nawrocki *et al.*, 1995, Champe, 2000).

Além da síntese endógena, o colesterol utilizado pelo organismo também é fornecido pela dieta, a partir de alimentos de origem animal tais como, carnes, gorduras, ovos, leite e derivados, sendo absorvido no intestino com auxílio de esterases de colesterol e dos sais biliares (Ros, 2000).

O transporte do colesterol na corrente sanguínea é feito através das lipoproteínas do plasma. Durante a absorção da gordura nas células intestinais, os quilomícrons formados e secretados para os vasos linfáticos, entram no ducto torácico e então na corrente sanguínea, onde eles são atacados pela LPL (lipoproteína lipase), que reduz seu conteúdo de triglicerídeo em 75% e produz um quilomicrom remanescente que é captado pelos receptores B-100-E nos hepatócitos. No fígado, o quilomicrom remanescente é decomposto nos seus aminoácidos e componentes lipídicos. O colesterol liberado dos lisossomas nos hepatócitos pode ser excretado na bile, convertido em ácidos biliares, incorporado em VLDL para secreção no sangue através do complexo de Golgi ou esterificado com ácidos graxos de cadeia longa e estocado no hepatócito. A esterificação do colesterol é catalizada pela enzima acil-CoA: colesterol acil transferase (ACAT) (Olson, 1998; Ros, 2000).

A VLDL, a principal lipoproteína secretada pelo fígado, contém colesterol, fosfolípido, triglicerídeo, apoproteína B-100 sintetizada e pequenas quantidades de apopeptidases C e E. Parte dos triglicerídeos na VLDL é hidrolisada pela LPL para formar a IDL, que pode ser considerada a VLDL remanescente que é captada pelo fígado. Parte da fração de IDL é degradada pela lipase hepática para LDL, que contém

somente B-100. A LDL é a lipoproteína mais proeminente no plasma humano (Lehninger, 2000; Lichtenstein *et al.*, 1996).

Em 1974, Michael Brown e Joseph Goldstein na Universidade do Texas demonstraram que culturas de fibroblastos humanos normais ligavam-se a LDL marcada com I¹²⁵ com alta afinidade e especificidade e inibiam a atividade da HMG-CoA redutase. Subseqüentemente, em 1982, Scheneider *et al.* purificaram o receptor da LDL por cromatografia de afinidade e o caracterizaram como uma glicoproteína de superfície celular de 839 aminoácidos com diversos domínios, incluindo o domínio de ligação para B-100 e apo-E.

O receptor LDL liga e internaliza LDL, que então ocupa um vacúolo na célula, fundindo-se com um lisossomo. No lisossomo, a apoproteína e os lipídios da LDL são degradados em monômeros e liberados no citoplasma. O colesterol livre liberado tem os quatro efeitos seguintes: 1) incorporação nas membranas; 2) inibição da síntese de novos receptores LDL; 3) inibição da síntese de colesterol reduzindo a síntese de HMG-CoA redutase; e 4) promoção da atividade da ACAT, que sintetiza ésteres de colesterol. Quando os níveis de colesterol aumentam, a expressão da HMG-CoA redutase e dos receptores da LDL é inibida e a atividade da ACAT é acentuada (Olson, 1998).

A HDL (*high-density lipoprotein*), outra lipoproteína produzida pelo fígado, consistindo de fosfolipídeos, colesterol, triglicérides, e três apolipoproteínas (apoAI, apoAII, apoE), auxilia no “transporte reverso do colesterol”, isto é, dos tecidos extra-hepáticos para o fígado, para metabolismo futuro (Oram e Yokoyama, 1996; Yancey, 2003).

Parte do colesterol que chega no fígado é destinada ao processo de produção de ácidos biliares (Zhang e Mangelsdorf, 2002). A síntese de sais biliares fornece um meio direto de converter o colesterol, que é hidrofílico e insolúvel, em uma molécula solúvel em água e prontamente excretada, o ácido biliar (Russel, 2003). Os ácidos biliares recém-sintetizados são secretados na bile e distribuídos no lúmen do intestino delgado onde eles agem como emulsificantes dos lipídios dietéticos, do colesterol e de vitaminas lipossolúveis (Russel, 2003). O ácido cólico e o ácido quenodesoxicólico são os principais ácidos biliares primários. Os ácidos biliares secundários, como o ácido desoxicólico e o ácido litocólico, são formados pela 7 α dehidroxilação bacteriana intestinal, dos seus respectivos sais biliares primários (Small *et al.*, 1972).

Aproximadamente 95% dos ácidos biliares são reabsorvidos no intestino durante cada ciclo da circulação enterohepática. A produção de ácidos biliares (~500 mg/dia) é responsável por aproximadamente 90% do colesterol que é metabolizado ativamente no corpo, e a biossíntese de hormônios esteróides é responsável pelo restante. Em algumas espécies, incluindo ratos e camundongos, a produção da via de biossíntese do ácido biliar é elevada em resposta ao acúmulo do colesterol (Russel, 2003).

A síntese e a excreção de ácidos biliares compreende a principal via de catabolismo do colesterol em mamíferos (Russel, 2003), sendo o “transporte reverso do colesterol”, portanto, a via pela qual o colesterol celular periférico pode retornar ao fígado para o catabolismo (Fielding & Fielding, 1995). Assim, a HDL, por uma via mediada por apolipoproteínas participa da remoção do excesso de colesterol das células da parede arterial e macrófagos, podendo assim exercer um importante papel na proteção contra a DCV (Oram e Yokoyama, 1996). Também foi atribuído a HDL um papel na redução das interações entre as células endoteliais e leucócitos, possivelmente devido a supressão da expressão de VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) induzida por citocina (Cockerill *et al.*, 1995) e/ou por proteger lipoproteínas do plasma da modificação oxidativa (Theilmeier *et al.*, 2000).

As lipoproteínas do plasma são importantes agentes aterogênicos capazes de lançar reações celulares específicas quando capturadas e modificadas pelos componentes da matriz da íntima (Stary *et al.*, 1994). Um amplo corpo de evidências na literatura sustenta a LDL oxidada (ox-LDL) como a lipoproteína aterogênica clássica (Steinberg e Lewis, 1997). A ox-LDL é reconhecida pelos receptores *scavenger* do macrófago e induz formação de célula espumosa (Steinbrecher *et al.*, 1984), produção de citocina (Cushing *et al.*, 1990), proliferação de CMLV (células do músculo liso vascular) (Watanabe *et al.*, 2001), e tem sido detectada nas lesões ateroscleróticas (Ylä-Herttuala *et al.*, 1994). Foi demonstrada também a presença de depósitos extracelulares extensivos de diferentes formas de LDL degradada enzimaticamente em placas de gordura humana, que aparecem antes da infiltração seletiva de monócitos ou linfócitos-T (Torzanski *et al.*, 1998).

Existem provavelmente muitos fatores que influenciam os eventos que resultam em uma LDL modificada reconhecida pelos receptores *scavenger*. A ox-LDL não é uma entidade única e homogênea, há muitos produtos de oxidação que se formam da

peroxidação e da fragmentação dos componentes lipídicos da LDL, e da modificação e degradação oxidativa da apoproteína B (Witztum e Steinberg, 1991).

Além de todos esses prejuízos decorrentes do excesso de colesterol em pacientes hipercolesterolêmicos, sabe-se que há uma forte sinergia entre hipertensão e hipercolesterolemia em termos de FR para o desenvolvimento de DCV (Sander e Giles, 2002). Hipertensão e hipercolesterolemia resultam em disfunção endotelial e conseqüentemente contribuem para o desenvolvimento de aterosclerose (Nickenig, 2004).

1.2 - Hipertensão arterial

Estima-se que um bilhão de pessoas sejam hipertensas em todo mundo. Nos EUA, esta doença acomete cerca de 50 milhões de indivíduos, isto é, 30% da população (The JNC V Report, 1993). Estudos no Brasil mostram taxas de 16,1 a 35,1% de prevalência dependendo dos grupos étnicos e sociais estudados e dos parâmetros propostos para os limites definidos de hipertensão (Freitas, 2001).

A HAS (hipertensão arterial sistêmica) possui alto custo social sendo responsável por 40% dos casos de aposentadoria precoce e de absenteísmo do trabalho em nosso meio (Sabry *et al.*, 2001). Além disso, segundo o *Framingham Study*, menos de 20% dos casos de hipertensão ocorrem na ausência de um ou mais dos seguintes FR: níveis de colesterol e triglicérides altos, níveis reduzidos de HDL colesterol, intolerância a glicose, hiperinsulinemia, obesidade, e hipertrofia ventricular esquerda (Kannel, 2000).

Atualmente, os valores de referência para a classificação da HAS foram alterados; indivíduos que apresentam pressão sistólica de 120 a 139 mmHg e/ou pressão diastólica de 80 a 89 mmHg são considerados como pré-hipertensos e já passam a requerer modificações de estilo de vida para prevenir o surgimento das DCV (The JNC VII Report, 2003). Porém, este tipo de classificação, por níveis tensionais apenas, é insuficiente para se definir a hipertensão e para se obter um diagnóstico confiável, sendo necessária uma análise global do paciente.

A pressão sanguínea média, constatada pelo *Framingham Study*, na qual a seqüela cardiovascular já aparece, é 130/80 mmHg (Kannel, 2000). Sem dúvida, a HAS é um importante FR independente para DCV. Ela é descrita como uma entidade clínica

multifatorial e considerada uma síndrome caracterizada por níveis tensionais elevados, associados a alterações metabólicas e hormonais, já que a regulação da pressão sanguínea é um processo altamente complexo, influenciado por diversos sistemas fisiológicos (Neutel e Smith, 1999).

A manutenção da pressão arterial (PA) é essencial para assegurar uma boa perfusão e o bom funcionamento dos órgãos e tecidos. Entre os vários mecanismos de controle que atuam no sistema cardiovascular a fim de manter constante a pressão arterial há os que atuam em longo prazo e os que atuam em curto prazo, envolvendo vários sistemas fisiológicos: cardiovascular, renal, neural e endócrino (Shepherd, 1982; Dampney, 1994).

O Sistema Renina Angiotensina (SRA) é um complexo sistema efetor endócrino, classicamente caracterizado como circulante, que participa da regulação da PA. Neste sistema, a produção e liberação da enzima renina ocorrem no aparelho justaglomerular dos rins, constituído por células mioepiteliais diferenciadas localizadas na mácula densa, região distal da arteríola aferente, próxima à porção inicial do túbulo distal (Dzau, 1986).

A cascata enzimática do SRA inicia com a clivagem do angiotensinogênio pela renina para formar um peptídeo inativo, a angiotensina I. A enzima conversora de angiotensina (ECA), presente principalmente nas células endoteliais do território vascular pulmonar, é responsável por converter a angiotensina I inativa no octapeptídeo angiotensina II (Ang II) ativa, que através da sua ação sobre os receptores da Ang II, exerce um papel crítico na manutenção da PA e na homeostase de eletrólitos e fluidos (Nickenig e Harrison, 2002 – A e B).

Embora a Ang II ligue-se aos subtipos de receptor tipo I (AT₁) e tipo II (AT₂), é o receptor AT₁ que media a maioria dos seus efeitos cardiovasculares, incluindo o estresse oxidativo, a liberação de norepinefrina, a vasoconstrição, a secreção de aldosterona, a reabsorção de sódio renal, a estimulação simpática, a liberação de vasopressina, a hipertrofia celular vascular e cardíaca e a proliferação celular (Nickenig e Harrison, 2002 – A e B).

O receptor AT₁ é expresso em células musculares lisas, miocárdio, pulmões, cérebro, rins, fígado e glândulas adrenais. O receptor AT₂ é expresso em artérias em desenvolvimento no período embrionário, enquanto em tecidos adultos sua expressão está, predominantemente, no cérebro e adrenais. A estimulação do receptor AT₂

promove vasodilatação e inibição do crescimento do músculo liso vascular (Giorgi, 2003, p. 238).

Na regulação da PA pelo SRA, diversos mecanismos controlam a liberação de renina pelo rim, sendo três deles considerados mais importantes. O primeiro é o mecanismo barorreceptor renal que é desencadeado quando ocorre modificação na pressão da artéria renal. Uma redução na pressão de perfusão renal aumenta a liberação de renina, enquanto um aumento na pressão de perfusão renal diminui a liberação de renina. Acredita-se que o gradiente de pressão transmural é o mais importante determinante da liberação de renina por este mecanismo. O segundo mecanismo é desencadeado pelo sistema nervoso simpático renal que estimula a liberação de renina quando ocorre diminuição da pressão arterial renal e sistêmica. Os nervos renais parecem controlar a liberação de renina por ação direta sobre as células justaglomerulares, mediada pelos receptores beta-adrenérgicos. O terceiro mecanismo de controle da liberação da renina é o humoral onde várias substâncias estão envolvidas incluindo vasopressina (inibição), prostaglandinas (estimulação), Ang II (inibição), dentre outras (Kecton, 1980; Dzau, 1986).

Um aumento da Ang II plasmática pode levar à diminuição da liberação de renina através da estimulação da liberação de aldosterona e vasopressina e do aumento da pressão arterial sistêmica, mecanismo chamado de retroalimentação negativa. A liberação de renina é dependente da concentração de sódio no plasma. Uma redução na concentração intracelular de cloreto de sódio, ao nível da mácula densa, estimula a liberação de renina na circulação sistêmica. Várias técnicas tem sido utilizadas na tentativa de analisar o papel individual e a interação dos mecanismos envolvidos na liberação de renina (Kecton, 1980; Dzau, 1986).

A existência de SRA teciduais tem sido evidenciada pela determinação de atividade de renina e de seus substratos, e pela presença da ECA, angiotensinas e receptores de angiotensinas em múltiplos tecidos, principalmente naqueles que estão envolvidos com a homeostasia cardiorrenal e da pressão arterial, ou seja, rim, adrenal, cérebro, coração e vasos sanguíneos. Além disso, as técnicas de biologia molecular têm claramente demonstrado que tanto a renina quanto o angiotensinogênio estão presentes em múltiplos órgãos (Campbell, 1987; Dzau, 1988; Allen *et al.*, 1998). Dessa forma, tem sido proposto que o rim contém um SRA intrarenal que regula a hemodinâmica intrarenal, o balanço tubuloglomerular e a homeostasia de sal (Dzau, 1988).

O SRA periférico e central parece estar envolvido no desenvolvimento e manutenção de várias formas de hipertensão tais como: hipertensão essencial, hipertensão renal, hipertensão neurogênica e hipertensão por mineralocorticóides e sal (Ferrario, 1990; Brody *et al.*, 1991). Os resultados obtidos com o uso de inibidores da ECA no tratamento da hipertensão reforçam a contribuição do SRA na manutenção da PA elevada (Frohlich, 1989). Resultados satisfatórios foram também obtidos em pacientes hipertensos com saralasin, um peptídeo análogo da angiotensina II com atividade inibidora inespecífica (Nicholls *et al.*, 1994). O primeiro antagonista não-peptídico dos receptores AT₁ descrito foi o losartan, sendo seguido por outros desta classe (Leonardi *et al.*, 2000). O bloqueio dos receptores AT₁ e AT₂ da Ang II e a inibição da ECA têm permitido a realização de diversos estudos desvendando o papel desses receptores e de outros componentes do SRA na patogênese hipertensão, bem como a correlação entre Ang II e lipoproteínas no risco aterogênico (Singh e Mehta, 2001; Strehlow *et al.*, 2000).

Li *et al.* (1999) observaram que a Ang II acentua a captação da ox-LDL nas células endoteliais e que o bloqueio do receptor AT₁ com losartan preveniu a captação elevada da ox-LDL. Em um estudo posterior foi examinada a expressão dos receptores AT₁ em células endoteliais de artéria coronária humana e observou-se que a ox-LDL aumenta a proteína e o mRNA para o receptor AT₁, mas não para o AT₂ (Li *et al.*, 2000).

Nickenig *et al.* (1997) encontraram uma expressão elevada dos receptores AT₁ em CMLV (células do músculo liso vascular) da aorta de rato cultivadas na presença de LDL, e demonstraram que esta superexpressão se dá mais pela estabilização do mRNA deste receptor do que pela taxa de transcrição do gene alterada. Assim, é provável que altas concentrações plasmáticas de LDL levem à expressão acentuada do receptor AT₁ *in vivo*.

Além disso, a Ang II mostrou acentuar a biossíntese do colesterol celular em macrófagos (Keidar *et al.*, 1999). Em tal estudo, o inibidor da ECA, fosinopril, e o bloqueador do receptor AT₁, losartan, foram capazes de diminuir a biossíntese de colesterol nos macrófagos em resposta a Ang II injetada intraperitoneamente. Foi observado que a Ang II acentuou a expressão do gene da HMG-CoA redutase através da interação com o receptor AT₁, já que em macrófagos sem este receptor (macrófagos RAW), a síntese de colesterol não foi elevada.

Foi observado também que a Ang II aumenta a atividade da NADH/NADPH oxidase [nicotinamida adenina dinucleotídeo (fosfato) hidroxidase] em macrófagos através da ativação do receptor AT₁ (Griendling *et al.*, 1994).

A ativação do receptor AT₁ promove também a produção de espécies reativas de oxigênio na parede dos vasos mediada, em parte, pela ativação da NADH/NADPH oxidase, levando à inativação do óxido nítrico e como consequência a disfunção endotelial (Giorgi, 2003, p.238). Essa produção excessiva de espécies reativas de oxigênio tem sido referida como “estresse oxidativo” e está implicada em diversos processos fisiopatológicos cardiovasculares, como tabagismo, diabetes, hipercolesterolemia, hipertensão arterial e insuficiência cardíaca (Giorgi, 2003, p. 238).

Um grande número de trabalhos (Singh e Mehta, 2001; Strawn *et al.*, 2000) tem mostrado que o bloqueio do receptor AT₁ normaliza a atividade da NADH oxidase, reduz a área da placa aterosclerótica e a infiltração de macrófagos e simultaneamente melhora a superfície endotelial em animais alimentados com uma dieta com colesterol elevado. Estes estudos e muitos outros sugerem o importante papel do SRA no controle da PA, como também sua participação nos diversos processos fisiopatológicos do sistema circulatório.

Além do SRA, outro sistema que possui um importante papel na regulação homeostática da circulação é o sistema neural, que envolve a ativação de receptores periféricos (barorreceptores, quimiorreceptores, receptores cardiopulmonares, dentre outros), cujas aferências se projetam para o sistema nervoso central via nervos vago e glossofaríngeo. O processamento destas informações aferentes no sistema nervoso central produz uma consequente modulação das vias simpáticas e parassimpáticas, havendo assim, o ajuste das variáveis cardiovasculares (frequência cardíaca, volume sistólico e resistência periférica), entre outros tais como a regulação de volume por ajustes renais e peptídeo atrial natriurético.

O reflexo barorreceptor é um importante mecanismo neural no controle, momento a momento, da pressão arterial. Os barorreceptores são receptores cardiovasculares periféricos, sensíveis a mudanças de alterações mecânicas produzidas nas paredes dos vasos, principalmente nos seios aórtico e carotídeo (Brederode *et al.*, 1990) e também nas câmaras cardíacas (Shepherd, 1986). São terminações nervosas livres situadas na adventícia dos grandes vasos sistêmicos. Estes mecano-receptores constituem um sistema eficaz na manutenção da pressão arterial dentro de faixas

estreitas de variação tanto em indivíduos normotensos quanto nos hipertensos (Spyer, 1981; Krieger, 1986).

As fibras pressorreceptoras carotídeas e aórticas, sensíveis à distensão vascular formam o nervo do seio carotídeo e o nervo depressor aórtico, que se unem respectivamente ao glossofaríngeo e ao vago no tronco vago-simpático e se projetam ao bulbo (Scher, 1977). Dessa forma, as alterações na atividade desses receptores decorrentes de variações da PA convergem ao núcleo do trato solitário (nTS), onde é realizada a primeira sinapse no SNC (Sistema Nervoso Central). As vias simpatoinibitórias do barorreflexo envolvem projeções excitatórias do nTS para a CVLM (*caudal ventrolateral medulla*), e projeções inibitórias da CVML para a RVLM (*rostral ventrolateral medulla* - que possui neurônios simpatoexcitatórios). A CVLM, portanto, participa na regulação da PA, atuando como um centro integrador das aferências vindas principalmente do nTS e modulando a atividade da área pressora RVLM (Granata *et al.*, 1986). Portanto, a ativação desta via neuronal resulta em inibição simpática e conseqüente queda da pressão arterial. Deste modo os barorreceptores produzem ajustes autonômicos cardiovasculares que atuam na manutenção da pressão arterial (Verberne & Guyenet, 1992).

Os barorreceptores se adaptam a um novo “set point” e exercem sua função em níveis mantidos de PA alta ou baixa. McCubbin *et al.* (1956) foram pioneiros e a seguir diversos trabalhos têm mostrado o processo de deslocamento ou adaptação da faixa de funcionamento dos pressorreceptores para níveis mais elevados de pressão nos hipertensos, em várias espécies e em diferentes formas de hipertensão. Entretanto, não significa que os barorreceptores atuem do mesmo modo que na normotensão. Bristow *et al.* (1969) mostraram uma diminuição na sensibilidade do barorreflexo em indivíduos hipertensos.

A redução da sensibilidade barorreflexa pode produzir aumento da labilidade (variabilidade da PA a curto-prazo) diante de diferentes atividades diárias interferindo na função cardiovascular normal e podendo até mesmo comprometer o funcionamento de diversos órgãos em situações especiais. Os achados de Eto *et al.* (2003) sugerem que uma labilidade elevada da pressão sanguínea, independente do nível de pressão sanguínea média, prejudica a função endotelial pela inibição da produção de óxido nítrico, acentua a formação neointima após injúria de balão, e pode, portanto, contribuir para a aterogênese. De fato, o prejuízo da função endotelial (“disfunção endotelial”) é o

elo de ligação entre a hipertensão arterial, a resistência à insulina, a hiperlipemia e o desenvolvimento da aterosclerose (Giorgi, 2003, p. 241).

Foi verificada uma redução significativa do ganho do barorreflexo em coelhos com aterosclerose sendo sugerido que esta condição patológica está associada a uma maior produção local de radicais livres, atuando sobre os barorreceptores e diminuindo sua sensibilidade (Li *et al.*, 1996).

Pliquett *et al.* (2003) mostraram que o tratamento com inibidor da HMG-CoA redutase (sinvastatina), em coelhos com sensibilidade barorreflexa reduzida, levou a uma normalização da regulação do barorreflexo sobre a hipotensão em 66%, sendo sugerido que tal benefício seja devido a uma síntese elevada de óxido nítrico no endotélio, e/ou por redução da injúria induzida pela Ang II e redução da expressão dos receptores AT₁ e ET_A (endotelina).

Em estudo feito com pacientes hipercolesterolêmicos para testar a hipótese de que a redução do colesterol após tratamento com estatinas tem efeito benéfico sobre a variabilidade da FC, encontrou-se que o tratamento com atorvastatina melhorou a função autonômica, refletindo uma maior sensibilidade do barorreflexo (Pehlivanidis *et al.*, 2001).

A Ang II também modula o controle barorreflexo por atuar, através de seus receptores, em áreas de integração e controle da barorreflexo e da PAM (nTS, CVLM, RVLM, entre outras) (Dampney, 1994; Campagnole-Santos *et al.*, 1988; Alzamora *et al.*, 2000; Ferrario *et al.*, 1990 – A; Santos *et al.*, 2003). Considera-se que as ações do SRA dependem não só da Ang II, como também de seus produtos ativos carboxi-terminal, a angiotensina III (Ang III) e angiotensina IV (Ang IV) e amino-terminal, a angiotensina-(1-7) [Ang-(1-7)] (Santos *et al.*, 1988; Ferrario *et al.*, 1990; Santos e Campagnole-Santos, 1994). A menor sensibilidade do reflexo pressorreceptor foi observada após administração de Ang II e contribui de forma significativa na fisiopatologia da hipertensão em animais e humanos (Goldsmith & Hasking, 1995).

O desenvolvimento de modelos experimentais de hipertensão permitiu desvendar e isolar vários fatores associados com a regulação da pressão sanguínea, a herança de traços hipertensivos e respostas celulares à injúria (Lerman *et al.*, 2005). Além disso, tais modelos experimentais possibilitaram o desenvolvimento de intervenções alvo, almejando diminuir não apenas a pressão sanguínea, mas também a injúria de órgão alvo. A utilização contínua de modelos experimentais simulando a

hipertensão humana, particularmente aquela que combina outras comorbidades clinicamente relevantes como obesidade ou hipercolesterolemia, podem favorecer o desenvolvimento de estratégias específicas para enfocar esta doença tão comum (Lerman *et al.*, 2005).

Sabe-se que a origem subjacente da hipertensão secundária é mais frequentemente renovascular e menos frequentemente por desordens metabólicas e/ou endócrinas. Na tentativa de se elucidar a importância do SRA na patogenia da hipertensão arterial, vários modelos de hipertensão renal tem sido utilizados (Lerman *et al.*, 2005).

A hipertensão renal pode ser produzida experimentalmente através de estenose da artéria renal, perinefrite, compressão renal ou coarctação da aorta em animais com um ou dois rins. Nesses modelos de hipertensão, o aumento da PA é associado, ao menos inicialmente, com um aumento nos níveis plasmáticos de renina e Ang II (Brody *et al.*, 1991). A estenose arterial renal é a principal causa da hipertensão renovascular e pode levar a nefropatia isquêmica e a doença renal de estágio-terminal. O papel da vasculatura renal em provocar hipertensão renovascular tem sido estabelecido desde 1934, quando Goldblatt *et al.* demonstraram que a obstrução parcial da artéria renal aumentou a PAM (Goldblatt *et al.*, 1934).

Para pesquisar a patogênese da hipertensão, os ratos são considerados a espécie de primeira escolha. Os modelos de hipertensão de rato fornecem uma ampla oportunidade não apenas para investigar os mecanismos envolvidos na patogênese da hipertensão, mas também para aprender sobre o balanço crítico entre estresse e mecanismos adaptativos (por ex., hipertrofia), o que eventualmente determina o prognóstico da patologia (Pinto *et al.*, 1998).

Os dados de Leenen *et al.*, 1971, citados por Lerman *et al.*, 2005 demonstram que em ratos 2R1C ocorre um aumento gradual e crônico na pressão sanguínea, com platôs após duas semanas, mas pode subseqüentemente diminuir em 10-20% dos animais. Em geral, ratos desenvolvem hipertensão mais facilmente que coelhos, mas seu padrão pode ser influenciado pelo tipo do clip, dieta, e idade do animal.

De modo importante, abordagens de hipertensão deste tipo têm complementado a investigação dos efeitos da hipertensão secundária sobre a injúria de órgão-alvo, podendo ser associadas com comorbidades comuns na prática clínica, que acentuam o desenvolvimento da hipertensão e/ou a injúria de órgão-alvo, fornecendo simulações

mais próximas da doença humana (Lerman *et al.*, 2005). Como vimos, a hipercolesterolemia tem alta prevalência em pacientes hipertensos, agravando as condições clínicas e o surgimento da DCV.

Entretanto, poucas são as evidências na literatura dos efeitos da coexistência de hipertensão renal e hipercolesterolemia em relação aos mecanismos reflexos de controle da PA. Como o prejuízo deste controle reflexo está associado com risco elevado de morbidade e mortalidade cardiovascular, torna-se necessário estruturar modelos experimentais que permitam a avaliação de tais parâmetros. Estudar tais modelos pode contribuir para o conhecimento de alguns mecanismos centrais e periféricos de regulação cardiovascular frente à hipertensão simultânea a hipercolesterolemia.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo principal avaliar o impacto da presença simultânea de hipercolesterolemia e hipertensão renal sobre a sensibilidade do Barorreflexo, já que esta tem importante valor prognóstico para diversas condições patofisiológicas cardiovasculares.

2- Objetivos

2.1 – Objetivo Geral

Avaliar a sensibilidade do Barorreflexo em modelo experimental de hipercolesterolemia co-existente com hipertensão renovascular.

2.2 – Objetivos Específicos

1- Estabelecer um modelo experimental de hipercolesterolemia co-existente com hipertensão renovascular através de dieta e cirurgia 2R1C de Goldblatt.

2- Avaliar o desenvolvimento da hipertensão através de pletismografia de cauda (medida indireta) em ratos submetidos à cirurgia para produção da hipertensão (2R1C).

3- Avaliar o desenvolvimento da hipercolesterolemia através de dosagens do colesterol sérico aos 30 e 60 dias após o início do experimento.

4- Avaliar a pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) dos animais através de medida direta na aorta abdominal.

5- Avaliar a sensibilidade da bradicardia e taquicardia reflexas nos animais experimentais.

6- Avaliar as alterações no peso do fígado, coração e rins, que sejam decorrentes da dieta hipercolesterolêmica e/ou da hipertensão renovascular.

3 – Materiais e Métodos

3.1- Animais

Foram utilizados ratos *Fischer* machos, pesando entre 80 e 150g, fornecidos pelo Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto-MG e ratos *Wistar*, machos, pesando entre 120 e 160 g, fornecidos pelo Biotério da Universidade Federal de Ouro Preto. Os animais foram mantidos de acordo com as normas descritas em *Canadian Council on Animal Care* (1984).

3.2 – Protocolo Experimental

Com o objetivo de padronizar um modelo animal, em rato, que apresentasse hipertensão concomitante com hipercolesterolemia foram realizados três experimentos:

Experimento I: Foram utilizados ratos *Wistar*, machos, pesando entre 120 e 160g.

Experimento II: Foram utilizados ratos *Fisher*, machos, pesando entre 80 e 150g.

Experimento III: Foram utilizados ratos *Fisher*, machos, pesando entre 70 e 100g, que receberam dieta hipercolesterolêmica acrescida de 0,3% de deoxicolato de sódio (DS) e foram submetidos à cirurgia fictícia (sham).

Os Experimentos I e II seguiram o protocolo experimental representado na **Figura 1**, no qual os animais foram divididos em dois grupos e submetidos, por 30 dias, a dieta controle ou hipercolesterolêmica (item 3.3.1). Após esse período os animais de cada grupo foram novamente divididos em dois grupos e submetidos à cirurgia para produção da hipertensão renovascular (2RIC) ou cirurgia fictícia (sham) (item 3.4.1). Os animais continuaram a ser submetidos às suas respectivas dietas por mais 30 dias.

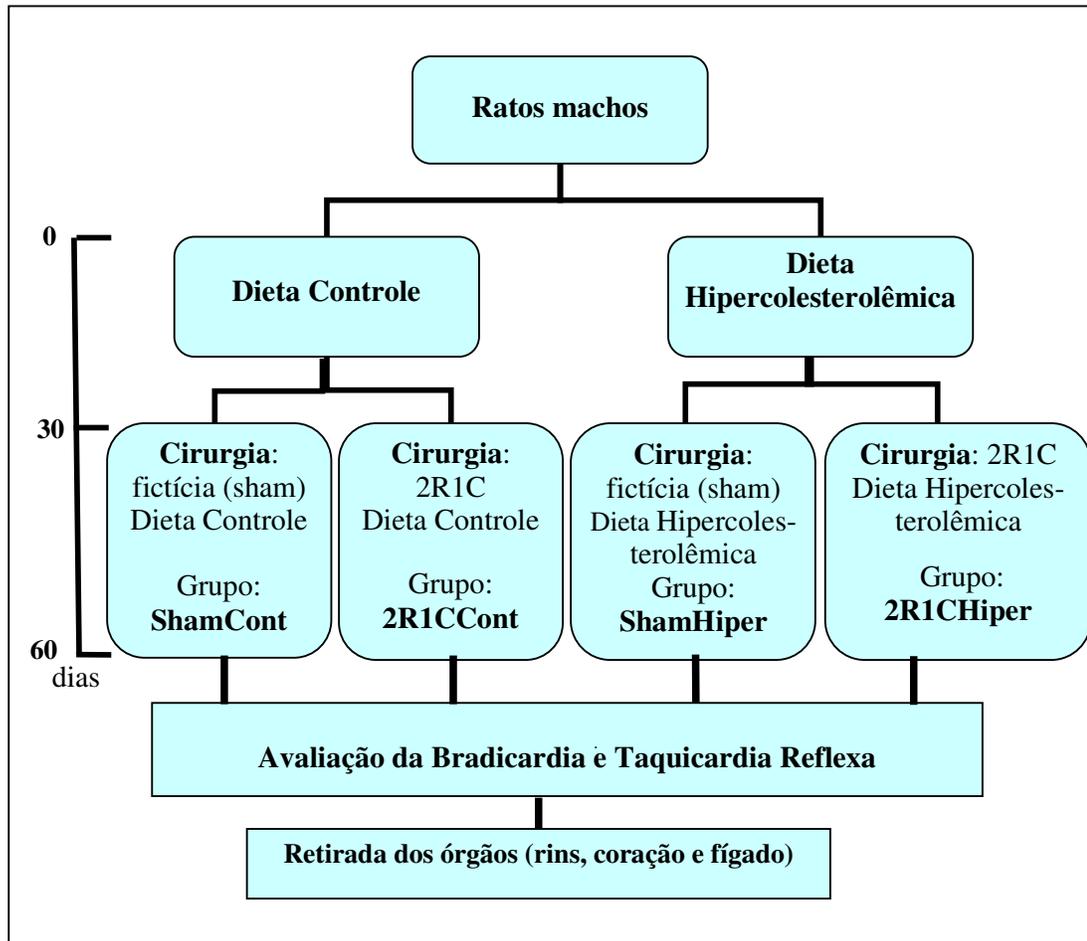


Figura 1 – Representação esquemática do protocolo experimental.

Os grupos obtidos através do protocolo experimental são descritos abaixo:

- Grupo **ShamCont**: Animais recebendo dieta controle submetidos à cirurgia fictícia (sham).
- Grupo **2R1CCont**: Animais recebendo dieta controle submetidos à cirurgia para produção da hipertensão renovascular (2R1C).
- Grupo **ShamHiper**: Animais recebendo dieta hipercolesterolêmica e submetidos à cirurgia fictícia (Sham).
- Grupo **2R1CHiper**: Animais recebendo dieta hipercolesterolêmica e submetidos à cirurgia para produção da hipertensão renovascular (2R1C).

O Experimento III foi realizado para avaliar se a dieta hipercolesterolêmica acrescida com Deoxicolato de Sódio (DS) provocaria um aumento maior nos níveis séricos de colesterol que a dieta hipercolesterolêmica sem DS. Um grupo de ratos *Fischer* recebeu dieta hipercolesterolêmica acrescida de 0,3% de DS por 30 dias, sendo estes animais submetidos à cirurgia fictícia (Sham) e submetidos à dieta por mais 30 dias. Ao completar 60 dias obteve-se o seguinte grupo experimental:

- **ShamHiperDS:** Animais recebendo dieta hipercolesterolêmica com 0,3% de DS e submetidos à cirurgia fictícia (Sham).

Ao final de cada um dos Experimentos (I, II e III), os animais de cada grupo que apresentaram as medidas de pressão arterial e colesterol sanguíneo adequados ao modelo proposto foram selecionados para avaliação da sensibilidade do barorreflexo da pressão arterial e retirada dos órgãos (rins, coração e fígado) para análise.

3.3 – Produção da Hipercolesterolemia

3.3.1 – Dietas

A composição das dietas controle e hipercolesterolêmica foram estabelecidas a partir de pesquisa realizada no Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da UFOP e descrita por Mattos, 2000.

Os nutrientes da tabela 1 foram misturados em ordem crescente de quantidade, com exceção do óleo de soja que foi o último componente adicionado. Depois de misturados foram passados em peneira por três vezes para garantir a homogeneização da dieta, que foi mantida sob refrigeração.

Tabela 1 – Composição das dietas controle e hipercolesterolêmica em gramas para cada 1000 g de dieta.

	Controle	Hipercolesterolêmica
Caseína	150	150
Amido de milho	696	406
Óleo de soja	80	250
Colesterol	-----	10
Cloreto de colina	4	4
Mistura de sais (a)	50	50
Mistura de vitaminas (b)	10	10
Celulose	10	120
Calorias totais (Kcal)	4104	4474

(a) Mistura de sais (g%): NaCl – 10,31 / KI – 0,08 / MgSO₄ 7H₂O – 5,73 / CaCO₃ – 38,14 / MgSO₄ H₂O – 4,01 / FeS O₄ 7H₂O – 2,7 / ZnSO₄ 7H₂O – 0,06 / CuSO₄ 5H₂O – 0,05 / CoCl₂5H₂O – 0,02 / KH₂PO₄ – 38,90.

(b) Mistura de vitaminas (g/Kg de mistura): Acetato de retinol – 4,0 / Colecalciferol – 0,60 / Menadiona – 0,5 / Ácido p-aminobenzóico – 10,00 / I-inositol – 10,00 / Niacina – 4,00 / Pantotenato de cálcio – 4,00 / Riboflavina – 0,80 / Tiamina HCL – 0,5 / Piridoxina HCL 0,50 / Ácido fólico – 0,20 / Biotina – 0,040 / Vitamina B12 – 0,003 / Sacarose – 764,860.

3.3.2 - Dosagem do Colesterol Sérico

Para verificar os níveis do colesterol sérico dos animais, foram realizadas dosagens de acordo com os procedimentos a seguir.

3.3.2.1 - Obtenção da amostra

A dosagem do colesterol sanguíneo foi realizada após 30 e 60 dias do início do experimento. Na primeira coleta de sangue, após aproximadamente 30 dias, o animal foi anestesiado com éter etílico e o sangue foi retirado no plexo ocular com auxílio de uma pipeta de Pasteur contendo heparina sódica (25000 UI/5mL) diluída 1:10. O sangue foi centrifugado a 3000 RPM por 15 minutos para obtenção do soro, que foi separado com uma pipeta automática.

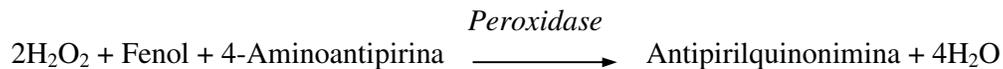
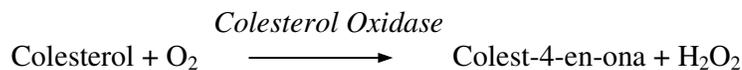
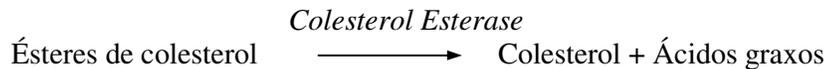
A segunda coleta, após 60 dias, foi feita após a canulação da artéria femoral. Eram coletados cerca de 0,5 ml de sangue em tubo de polietileno Eppendorf contendo 0,01 ml de heparina sódica e a seguir o sangue foi armazenado em refrigeração a cerca de 5-10°C por até quatro dias, quando era feita a dosagem.

3.3.2.2 - Dosagem de Colesterol

Para as dosagens foram utilizados kits comerciais (Labtest, Cat 60-2/100, MS; 10009010002 Lagoa Santa, MG, Brasil).

Princípio da técnica:

O colesterol total é determinado de acordo com as seguintes reações, cujas enzimas envolvidas são fornecidas pelo reagente de cor:



A antipirilquinonimina tem absorvidade máxima a 500 nm. A intensidade da cor vermelha formada na reação final é diretamente proporcional à concentração de colesterol na amostra.

Execução da técnica:

Em um tubo de polietileno Eppendorf foram colocados 10 µl do soro ou do padrão, que foram misturados a 1000 µl do reagente de cor (colesterol esterase, colesterol e peroxidases), agitados com auxílio de um *vórtex* e levados a banho-maria à 37°C por 10 minutos. A absorvância foi obtida em espectrofotômetro (Fento 600 Plus), a um comprimento de onda (λ) de 500 nm.

O padrão de colesterol utilizado foi 200mg/dL. Para cada amostra foram feitas três dosagens e a média dos três valores foi utilizada para fazer o cálculo da concentração:

$$\text{Colesterol total (mg/dL)} = \left(\frac{\text{Absorvância da Amostra}}{\text{Absorvância Padrão}} \right) \times 200 \text{ mg/dL}$$

3.4 - Produção de Hipertensão Renovascular**3.4.1 – Cirurgia**

Para produção de hipertensão arterial foi utilizado o método descrito por Goldblatt *et al.* (1934) denominado 2 rins, 1 clip (2R1C) de Goldblatt. Os animais foram submetidos a jejum de 12 horas, com livre acesso à água. No dia da cirurgia, sob anestesia pelo éter etílico (Canadian Council on Animal Care, 1984) os animais foram colocados em decúbito dorsal em uma prancha cirúrgica, e submetidos à tricotomia e assepsia da região abdominal com álcool iodado a 2%. A seguir foi realizada uma laparotomia mediana para visualização e isolamento da artéria renal esquerda. Um clip de prata com 8 mm de comprimento e 2 mm de largura, em forma de U, foi colocado ao redor da artéria renal e apertado com auxílio de uma pinça de abertura regulável, determinando a constrição desejada. O grau de constrição do clip foi de 0,20 mm para os ratos que, no momento da operação, pesavam até 180 g e de 0,25 mm, para ratos com mais de 180 g no momento da cirurgia. Esses valores foram determinados em experimentos preliminares que mostraram que estes graus de constrição proporcionavam um índice de obtenção de pressão arterial igual ou maior que 140 mmHg após um período médio de 30 dias. Os animais que apresentaram valores iguais ou superiores a 140 mmHg foram considerados hipertensos.

Os animais utilizados como controle foram submetidos à cirurgia fictícia (Sham), que consistiu na realização de todos os procedimentos cirúrgicos descritos acima, exceto a colocação do clip de prata na artéria renal.

Em todos os animais o abdômen foi suturado com pontos contínuos envolvendo a camada muscular e com pontos isolados envolvendo a pele. Ao final dos procedimentos cirúrgicos, uma dose de antibiótico (Pentabiótico) foi administrada em todos os animais (dose de 0,01 mL de Pentabiótico para cada 100 g do peso corporal do animal).

3.4.2- Medida Indireta da Pressão Arterial

O desenvolvimento da hipertensão renovascular foi acompanhado através da medida indireta da PAM usando o método da pletismografia de cauda. O sistema utilizado foi proposto por William *et al.* (1939) e modificado por Magaldi (1944), e consiste de um sistema fechado contendo líquido, que sob pressão ajusta um manguito de borracha que envolve toda a porção distal da cauda do animal. Outro manguito de borracha de 3 cm de comprimento, conectado a uma coluna de mercúrio, envolve a porção proximal da cauda, e é responsável pela oclusão da artéria caudal. A Figura 2 ilustra a foto de um pletismógrafo.

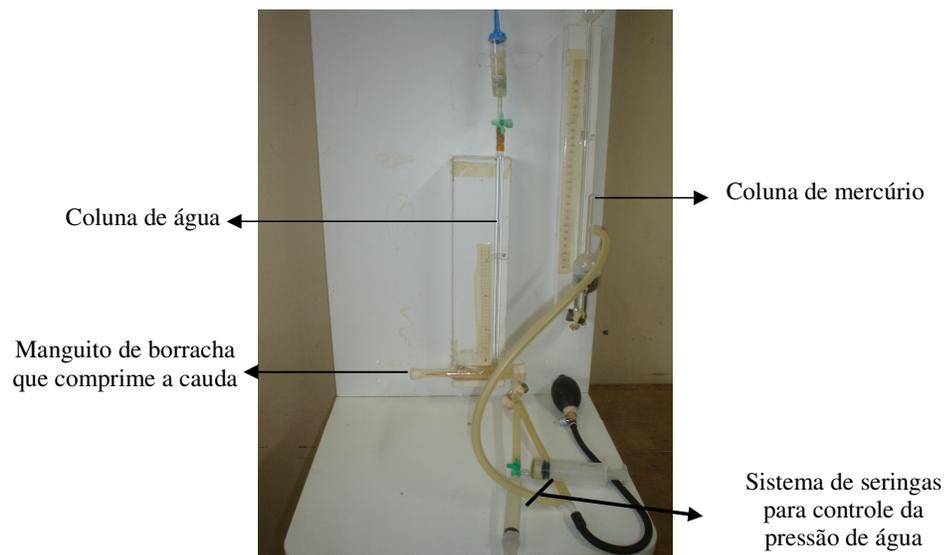


Figura 2 – Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda utilizado.

Para provocar dilatação das artérias periféricas e facilitar a medida da pressão arterial, os animais foram previamente aquecidos em uma caixa de madeira com lâmpada incandescente. A temperatura interna da caixa foi de aproximadamente 32°C e os animais permaneciam no seu interior por aproximadamente 3 minutos. A seguir, os animais foram colocados em um sistema de contenção que mantinha somente a cauda do animal exteriorizada, então se comprimia a cauda com o manguito de borracha e insuflava-se o manguito da coluna de mercúrio. Em seguida, a pressão na coluna líquida foi reduzida e o nível do líquido na coluna mantido a aproximadamente 15 cm de altura da cauda do animal. Posteriormente, a pressão no manômetro de mercúrio foi reduzida lentamente no momento em que se observava alteração no nível do líquido na coluna do pletismógrafo, o que ocorria em função do aumento do volume de sangue na cauda. Neste mesmo instante foi realizada a leitura da pressão na coluna de mercúrio que correspondia à pressão arterial média (PAM) do animal.

3.5- Avaliação dos Parâmetros Cardiovasculares

Os animais selecionados foram avaliados quanto aos parâmetros cardiovasculares ao completar o protocolo de produção do modelo experimental.

3.5.1- Drogas e Soluções utilizadas

Veículo: salina 0,9%

Anestésicos: uretana (1,2g/Kg) e éter etílico (para os procedimentos rápidos)

Agente hipertensor agonista adrenérgico: L-Fenilefrina (sal cloridrato): foram preparadas soluções em sete concentrações (0,5 µg/ml; 1,0 µg/ml; 2,5 µg/ml; 5,0 µg/ml; 10 µg/ml, 20 µg/ml e 50 µg/ml) utilizando cloridrato de L-Fenilefrina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). Estas soluções foram aliqüotadas em tubos de polietileno Eppendorf e permaneceram congeladas até o momento do uso.

Agente hipotensor doador de óxido nítrico: Nitroprussiato de Sódio: foram preparadas soluções em sete concentrações (0,5 µg/ml; 1,0 µg/ml; 2,5 µg/ml; 5,0 µg/ml; 10 µg/ml, 20 µg/ml e 50 µg/ml) utilizando Nitroprussiato de Sódio Dihidratado (Sigma

Chemical Co., St. Louis, MO, USA). Estas soluções foram alíquotadas em tubos de polietileno Eppendorf e permaneceram congeladas até o momento do uso.

3.5.2- Confeção e implantação das Cânulas Vasculares

Na confecção das cânulas foram utilizados tubos de polietileno PE 10 de 4 cm para cânula arterial e de 2 cm para a cânula de veia, soldados por aquecimento a tubos de polietileno PE 50 de 15 cm. Antes do implante, o interior das cânulas foi lavado e preenchido com salina e a extremidade PE-50 de cada cânula foi obstruída com pino de metal.

Os animais, em jejum de 8 a 12 horas, foram colocados em decúbito dorsal em uma prancha cirúrgica realizando-se uma pequena incisão na face ventral da pata traseira direita, separando a musculatura para localização do feixe vásculo-nervoso femoral. A artéria e veia femorais foram dissecadas e expostas. A extremidade PE-10 das cânulas foram introduzidas na aorta abdominal, via artéria femoral, para registro dos parâmetros cardiovasculares, e na veia cava inferior, através da veia femoral, para administração da uretana e demais drogas. As cânulas foram amarradas junto ao feixe com fio cirúrgico. A seguir foi feita a coleta de sangue já descrita anteriormente.

Imediatamente antes da conexão ao transdutor, foi injetada na cânula 0,7 ml de salina heparinizada (heparina sódica 25.000 UI / 5mL) a fim de se evitar a formação de coágulo durante o registro da PA.

Anestesia

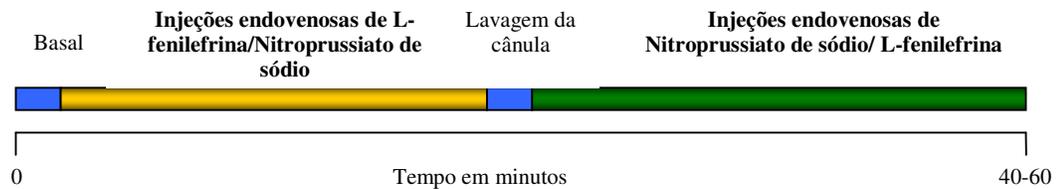
Para iniciar a implantação das cânulas os animais foram anestesiados com éter etílico por inalação e assim que a cânula venosa era implantada, os animais passaram a ser anestesiados com uretana (1,2g/Kg) por via intra-venosa.

3.5.3- Registros da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

A pressão arterial foi monitorada por um transdutor de pressão modelo Gould conectado a um amplificador (PM-1000, CWE). O sinal de pressão arterial pulsátil é derivado para um cardiocômetro (PM-1000, CWE) para se obter a frequência cardíaca e para um registrador (Gould). A pressão arterial pulsátil e a frequência cardíaca são continuamente amostradas por um sistema de conversão analógico/ digital de 12 bits (BIOPAQ) a uma frequência de 800 Hz e armazenados em disco rígido (PC). Posteriormente, o sinal é processado por um software (Powerlab) para se obter a pressão arterial média (PAM), as características temporais e as alterações máximas dos parâmetros desejados.

3.5.4- Teste da Sensibilidade do Barorreflexo

A sensibilidade do reflexo pressorreceptor foi avaliada relacionando-se as alterações reflexas de FC induzidas por alterações transitórias da PAM. Para produzir alterações da PAM, os animais foram submetidos a injeções endovenosas (em *bolus*) de doses (0,1ml) com concentrações crescentes (0,5 a 50,0 μ g/mL) de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio, de maneira a se obter respectivamente respostas pressoras e depressoras. Iniciaram-se os ensaios alternadamente com uma das drogas a fim de evitar um *vieze* nos resultados. A escolha da droga a ser injetada primeiro era aleatória e feita a cada experimento. Um intervalo mínimo de um minuto ou mais foi mantido entre as injeções, para permitir que a PAM e a FC retornassem aos valores basais e entre as duas drogas a cânula foi lavada com salina até que não tivesse mais resposta da droga anterior. O esquema abaixo sumaria este protocolo, sendo que as barras horizontais representam o registro ao longo do tempo:



3.5.5 - Coleta dos dados a partir dos registros obtidos

As variações máximas de PAM e FC, tanto para respostas depressoras como pressoras, foram obtidas a partir do registro, onde o valor máximo da ação da droga (fenilefrina ou nitroprussiato de sódio) foi subtraído da média dos dez segundos anteriores a injeção da droga.

Os dados coletados dos registros estavam concordantes com Soares *et al.* (2005).

A Figura 3 ilustra o exemplo do registro de um animal onde foi aplicada uma dose de fenilefrina (retirado de Soares *et al.*, 2005) e a Figura 4 onde foi aplicada uma dose de nitroprussiato de sódio (retirado de Soares *et al.*, 2005). Nos registros estão representados os pontos onde os dados foram coletados.

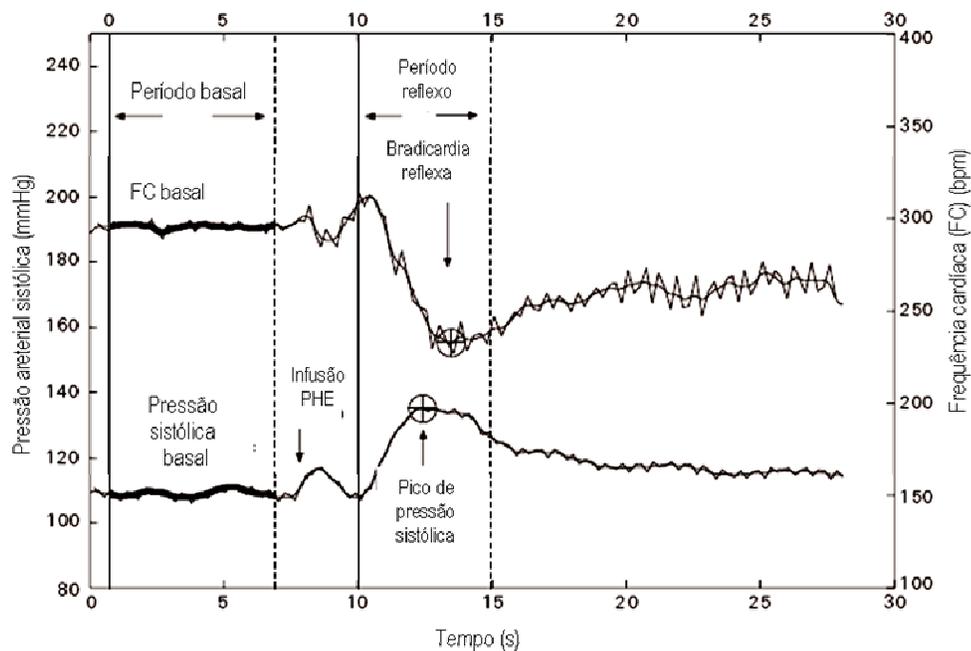


Figura 3 – Bradicardia Reflexa. Exemplo de um registro durante um experimento com uma infusão em *bolus* de fenilefrina. A pressão sanguínea e a frequência cardíaca estão representadas. A linha contínua indica o início da resposta a fenilefrina e a tracejada o fim da resposta. Os círculos indicam os pontos onde os dados foram coletados (retirada de Soares *et al.*, 2005).

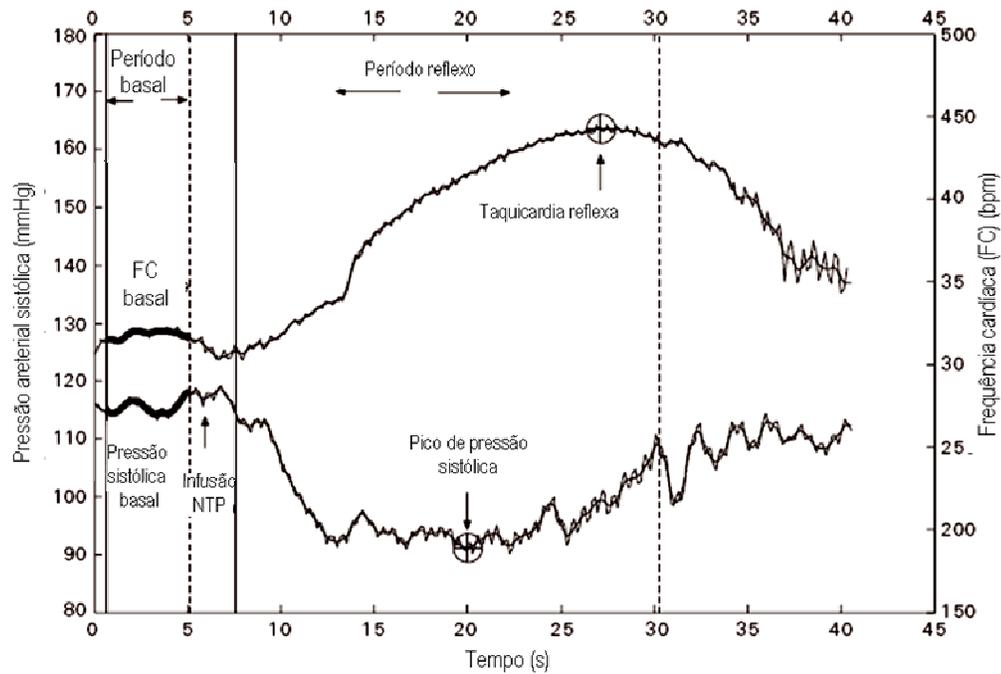


Figura 4 - Taquicardia Reflexa. Exemplo de um registro durante um experimento com uma infusão em *bolus* de nitroprussiato de sódio. A pressão sanguínea e a frequência cardíaca estão representadas. A linha contínua indica o início da resposta ao nitroprussiato de sódio e a tracejada o fim da resposta. Os círculos indicam os pontos onde os dados foram coletados (retirada de Soares *et al.*, 2005).

Para determinação da sensibilidade do barorreflexo, pode-se utilizar o índice médio de sensibilidade ($\Delta FC/\Delta PAM$) ou a inclinação da reta (*slope*) obtida por regressão linear. De acordo com Farah *et al.* (1999), para injeções em *bolus* de fenilefrina ou de nitroprussiato de sódio, não há diferença estatística entre os dois métodos de análise. Dessa forma, nesse trabalho utilizamos apenas a análise dos dados referentes à inclinação da reta após regressão linear.

3.6- Avaliação do Peso Corporal e Peso dos Órgãos

Os ratos, em jejum de 8 a 12 horas, foram pesados antes de serem submetidos ao registro direto de PA e ao protocolo de avaliação do barorreflexo. Logo após esta avaliação, os animais foram sacrificados, os rins direito e esquerdo, o coração e o fígado foram retirados, pesados (peso úmido) em balança analítica (Kern 410) e a seguir colocados na estufa. Após dois dias em estufa fez-se nova pesagem dos órgãos (peso seco). O peso relativo de cada órgão foi então calculado $\left(\frac{\text{peso seco do órgão}}{\text{peso corporal}} \right)$ para uma melhor comparação entre os grupos.

Os procedimentos deste item (3.6) foram realizados apenas no Experimento II e no Experimento III.

3.7 - Análise Estatística

Para análise dos resultados referentes ao teste da sensibilidade do Barorreflexo foi utilizado o teste de distribuição (teste t de *Student*) para avaliar a significância entre as médias de dois grupos experimentais. Os resultados foram expressos como médias, acompanhadas do respectivo erro padrão da média (EPM).

Para os demais parâmetros foi feita a análise de variância (ANOVA *two-way*). Os resultados foram expressos como médias, acompanhadas do respectivo desvio padrão da média (DPM).

O nível de significância foi fixado em 95%, $p < 0,05$.

4 – Resultados

4.1 – Resultados do experimento I (*Wistar*)

4.1.1 - Níveis séricos de colesterol em ratos submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 30 dias

Os níveis séricos de colesterol (mg/dL) foram avaliados em ratos *Wistar* que receberam dieta controle ou hipercolesterolêmica por 30 dias. Os animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica não apresentaram níveis séricos de colesterol significativamente maiores ($88,7 \pm 4,8$ mg/dL; n=10) que aqueles submetidos à dieta controle ($99,3 \pm 2,6$ mg/dL; n=12) (Figura 5).

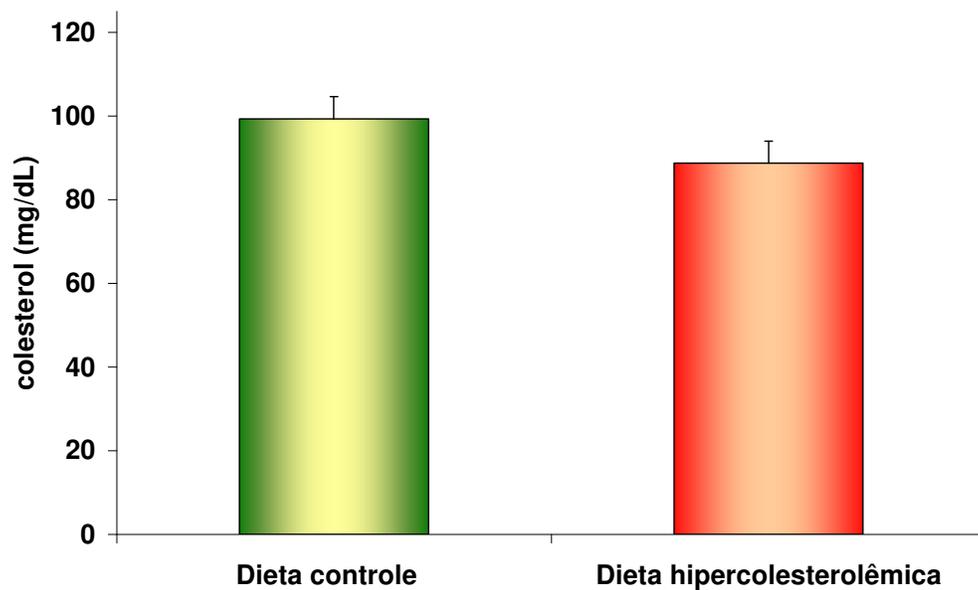


Figura 5 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos *Wistar* alimentados por 30 dias com dieta controle (n=12) ou hipercolesterolêmica (n=10). Valores expressos como média \pm EPM (erro padrão da média). Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

4.1.2 – Níveis séricos de colesterol em ratos normotensos ou hipertensos (2R1C) submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica por 60 dias

Os níveis séricos de colesterol (mg/dL) foram avaliados em ratos *Wistar* que completaram 60 dias em protocolo experimental (Figura 1). Após 30 dias recebendo dieta controle ou hipercolesterolêmica, os animais foram submetidos à cirurgia fictícia (sham) ou 2R1C de Goldblatt e continuaram a receber as respectivas dietas por mais 30 dias.

A Figura 6 apresenta os níveis séricos de colesterol em ratos normotensos (Sham) ou hipertensos (2R1C). Os animais que receberam a dieta hipercolesterolêmica apresentaram níveis séricos de colesterol ($45,9 \pm 18,5$ mg/dL; n=5, ShamHiper e $74,6 \pm 13,5$ mg/dL; n=4, 2R1CHiper) estatisticamente semelhante aos animais que receberam dieta controle ($54,4 \pm 21,6$ mg/dL; n=6, ShamCont e $50,6 \pm 17$ mg/dL; n=6, 2R1CCont). Os animais com hipertensão renovascular (cirurgia 2R1C) não apresentaram diferença significativa nos níveis de colesterol ($50,6 \pm 17,6$ mg/dL; n=5, 2R1CCont e $74,6 \pm 13,5$ mg/dL; n=4, 2R1CHiper) em comparação com os animais normotensos (sham) ($53,2 \pm 21,6$ mg/dL; n=6, ShamCont e $53,2 \pm 21,6$ mg/dL; n=5, ShamHiper). Não houve interação estatística entre a dieta (controle + hipercolesterolêmica) e a cirurgia (Sham + 2R1C).

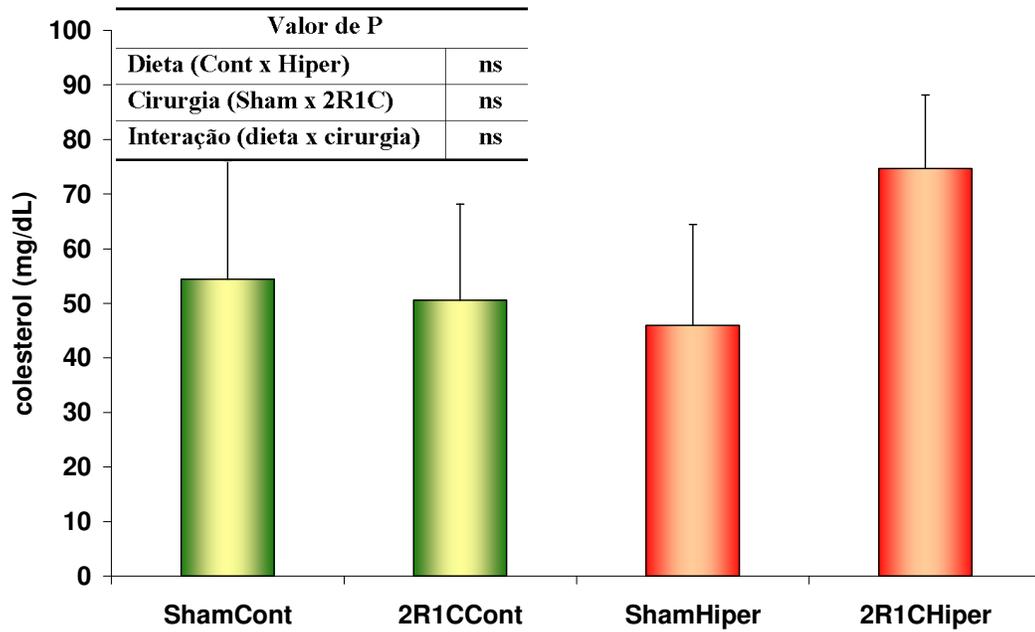


Figura 6 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos *Wistar* normotensos (Sham) ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=6 e 2R1CCont; n=5) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=5 e 2R1CHiper; n=4), por 60 dias. Valores expressos como média \pm DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

4.1.3 – Avaliação de parâmetros cardiovasculares em ratos *Wistar* normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica

4.1.3.1 - Níveis basais de Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC)

Os níveis basais de PAM (mmHg) e FC (bpm) estão representados na Figura 7 e na Figura 8, respectivamente. Como esperado, os animais submetidos à cirurgia 2R1C apresentaram PAM basal maior ($134,0 \pm 7,5$ mmHg; n=6, 2R1CCont e $135,4 \pm 14,9$ mmHg; n=5, 2R1CHiper) que os animais submetidos a cirurgia fictícia ($102,8 \pm 8,6$ mmHg; n=6, ShamCont e $98,1 \pm 7,6$ mmHg; n=5, ShamHiper). A dieta não modificou a PAM basal, assim, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica não apresentaram PAM significativamente diferente ($98,1 \pm 7,6$ mmHg; n=5, ShamHiper e $135,4 \pm 14,9$ mmHg; n=5, 2R1CHiper) da PAM dos animais que receberam dieta controle ($102,8 \pm 8,6$ mmHg; n=6, ShamCont e $134,0 \pm 7,5$ mmHg; n=6, 2R1CCont). Em relação à FC, os animais hipertensos (2R1C) apresentaram FC basal maior ($416,5 \pm 27,6$ bpm; n=6, 2R1CCont e $418,9 \pm 34,7$ bpm; n=5, 2R1CHiper) que os animais normotensos (sham) ($393,6 \pm 35,9$ bpm; n=6, ShamCont e $370,6 \pm 48$ bpm; n=5, ShamHiper). A dieta não modificou significativamente a FC basal. Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram FC basal estatisticamente semelhante ($370,6 \pm 48$ bpm; n=5, ShamHiper e $418,9 \pm 34,7$ bpm; n=5, 2R1CHiper) aos animais que receberam dieta controle ($393,6 \pm 35,9$ bpm; n=6, ShamCont e $416,5 \pm 27,6$ bpm; n=6, 2R1CCont) e não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão.

Uma vez que os ratos *Wistar* desenvolveram hipertensão renovascular, mas não desenvolveram hipercolesterolemia, estes animais não foram adequados para o modelo experimental proposto para este trabalho e por isso não foram avaliados quanto aos demais parâmetros.

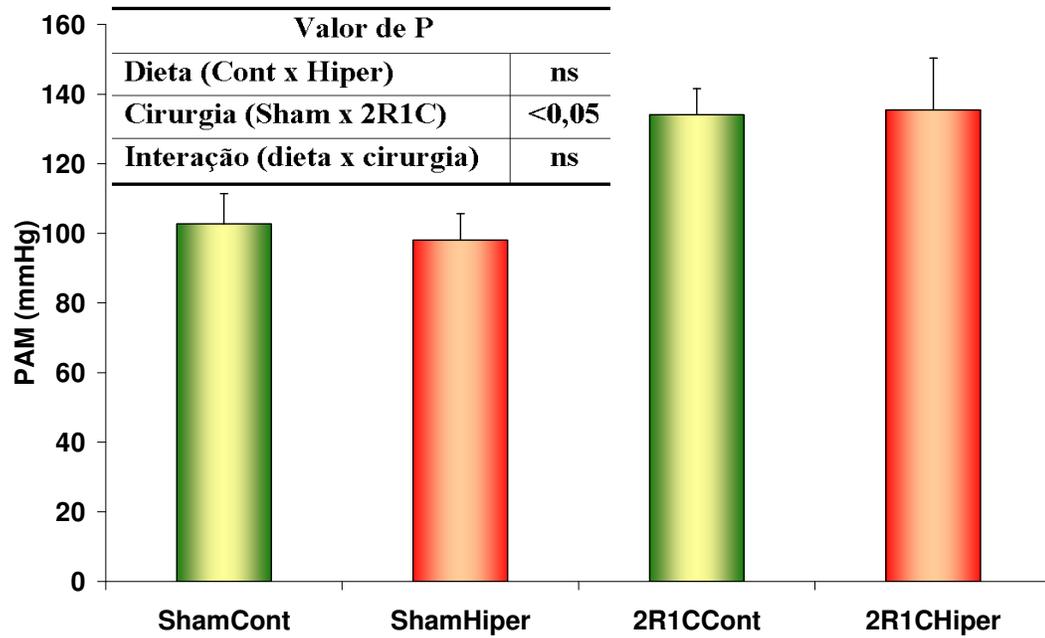


Figura 7 – Pressão Arterial Média basal (PAM) (mmHg) em ratos *Wistar* normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=6 e 2R1CCont; n=6) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=5 e 2R1CHiper; n=5). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

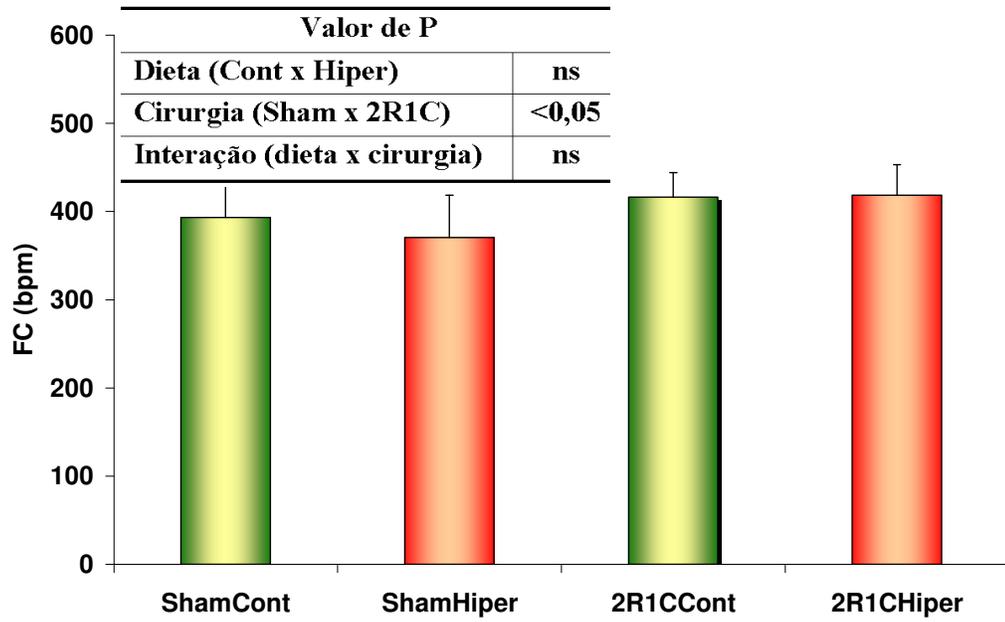


Figura 8 – Frequência Cardíaca basal (FC) (bpm) em ratos *Wistar* normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=6 e 2R1CCont; n=6) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=5 e 2R1CHiper; n=5). Valores expressos como média \pm DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

4.1.4 – Avaliação do peso corporal em ratos *Wistar* normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica

No início do experimento não foi observada diferença estatística entre os diferentes grupos em relação ao peso corporal.

Como mostrado na Tabela 2, a dieta não modificou o peso corporal final, de modo que, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram peso corporal final estatisticamente semelhante ($251,2 \pm 25,1$ g; n=5, ShamHiper e $235 \pm 32,5$ g; n=5, 2R1CHiper) aos animais que receberam dieta controle ($253,7 \pm 46,7$ g; n=6, ShamCont e $234,8 \pm 37,2$ g; n=7, 2R1CCont). Não houve diferença significativa no peso final dos animais com hipertensão renovascular quando comparado aos animais normotensos. Além disso, não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão.

A dieta não modificou o ganho de peso, de modo que, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram ganho de peso estatisticamente semelhante ($105,6 \pm 24,4$ g; n=5, ShamHiper e $95,6 \pm 25,9$ g; n=5, 2R1CHiper) aos animais que receberam dieta controle ($117,2 \pm 40,5$ g; n=6, ShamCont e $110,2 \pm 42,8$ g; n=6, 2R1CCont). A hipertensão não modificou significativamente o ganho de peso, desse modo, não houve diferença significativa no ganho de peso dos animais com hipertensão renovascular quando comparado aos animais normotensos. Além disso, não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão (2R1C).

Tabela 2 – Peso corporal inicial, peso corporal final e ganho de peso dos ratos *Wistar* normotensos (Sham) e hipertensos renais (2R1C), submetidos à dieta controle (Cont) ou hipercolesterolêmica (Hiper) por 60 dias.

Grupos / Ratos Fisher	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganho de peso (g)
ShamCont (n=6)	142,7 ± 4,3	253,7 ± 46,7	117,2 ± 40,5
ShamHiper (n=5)	145,6 ± 7,3	251,2 ± 25,1	105,6 ± 24,4
2R1CCont (n=6)	152,2 ± 8,9	234,8 ± 37,2	110,2 ± 42,8
2R1CHiper (n=5)	147,6 ± 7,7	235,0 ± 32,5	95,6 ± 25,9
Valor de P			
Dieta (controle x hiper)	ns	ns	ns
Cirurgia (sham x 2R1C)	ns	ns	ns
Interação (dieta x cirurgia)	ns	ns	ns

Valores expressos como média ± DPM; ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

4.2 – Resultados do experimento II (*Fisher*)

4.2.1 – Níveis séricos de colesterol em ratos *Fisher* submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica por 30 dias

Para avaliar o efeito da dieta hipercolesterolêmica em ratos *Fisher*, os níveis séricos de colesterol foram dosados. Os animais que receberam a dieta hipercolesterolêmica apresentaram níveis séricos de colesterol ($98,3 \pm 7,7$ mg/dL; n=14) significativamente maiores que os animais que receberam dieta controle ($76,5 \pm 5,0$ mg/dL; n=12) (Figura 9).

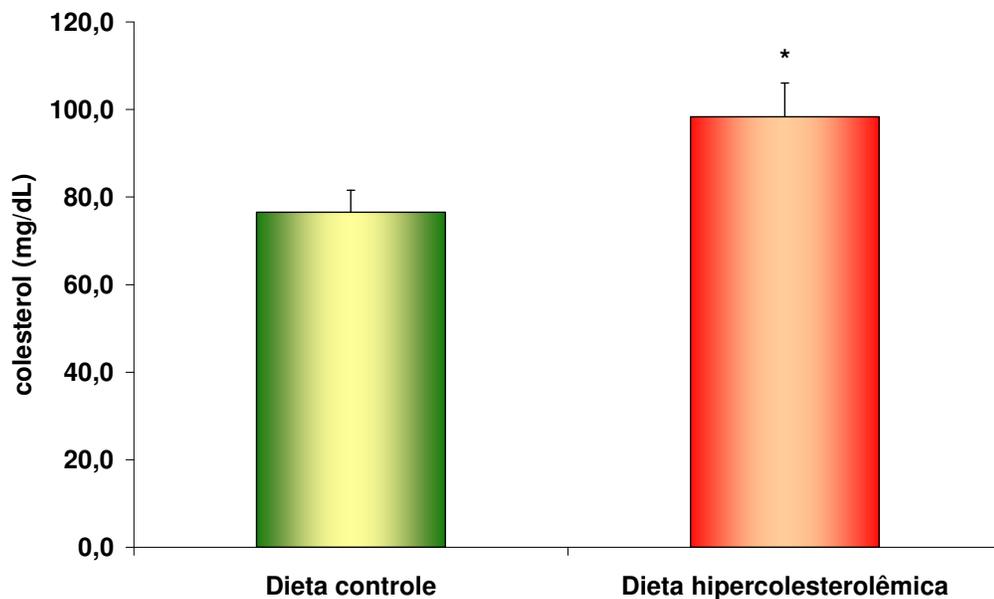


Figura 9 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos *Fisher* alimentados por 30 dias com dieta controle (n=12) ou hipercolesterolêmica (n=14). Valores expressos como médias \pm EPM. * $p < 0,05$ (teste t de *Student*).

4.2.2 – Níveis séricos de colesterol em ratos *Fisher* normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica por 60 dias

Os níveis séricos de colesterol (mg/dL) foram avaliados em ratos *Fisher* que completaram 60 dias em protocolo experimental (Figura 1, item 3.2), no qual, após 30 dias recebendo dieta controle ou hipercolesterolêmica, os animais foram submetidos a cirurgia fictícia ou 2R1C de Goldblatt e continuaram a receber as respectivas dietas por mais 30 dias.

Os animais que receberam a dieta hipercolesterolêmica apresentaram níveis séricos de colesterol significativamente maiores ($98,06 \pm 28,59$ mg/dL; n=7, ShamHiper e $100,11 \pm 25,47$ mg/dL; n=7, 2R1CHiper) que os animais que receberam dieta controle ($75,2 \pm 23,1$ mg/dL; n=5, ShamCont e $62,7 \pm 12,7$ mg/dL; n=7, 2R1CCont). No entanto, a hipertensão 2R1C não modificou os níveis séricos de colesterol. Os animais com hipertensão renovascular não apresentaram diferença significativa nos níveis de colesterol ($235 \pm 32,5$ g; n=5, 2R1CCont e $234,8 \pm 37,2$ g; n=7, 2R1CHiper) em comparação com os animais normotensos ($253,7 \pm 46,7$ g; n=6, ShamCont e $251,2 \pm 25,1$ g; n=5, ShamHiper) Além disso, não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão 2R1C. Estes resultados estão apresentados na Figura 10.

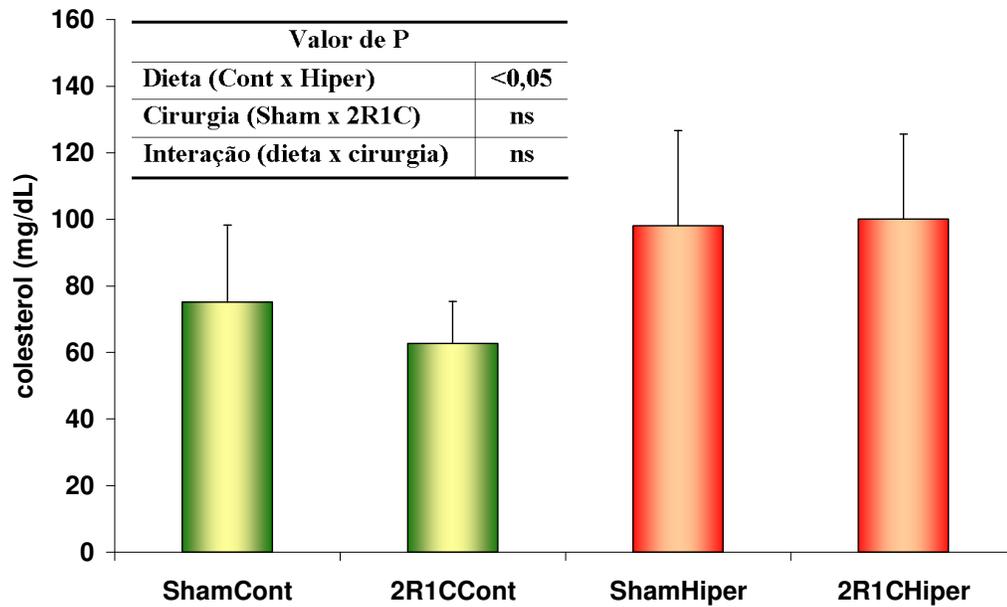


Figura 10 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos *Fisher* normotensos (Sham) ou hipertensos (2R1C), alimentados com dieta controle (ShamCont; n=5 e 2R1CCont; n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=7 e 2R1CHiper; n=7) por 60 dias. Valores expressos como média ± DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

4.2.3 – Avaliação da pressão arterial em ratos *Fisher* com hipertensão renal tipo 2 rins 1 clip (2R1C)

A medida indireta de PAM, obtida por plestimografia de cauda, foi utilizada para avaliar o desenvolvimento da hipertensão renal (2R1C de Goldblatt).

Os valores de pressão arterial média (PAM), obtidos por pletismografia de cauda, um dia antes da cirurgia para produção da hipertensão renal (2R1C) ou cirurgia fictícia (Sham) e 10, 20 e 30 dias após, estão apresentados na Tabela 3 e Figura 11.

Antes da cirurgia, nenhum dos grupos apresentou diferença significativa em relação a PAM. Como esperado, a cirurgia 2R1C modificou significativamente a PAM (mmHg), de modo que, os animais submetidos à cirurgia 2R1C já apresentaram aumento significativo da PAM ($116,4 \pm 14,1$ mmHg, n=7, 2R1CCont e $125,7 \pm 35,5$ mmHg, n=7, 2R1CHiper) em relação aos animais sham ($99,3 \pm 13,0$ mmHg, n=7, ShamCont e $100 \pm 5,8$ mmHg, n=7, ShamHiper) 10 dias após a cirurgia.

De maneira semelhante, após 20 dias, os animais submetidos à cirurgia 2R1C apresentaram aumento significativo da PAM ($137,9 \pm 34,4$ mmHg, n=7, 2R1CCont e $140 \pm 29,4$ mmHg, n=7, 2R1CHiper) em relação aos animais sham ($100 \pm 10,8$ mmHg, n=7, ShamCont e $101,4 \pm 11,1$ mmHg, n=7, ShamHiper). E finalmente, após 30 dias os animais submetidos à cirurgia 2R1C apresentaram aumento significativo da PAM ($154,3 \pm 26,8$ mmHg, n=7, 2R1CCont e $140,7 \pm 49,2$ mmHg, n=7, 2R1CHiper) em relação aos animais sham ($98,6 \pm 12,1$ mmHg, n=7, ShamCont e $98,6 \pm 16,3$ mmHg, n=7, ShamHiper).

A dieta hipercolesterolêmica por si só, no entanto, não modificou significativamente a PAM (mmHg) quando comparado à dieta controle em nenhuma das três medidas (10, 20 e 30 dias após a cirurgia).

Tabela 3 – Valores basais da PAM, obtidos por pletismografia, antes e após a cirurgia para produção de hipertensão renal (2R1C) ou cirurgia fictícia (Sham) em ratos *Fisher* submetidos à dieta controle (Cont) ou hipercolesterolêmica (Hiper) ao longo de 60 dias.

Grupos / Ratos <i>Fisher</i>	PAM (mmHg)	PAM (mmHg)	PAM (mmHg)	PAM (mmHg)
	1 dia antes da cirurgia	10 dias após cirurgia 2R1C	20 dias após cirurgia 2R1C	30 dias após cirurgia 2R1C
ShamCont (n=7)	107,9 ± 5,7	99,3 ± 13,0	100,0 ± 10,8	98,6 ± 12,1
ShamHiper (n=7)	95,7 ± 10,9	100,0 ± 5,8	101,4 ± 11,1	98,6 ± 16,3
2R1CCont (n=7)	98,6 ± 9,4	116,4 ± 14,1	137,9 ± 34,4	140,7 ± 49,2
2R1CHiper (n=7)	92,9 ± 5,7	125,7 ± 35,5	140,0 ± 29,4	154,3 ± 26,8
Valor de P				
Dieta (Cont x Hiper)	ns	ns	ns	ns
Cirurgia (Sham x 2R1C)	ns	<0,05	<0,05	<0,05
Interação (dieta x cirurgia)	ns	ns	ns	ns

Valores expressos como média ± DPM; ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

A figura 11 apresenta a evolução da PAM em ratos submetidos à cirurgia para produção de hipertensão renal (2R1C) ou à cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta controle (Cont) ou hipercolesterolêmica (Hiper). Os valores analisados no gráfico são referentes à Tabela 3. Os animais sham que receberam dieta controle (ShamCont) apresentaram a PAM antes da cirurgia (107,9 ± 5,7 mmHg; n=7) e após 10 (100 ± 10,8 mmHg; n=7), 20 (99,3 ± 13 mmHg; n=7) e 30 dias (98,6 ± 12,1 mmHg; n=7) estatisticamente semelhantes. Da mesma forma, os animais sham que receberam dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper) apresentaram a PAM antes da cirurgia (95,7 ± 10,9 mmHg; n=7) e após 10 (100 ± 5,8 mmHg; n=7), 20 (101,4 ± 11,1 mmHg; n=7) e 30 dias (98,6 ± 16,3 mmHg; n=7) estatisticamente semelhantes. O animais desses grupos foram considerados normotensos.

Os animais 2R1C que receberam dieta controle (2R1CCont) apresentaram PAM aos 10 (116,4 ± 14,1 mmHg; n=7) e aos 20 (137,9 ± 34,4 mmHg; n=7) após a cirurgia estatisticamente semelhantes a PAM antes da cirurgia (98,6 ± 9,4 mmHg; n=7) e apenas a PAM 30 dias após a cirurgia (143,6 ± 45,5 mmHg; n=7) foi significativamente maior que antes. Os animais 2R1C que receberam dieta hipercolesterolêmica (2R1CHiper)

apresentaram a PAM após 20 ($140 \pm 29,4$ mmHg; n=7) e 30 dias ($154,3 \pm 26,8$ mmHg; n=7) significativamente maiores que antes da cirurgia ($92,9 \pm 5,7$ mmHg; n=7).

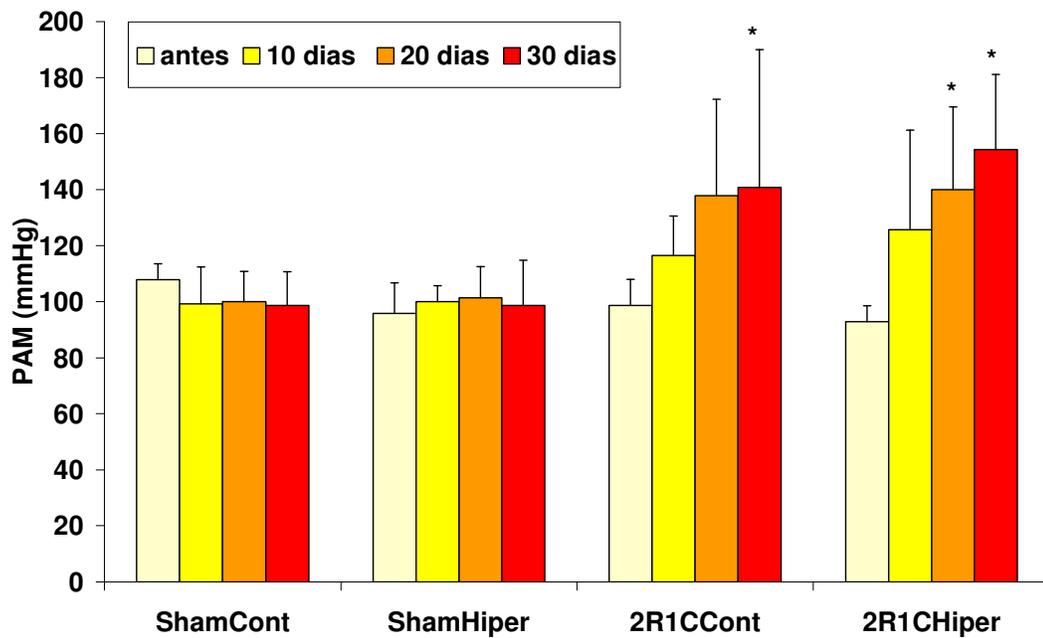


Figura 11 - Evolução da pressão arterial média (PAM) em ratos *Fisher* submetidos à cirurgia para produção de hipertensão renal (2R1C) ou cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta controle (ShamCont, n=7; 2R1CCont, n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7; 2R1CHiper, n=7). Valores obtidos por pletismografia um dia antes da cirurgia e 10, 20 e 30 dias após. * p < 0,05 em relação à PAM antes da cirurgia 2R1C. ANOVA *one-way*.

4.2.4 – Avaliação do peso seco do coração, rim esquerdo e rim direito em relação ao peso corporal (g/ 100 g do peso corporal)

Em animais submetidos ao modelo de hipertensão renal (2R1C), a avaliação do peso dos rins é uma forma de confirmar a estenose da artéria renal (rim clipado) e a hiperfunção compensatória do rim contralateral (rim não-clipado).

A Figura 12 mostra uma foto do rim esquerdo e do rim direito de um animal normotenso (Sham) (A) e uma foto do rim esquerdo (clipado) e rim direito (não clipado) de um animal com hipertensão renovascular (2R1C) (B).

A cirurgia 2R1C modificou significativamente o peso relativo do rim esquerdo (clipado). Os animais com hipertensão renovascular apresentaram rim esquerdo (clipado) estatisticamente menor ($0,058 \pm 0,01$; $n=7$, 2R1CCont e $0,056 \pm 0,011$; $n=7$, 2R1CHiper) que os animais submetidos à cirurgia fictícia ($0,069 \pm 0,007$; $n=7$, ShamCont e $0,07 \pm 0,008$; $n=7$, ShamHiper). A dieta não modificou o peso relativo do rim esquerdo (clipado), portanto, os animais submetidos à dieta controle não apresentaram diferença significativa no rim esquerdo em relação aos animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica. Não houve interação entre a dieta e a cirurgia para o peso relativo do rim esquerdo (Figura 13).

O rim direito (não clipado) dos animais com hipertensão renovascular foi estatisticamente maior ($0,082 \pm 0,013$; $n=7$, 2R1CCont e $0,074 \pm 0,01$; $n=7$, 2R1CHiper) que o rim direito (não clipado) dos animais normotensos ($0,069 \pm 0,005$; $n=7$, ShamCont e $0,07 \pm 0,004$; $n=7$, ShamHiper). A dieta não alterou o peso relativo do rim direito (não clipado). Não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão (Figura 13).

Os animais com hipertensão 2R1C obtiveram valores maiores de peso relativo do coração ($0,082 \pm 0,007$; $n=7$, 2R1CCont e $0,078 \pm 0,005$; $n=7$, 2R1CHiper) que os animais normotensos ($0,063 \pm 0,003$; $n=7$, ShamCont e $0,064 \pm 0,007$; $n=7$, ShamHiper). A dieta não modificou o peso relativo do coração. Não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão 2R1C (Figura 14).

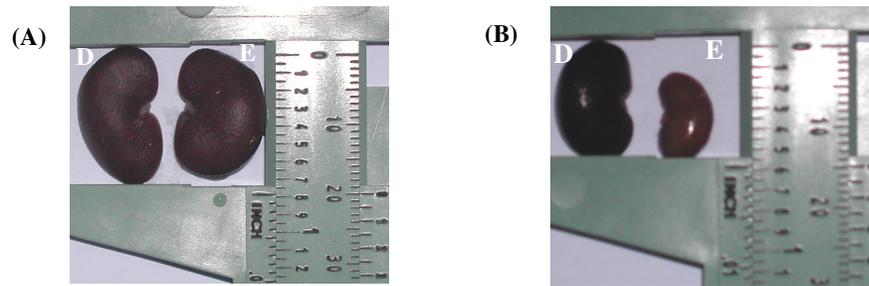


Figura 12 – (A) Rim esquerdo (E) e rim direito (D) de um animal normotenso (Sham). (B) Rim E (clipado) e rim D (não clipado) de um animal com hipertensão renovascular (2R1C).

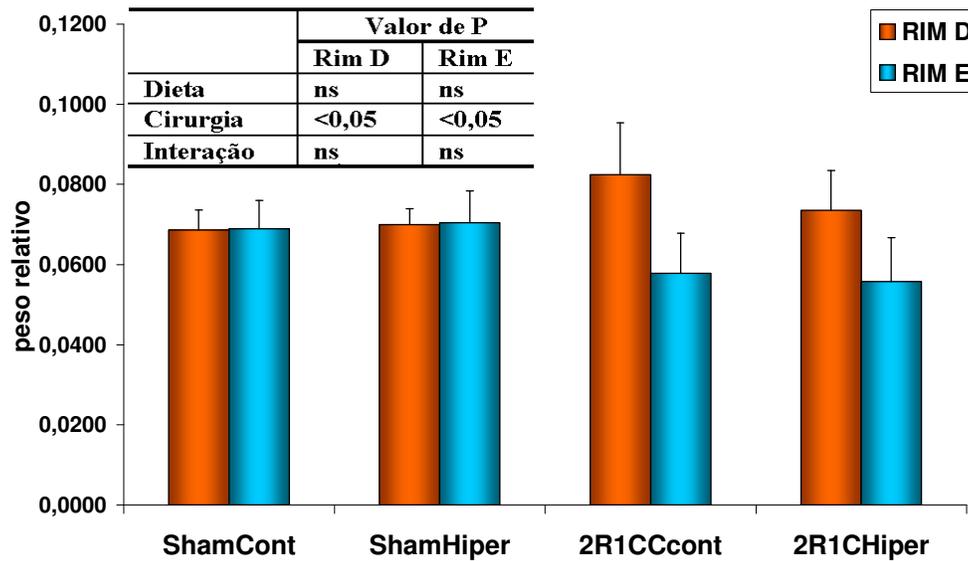


Figura 13 – Peso seco relativo de rim esquerdo (E – clipado) e rim direito (D – não clipado) em ratos *Fisher* normotensos (sham) ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont, n=7 e 2R1CCcont, n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7 e 2R1CHiper, n=7). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, p> 0,05.

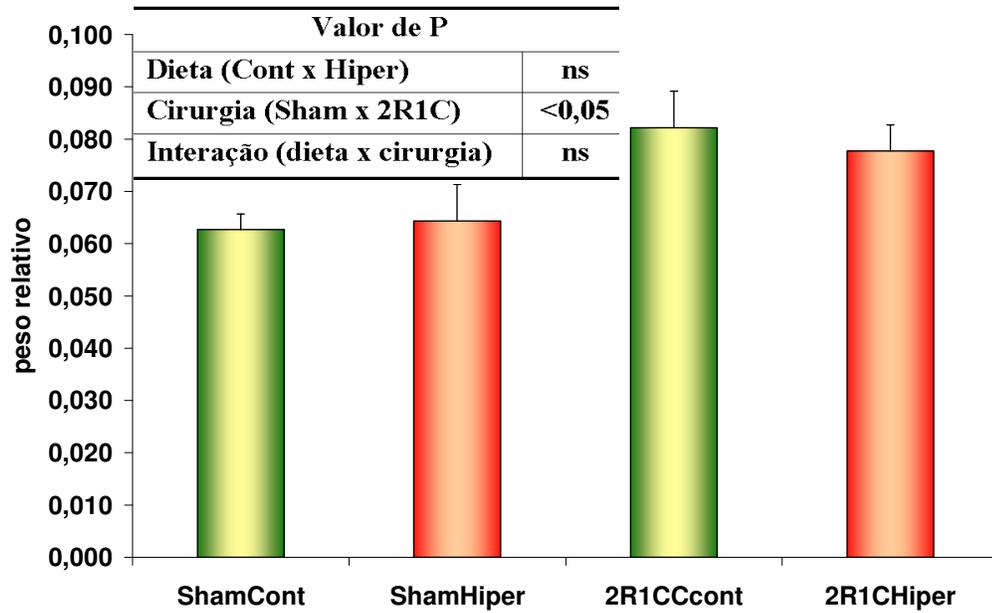


Figura 14 - Peso seco relativo do coração de ratos *Fisher* normotensos (sham) e hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont, n=7 e 2R1Ccont, n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7 e 2R1CHiper, n=7). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, p> 0,05.

4.2.5 – Avaliação dos Parâmetros Cardiovasculares em ratos *Fisher* normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta hipercolesterolêmica

4.2.5.1 – Níveis basais de Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC)

Os níveis basais de PAM (mmHg) e FC (bpm), obtidos por método direto, estão representados na Figura 15 e na Figura 16, respectivamente. Como esperado, os animais submetidos à cirurgia 2R1C apresentaram PAM basal maior ($142,2 \pm 9,7$ mmHg; n=7, 2R1CCont e $143,8 \pm 12$ mmHg; n=7, 2R1CHiper) que os animais submetidos à cirurgia fictícia ($101,4 \pm 10,5$ mmHg; n=7, ShamCont e $99,5 \pm 11,1$ mmHg; n=7, ShamHiper). Entretanto, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica não apresentaram PAM significativamente diferente ($99,5 \pm 11,1$ mmHg; n=7, ShamHiper e $143,8 \pm 12$ mmHg; n=7, 2R1CHiper) da PAM dos animais que receberam dieta controle ($101,4 \pm 10,5$ mmHg; n=7, ShamCont e $142,2 \pm 9,7$ mmHg; n=7, 2R1CCont).

Diferente da pletismografia, esta é uma medida direta de PAM e é obtida em ratos anestesiados com uretana. Porém, não houve diferença estatística ($p > 0,05$, test t de *Student* pareado) entre a medida direta (transdutor) e indireta (pletismografia) em nenhum dos grupos (ShamCont, ShamHiper, 2R1CCont e 2R1CHiper).

Em relação à FC basal, os grupos submetidos à cirurgia 2R1C apresentaram FC basal maior ($449,4 \pm 39$ bpm; n=7, 2R1CCont e $464,0 \pm 29,8$ bpm; n=7, 2R1CHiper) que os grupos submetidos à cirurgia fictícia ($401,7 \pm 35,8$ bpm; n=7, ShamCont e $378,1 \pm 32,6$ bpm; n=7, ShamHiper). A dieta não modificou a FC basal significativamente. Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram FC basal estatisticamente semelhante ($378,1 \pm 32,6$ bpm; n=7, ShamHiper e $464,0 \pm 29,8$ bpm; n=7, 2R1CHiper) aos animais que receberam dieta controle ($401,7 \pm 35,8$ bpm; n=7, ShamCont e $449,4 \pm 39$ bpm; n=7, 2R1CCont) e não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão 2R1C.

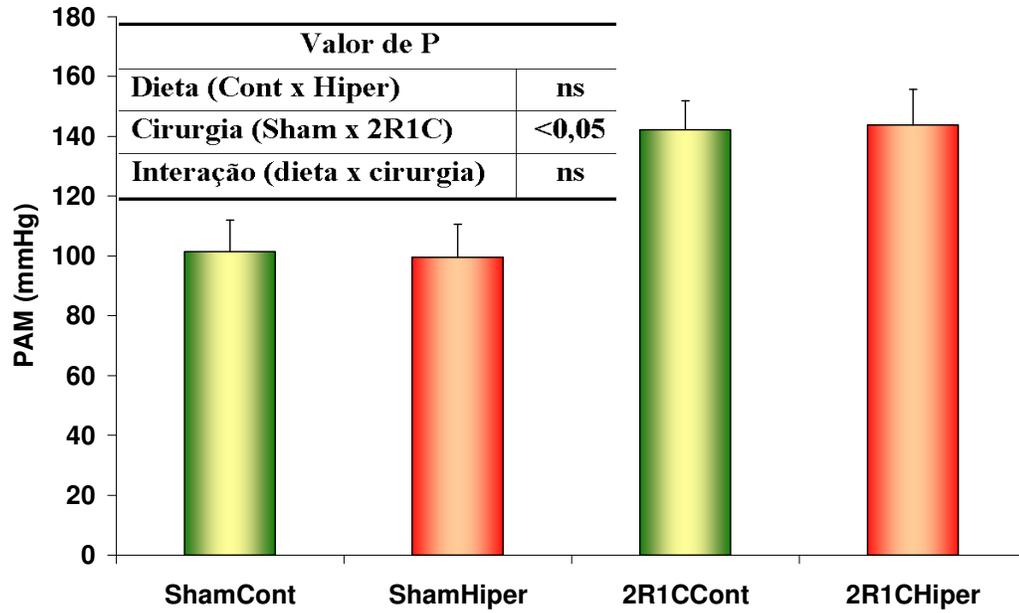


Figura 15 – Pressão Arterial Média basal (mmHg) em ratos *Fisher* normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=7 e 2R1CCont; n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=7 e 2R1CHiper; n=7). Valores expressos como média \pm DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

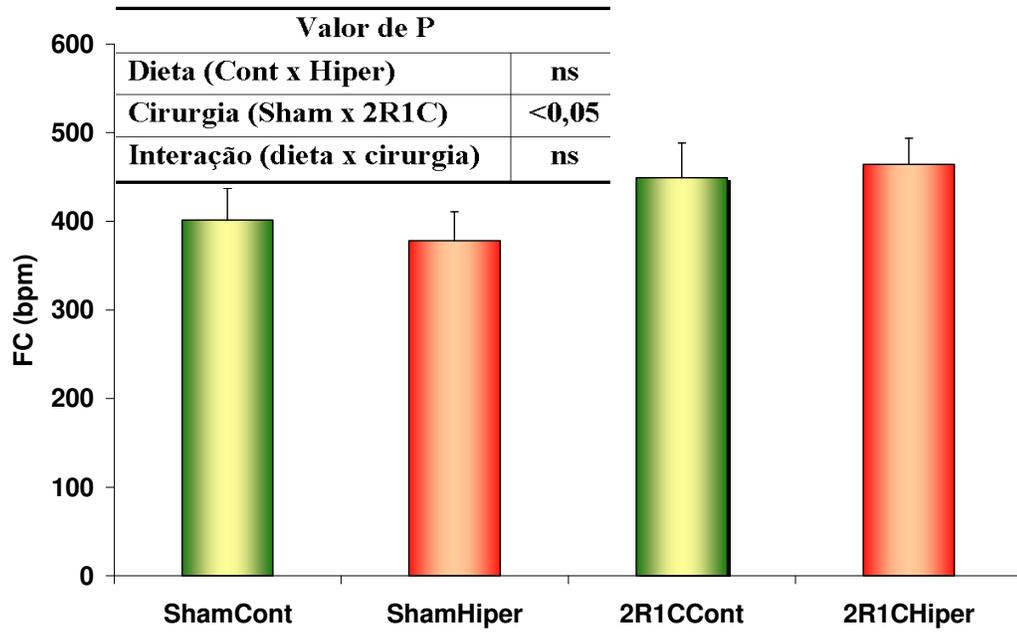


Figura 16 – FC basal (bpm) de ratos *Fisher* normotensos ou hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle (ShamCont; n=7 e 2R1CCont; n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper; n=7 e 2R1CHiper; n=7). Valores expressos como médias ± DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, p > 0,05.

4.2.5.2 – Avaliação da Bradicardia Reflexa

Para determinação da sensibilidade do Barorreflexo, os componentes Bradicárdicos e Taquicárdicos foram avaliados por regressão linear. Na avaliação da Bradicardia Reflexa, a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear é apresentada no quadro A das figuras 18, 19, 20 e 21. O quadro B das figuras mostra o *slope* (coeficiente de regressão), que representa a sensibilidade do barorreflexo.

A figura 17 é parte de um registro gerado pelo software *Chart for Windows®* que reproduz as variações de PAM e FC utilizadas na análise.

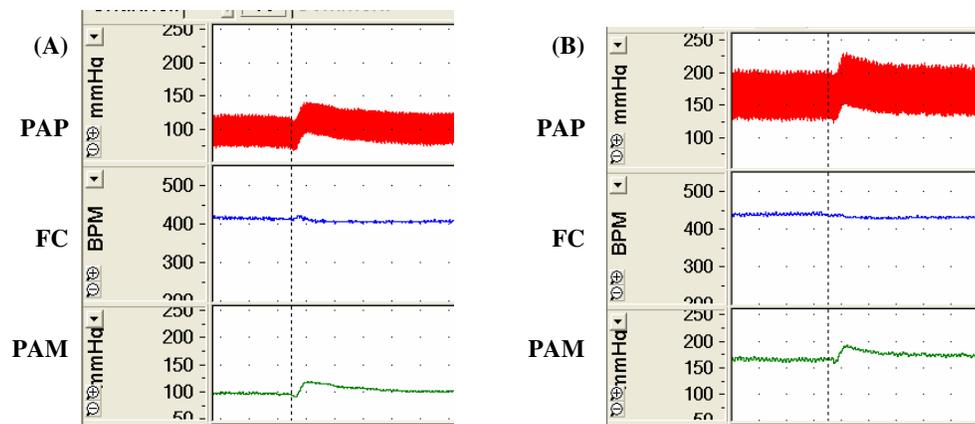


Figura 17 – Registro típico mostrando o efeito da infusão endovenosa de uma dose de fenilefrina em rato normotenso (Sham) (A) e em rato com hipertensão renovascular (2R1C) (B). PAM (pressão arterial pulsátil), FC (frequência cardíaca) e PAM (pressão arterial média).

Como esperado, os animais 2R1C submetidos à dieta controle apresentaram coeficiente de regressão (*slope*) estatisticamente menor ($-0,4811 \pm 0,07362$; $n=6$, 2R1CCont) que os animais sham submetidos à dieta controle ($-0,9729 \pm 0,1257$; $n=7$, ShamCont) (Figura 18 B). De maneira semelhante, os animais 2R1C que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram o coeficiente de regressão linear (*slope*) significativamente menor ($-0,5366 \pm 0,09766$; $n=6$, 2R1CHiper) que os animais sham que receberam dieta hipercolesterolêmica ($-1,318 \pm 0,2173$; $n=6$, ShamHiper) (Figura 19 B). Ou seja, os animais 2R1C apresentaram sensibilidade bradicárdica menor que os animais sham.

Bradicardia Reflexa

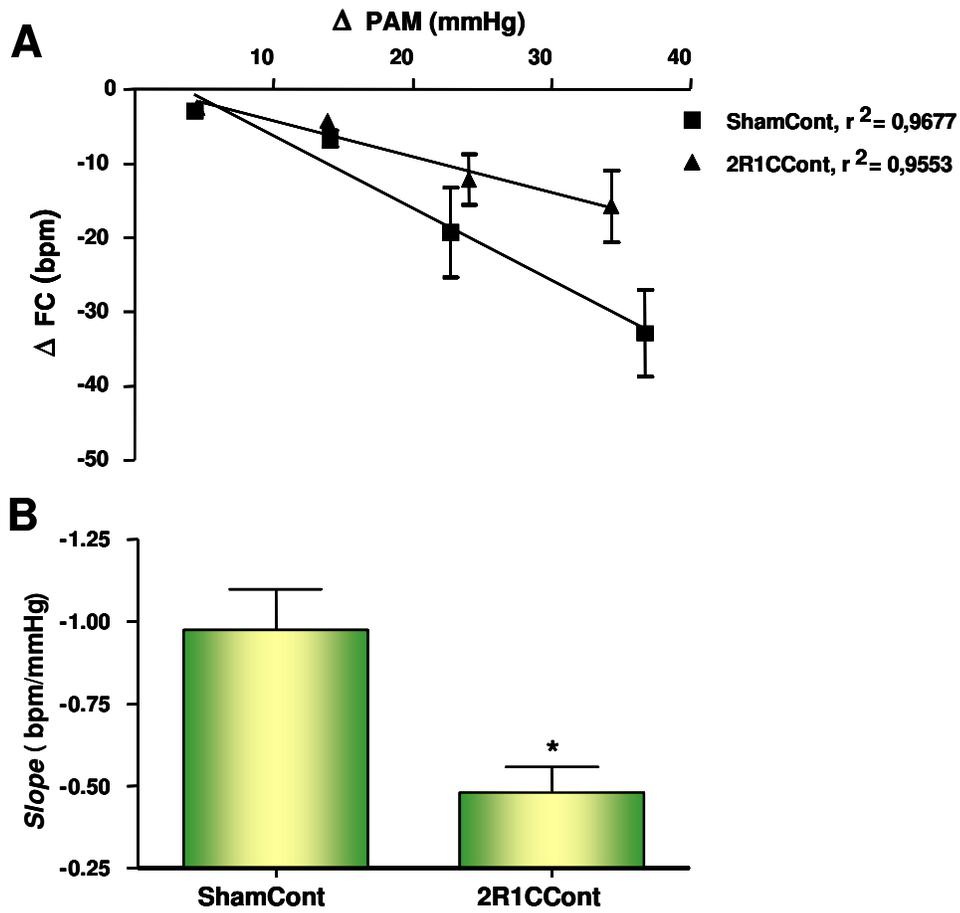


Figura 18 – Alterações reflexas da Freqüência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos ShamCont (n=7) e 2R1CCont (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (slope) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de Student, * $p < 0,05$.

Bradycardia Reflexa

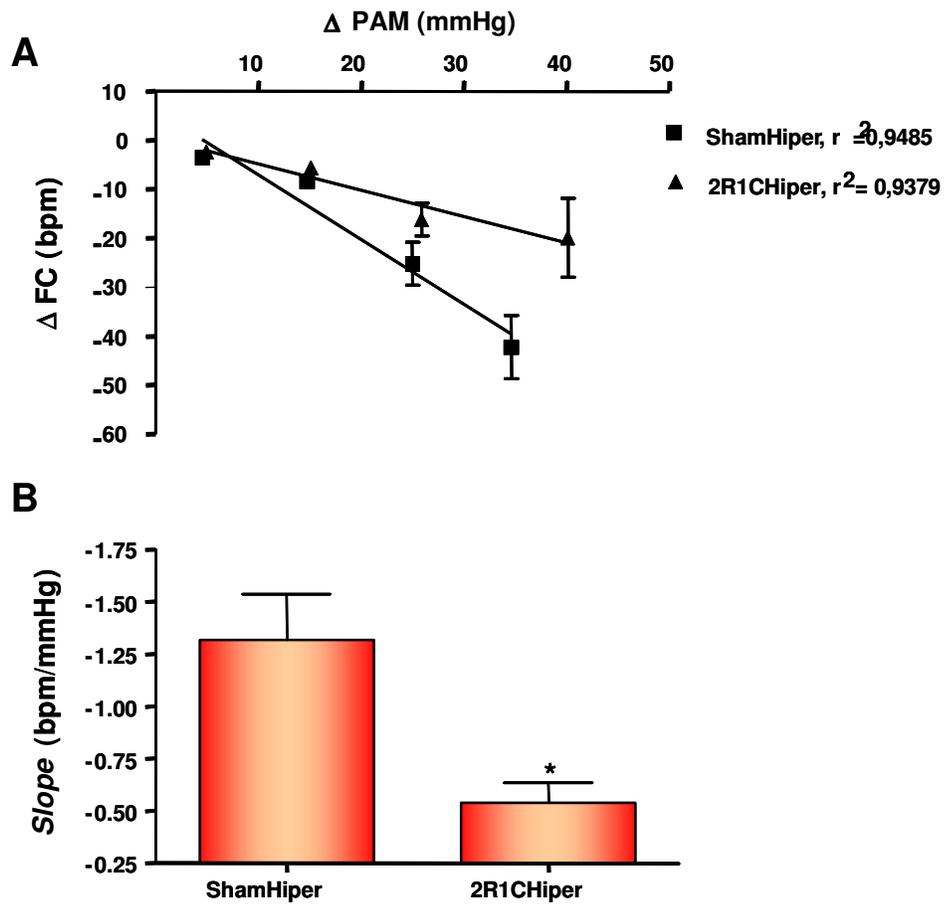


Figura 19 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos ShamHiper (n=6) e 2R1CHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, * p < 0,05.

O *slope* dos animais sham submetidos à dieta hipercolesterolêmica não apresentou diferença estatística ($-1,318 \pm 0,273$; n=6, ShamHiper) quando comparado ao *slope* dos animais sham submetidos à dieta controle ($-0,9729 \pm 0,1257$; n=7, ShamCont) (Figura 20 B). Os animais 2R1C submetidos à dieta hipercolesterolêmica também não apresentaram diferença significativa ($-0,5366 \pm 0,09766$; n=6, 2R1CHiper) em relação ao *slope* dos animais 2R1C submetidos à dieta controle ($-0,4811 \pm 0,07362$; n=6, 2R1CCont) (Figura 21 B). Ou seja, os animais hipercolesterolêmicos não apresentaram sensibilidade bradicárdica diferente dos animais normocolesterolêmicos.

Bradicardia Reflexa

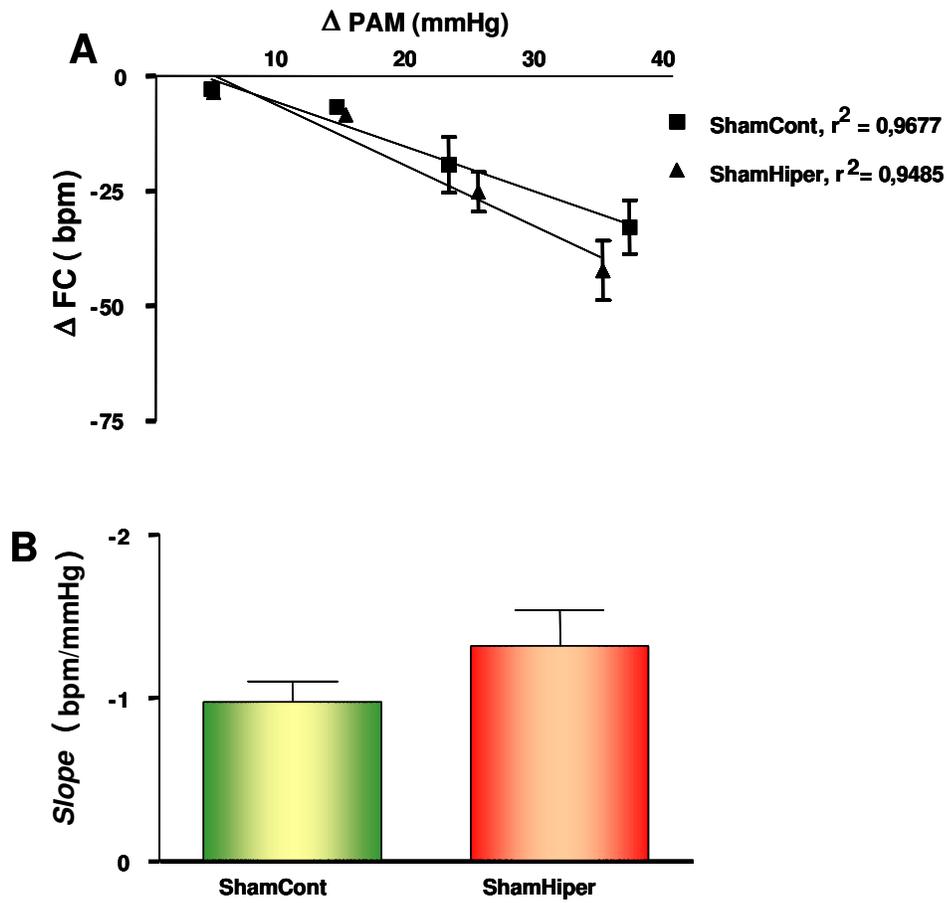


Figura 20 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos ShamCont (n=7) e ShamHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

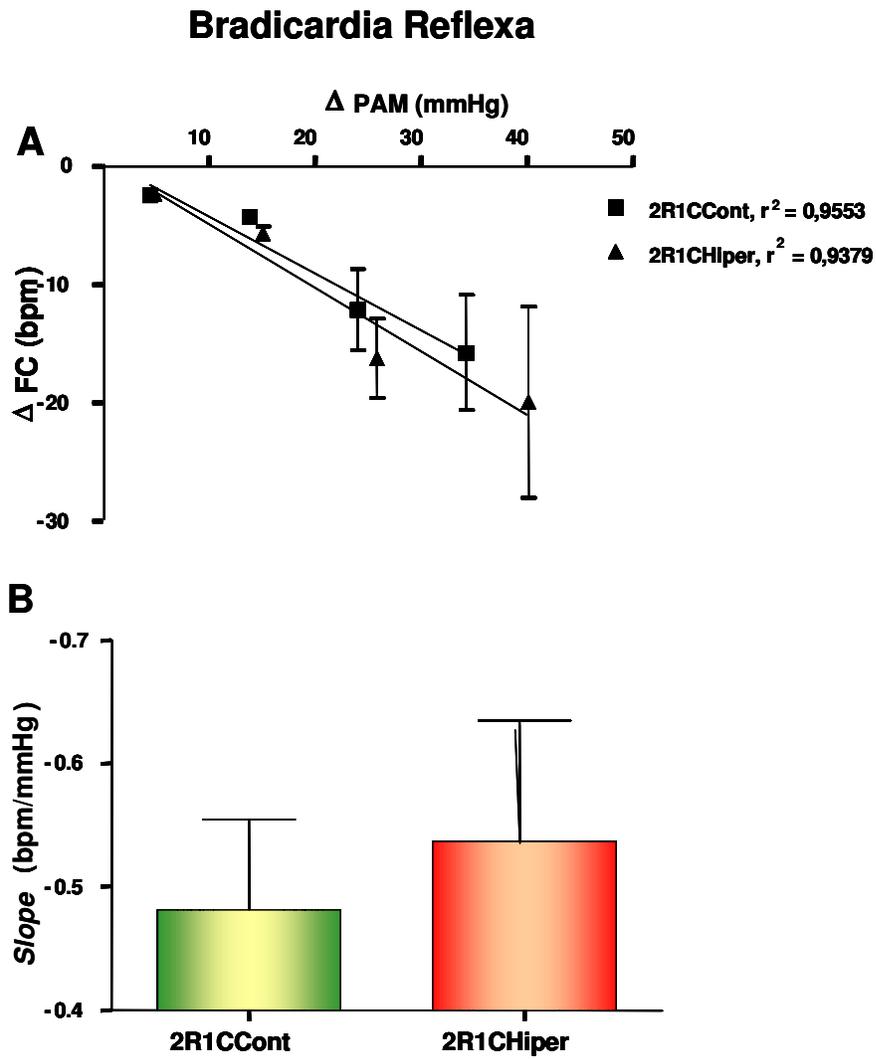


Figura 21 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos 2R1CCont (n=6) e 2R1CHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; $r^2 =$ coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (slope) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

4.2.5.3 – Avaliação da Taquicardia Reflexa

Na avaliação da Taquicardia Reflexa, a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear é apresentada no quadro A das figuras 23, 24, 25 e 26. O quadro B das figuras mostra o *slope*, que representa a sensibilidade do barorreflexo.

A figura 22 é parte de um registro gerado pelo software *Chart for Windows®* que reproduz as variações de PAM e FC utilizadas na análise.

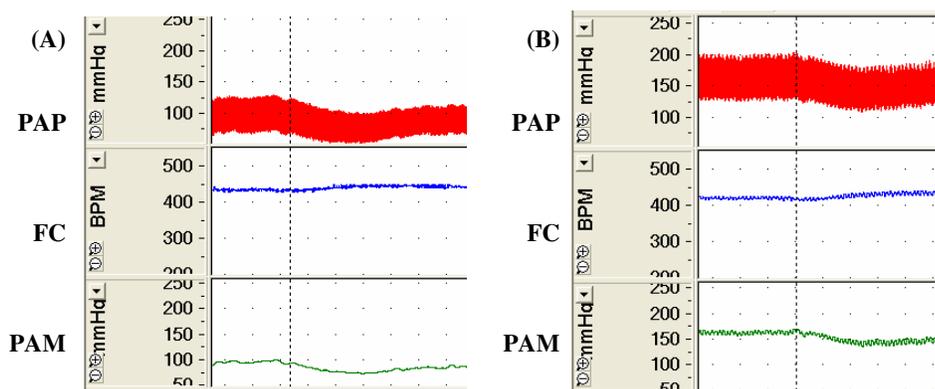


Figura 22 – Registro típico mostrando o efeito da infusão endovenosa de uma dose de nitroprussiato de sódio em rato normotenso (Sham) (A) e em rato com hipertensão renovascular (2R1C) (B). PAP (pressão arterial pulsátil), FC (frequência cardíaca) e PAM (pressão arterial média).

O coeficiente de regressão (*slope*) dos animais 2R1C submetidos à dieta controle não apresenta diferença significativa ($-0,4175 \pm 0,08182$; $n=6$, 2R1CCont) em relação aos animais sham submetidos à dieta controle ($-0,4752 \pm 0,0547$; $n=7$, ShamCont) (Figura 23 B). Da mesma forma, os animais 2R1C submetidos à dieta hipercolesterolêmica apresentaram o *slope* estatisticamente semelhante ($-0,5145 \pm 0,0533$; $n=6$, 2R1CHiper) aos animais sham submetidos à dieta hipercolesterolêmica ($-0,4987 \pm 0,1654$; $n=6$, ShamHiper) (Figura 24 B). Portanto, na avaliação da Taquicardia Reflexa realizada neste experimento, não foram encontradas diferenças significativas entre os animais com hipertensão renovascular e os animais normotensos.

Taquicardia Reflexa

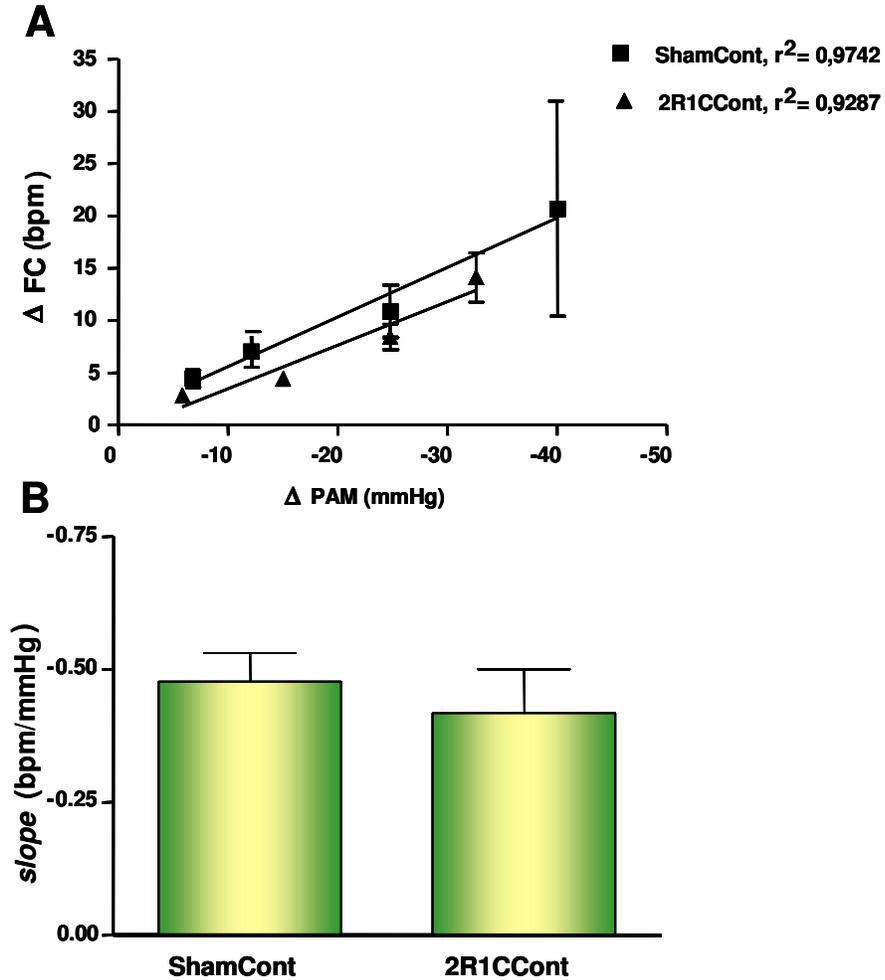


Figura 23 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos ShamCont (n=7) e 2R1CCont (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (slope) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de Student, $p > 0,05$.

Taquicardia Reflexa

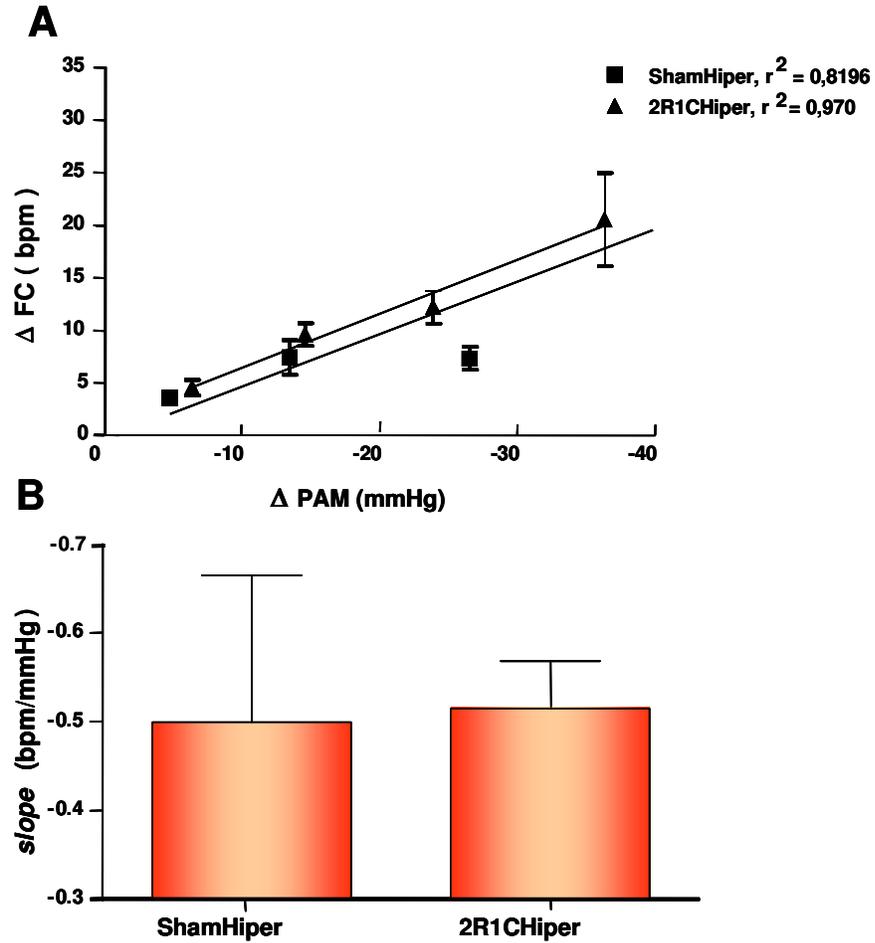


Figura 24 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos ShamHiper (n=6) e 2R1CHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

O coeficiente de regressão (*slope*) dos animais sham submetidos à dieta hipercolesterolêmica não apresentou diferença estatística ($-0,4987 \pm 0,1654$; n=6, ShamHiper) quando comparado aos animais sham submetidos à dieta controle ($-0,4752 \pm 0,0547$; n=7, ShamCont) (Figura 25 B). Os animais 2R1C submetidos à dieta hipercolesterolêmica ($-0,5145 \pm 0,0533$; n=6, 2R1CHiper) e os animais 2R1C submetidos à dieta controle ($-0,4175 \pm 0,08182$; n=6, 2R1CCont) também não apresentaram diferença significativa em relação ao coeficiente de regressão (*slope*) (Figura 26 B). Dessa forma, não foram encontradas diferenças significativas entre os animais que receberam dieta controle e aqueles que receberam dieta hipercolesterolêmica, quando avaliada a Taquicardia Reflexa no presente estudo.

Taquicardia Reflexa

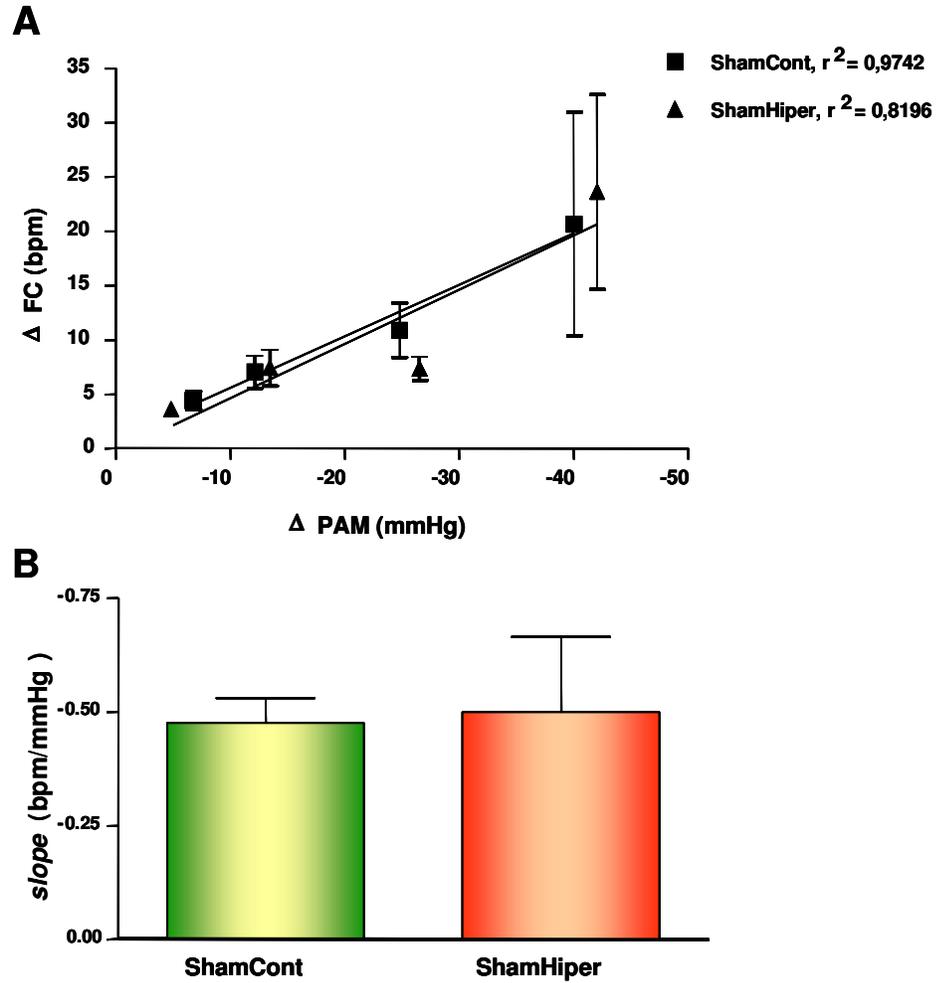


Figura 25 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos ShamCont (n=7) e ShamHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

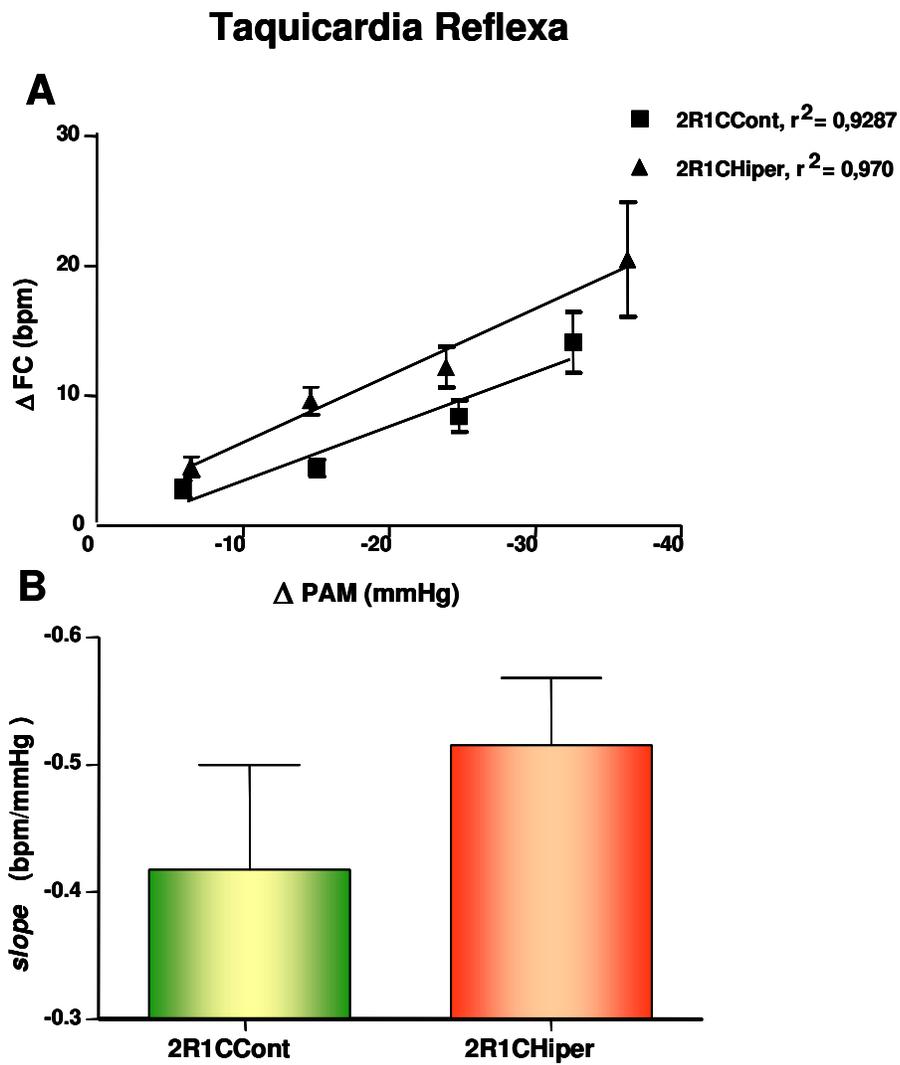


Figura 26 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arteriais Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos 2R1CCont (n=6) e 2R1CHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; $r^2 =$ coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

4.2.6 – Avaliação do peso corporal e peso do fígado em ratos *Fisher* normotensos e hipertensos (2R1C), submetidos à dieta controle ou hipercolesterolêmica

No início do experimento, o peso dos animais dos diferentes grupos não apresentou diferença significativa (Tabela 4).

A dieta não modificou o peso corporal final, de modo que, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram peso corporal final estatisticamente semelhante ($270,9 \pm 70,3$ g; n=7, ShamHiper e $265 \pm 82,2$ g; n=7, 2R1CHiper) aos animais que receberam dieta controle ($298 \pm 42,4$ g; n=7, ShamCont e $226,4 \pm 54,5$ g; n=7, 2R1CCont). A hipertensão 2R1C não modificou significativamente o peso corporal final, desse modo, não houve diferença significativa no peso final dos animais com hipertensão renovascular ($226,4 \pm 54,5$ g; n=7, 2R1CCont e $265 \pm 82,2$ g; n=7, 2R1CHiper) quando comparado aos animais normotensos ($298 \pm 42,4$ g; n=7, ShamCont e $270,9 \pm 70,3$ g; n=7, ShamHiper). Além disso, não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão (Tabela 4).

A dieta não modificou o ganho de peso, de modo que, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram ganho de peso estatisticamente semelhante ($139,6 \pm 43,6$ g; n=7, ShamHiper e $139,7 \pm 60,4$ g; n=7, 2R1CHiper) aos animais que receberam dieta controle ($165,3 \pm 23,9$ g; n=7, ShamCont e $114,7 \pm 36,4$ g; n=7, 2R1CCont). Não houve diferença significativa no ganho de peso dos animais com hipertensão renovascular ($114,7 \pm 36,4$ g; n=7, 2R1CCont e $139,7 \pm 60,4$ g; n=7, 2R1CHiper) quando comparado aos animais normotensos ($165,3 \pm 23,9$ g; n=7, ShamCont e $139,6 \pm 43,6$ g; n=7, ShamHiper) e não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão (Tabela 4).

Tabela 4 – Peso corporal inicial, peso corporal final e ganho de peso dos ratos *Fisher* com hipertensão renal (2R1C) ou normotensos (Sham), alimentados com uma dieta controle (ShamCont e 2R1CCont) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper e 2R1CHiper).

Grupos / Ratos <i>Fisher</i>	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganho de peso final (g)
ShamCont (n=7)	133,4 ± 26,5	298,0 ± 42,4	165,3 ± 23,9
ShamHiper (n=7)	128,3 ± 27,5	270,9 ± 70,3	139,6 ± 43,6
2R1CCont (n=7)	111,7 ± 26,5	226,4 ± 54,5	114,7 ± 36,4
2R1CHiper (n=7)	125,3 ± 24,7	265,0 ± 82,2	139,7 ± 60,4
Valor de P			
Dieta (controle x hiper)	ns	ns	ns
Cirurgia (sham x 2R1C)	ns	ns	ns
Interação (dieta x cirurgia)	ns	ns	ns

Valores expressos como média ± DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

O peso do fígado foi avaliado em relação ao peso corporal (g/100g do peso corporal) e o resultado foi apresentado na Figura 28. A dieta modificou o peso relativo do fígado, de modo que, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram um aumento no peso relativo do fígado ($1,85 \pm 0,17$; $n=7$, ShamHiper e $1,94 \pm 0,26$; $n=7$, 2R1CHiper) quando comparado aos grupos que receberam dieta controle ($0,81 \pm 0,08$; $n=7$, ShamCont e $0,89 \pm 0,11$; $n=7$, 2R1CCont). Foi observada também uma diferença na coloração do fígado dos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica, denotando um aspecto estético, como pode ser observado na Figura 27. Não houve diferença significativa no peso relativo do fígado dos animais com hipertensão renovascular ($0,89 \pm 0,11$; $n=7$, 2R1CCont e $1,94 \pm 0,26$; $n=7$, 2R1CHiper) quando comparado aos animais normotensos ($0,81 \pm 0,08$; $n=7$, ShamCont e $1,85 \pm 0,17$; $n=7$, ShamHiper). Além disso, não houve interação estatística entre a dieta e a hipertensão 2R1C.

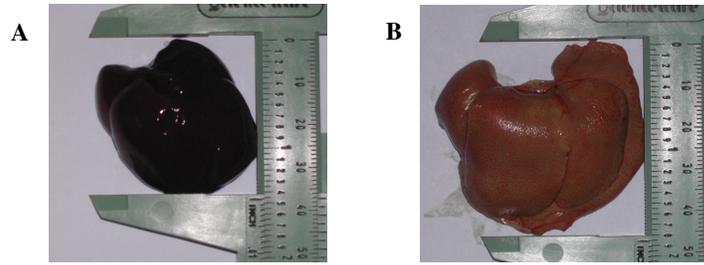


Figura 27 – Foto ilustrativa de (A) Fígado de animal alimentado com dieta controle; (B) Fígado de animal alimentado com dieta hipercolesterolêmica.

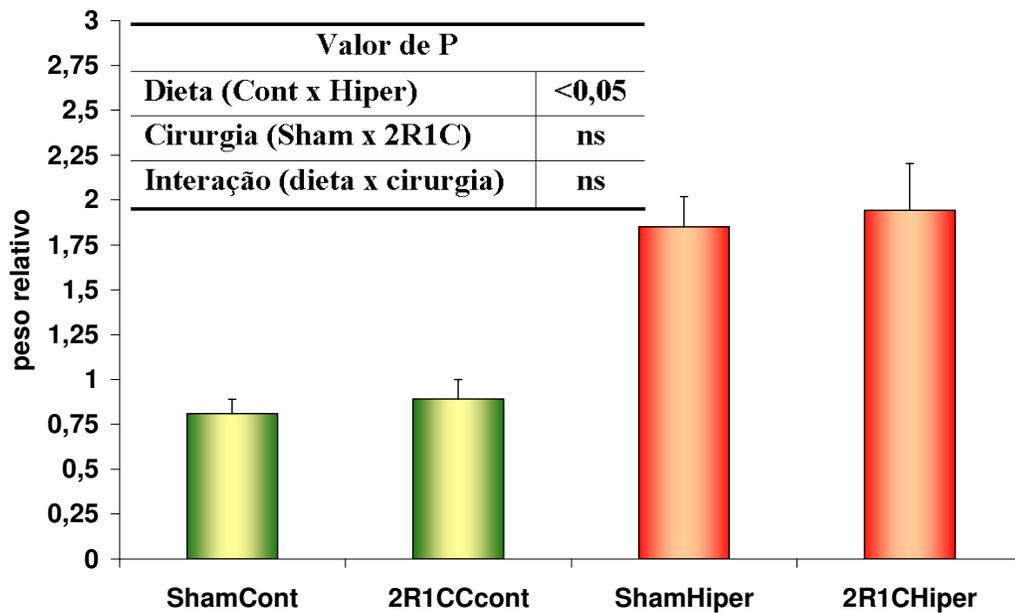


Figura 28 - Peso seco relativo de fígado de ratos *Fisher* normotensos (Sham) e hipertensos (2R1C) submetidos à dieta controle (ShamCont, n=7 e 2R1CCont, n=7) ou hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7 e 2R1CHiper, n=7). Valores expressos como média ± DPM. ANOVA *two-way*, ns = não significativo, $p > 0,05$.

4.3 – Resultados do experimento III (*Fisher*)

4.3.1 – Níveis séricos de colesterol em ratos *Fisher* submetidos à dieta controle, hipercolesterolêmica ou hipercolesterolêmica com 0,3% de DS (deoxicolato de sódio) por 30 dias

Para avaliar o efeito da dieta hipercolesterolêmica com DS em ratos *Fisher*, os níveis séricos de colesterol foram dosados e comparados com os níveis obtidos em animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica sem DS. Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica com 0,3% de DS apresentaram níveis séricos de colesterol ($138,1 \pm 11,97$ mg/dL, n=9) estatisticamente semelhantes aos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica sem DS ($114,7 \pm 10,79$ mg/dL, n=7) (Figura 29).

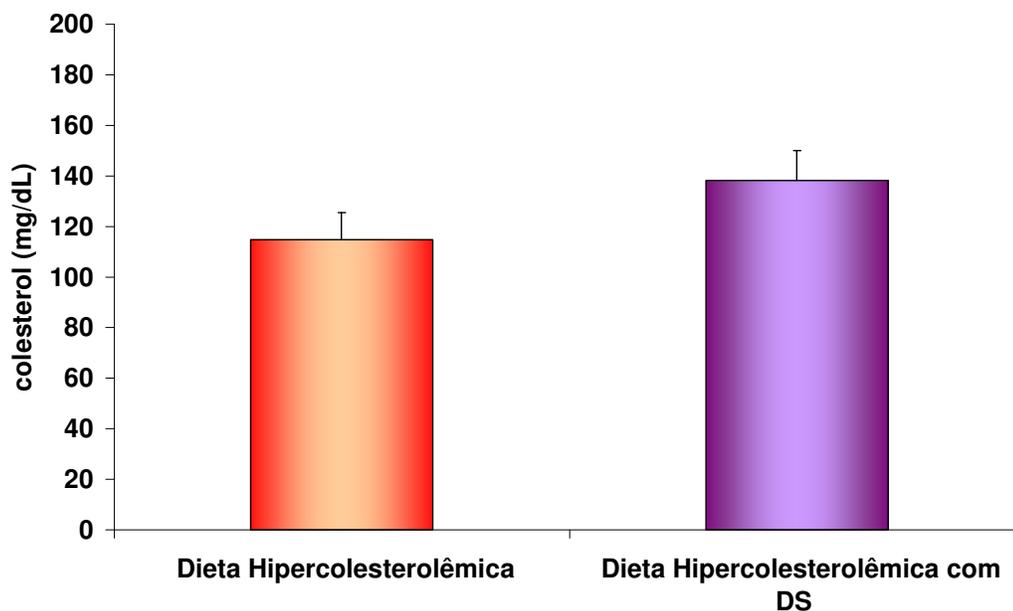


Figura 29 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos *Fisher* que receberam dieta hipercolesterolêmica (n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (deoxicolato de sódio) (n=9) por 30 dias.

Valores expressos como média ± EPM. Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

4.3.2 – Níveis séricos de colesterol em ratos *Fisher* normotensos (Sham) submetidos à dieta hipercolesterolêmica ou hipercolesterolêmica com 0,3% de DS por 60 dias

Os níveis séricos de colesterol (mg/dL) foram avaliados em ratos *Fisher* que completaram 60 dias em protocolo experimental, no qual, após 30 dias recebendo dieta hipercolesterolêmica com DS ou hipercolesterolêmica, os animais foram submetidos a cirurgia fictícia e continuaram a receber as respectivas dietas por mais 30 dias.

Os animais que receberam a dieta hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS) apresentaram níveis séricos de colesterol ($99,3 \pm 8,2$ mg/dL, n=7) estatisticamente semelhantes aos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica sem DS (ShamHiper) ($98,1 \pm 10,8$ mg/dL, n=7). Esse resultado está apresentado na Figura 30.

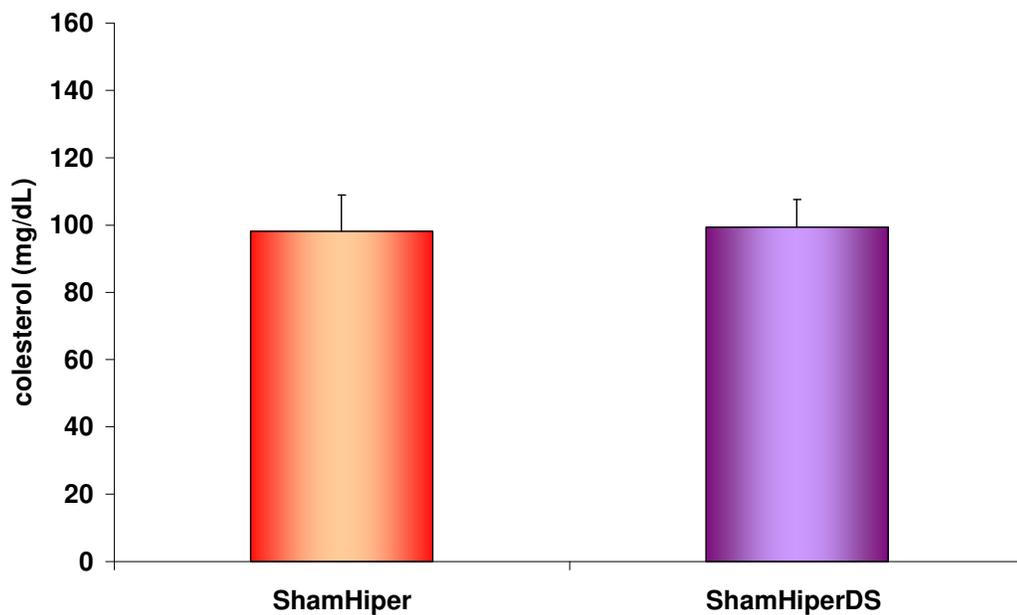


Figura 30 – Níveis séricos de colesterol (mg/dL) em ratos *Fisher* submetidos à cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS, n=7) por 60 dias. Valores expressos como média \pm EPM. Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

4.3.3 – Avaliação de Parâmetros Cardiovasculares em ratos *Fisher* normotensos (Sham) submetidos à dieta hipercolesterolêmica ou hipercolesterolêmica com DS

4.3.3.1 – Níveis basais de Pressão arterial média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC)

Os níveis basais de PAM e FC estão representados na Figura 39 e na Figura 40 respectivamente. Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica com DS apresentaram PAM basal estatisticamente semelhante ($96,4 \pm 3,1$ mmHg; n=6, ShamHiperDS) aos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica sem DS ($99,5 \pm 4,2$ mmHg; n=7, ShamHiper).

Em relação à FC basal, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica com DS apresentaram FC basal estatisticamente semelhante ($378,1 \pm 12,3$ bpm; n=6, ShamHiperDS) aos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica sem DS ($415,4 \pm 17,9$ bpm; n=7, ShamHiper).

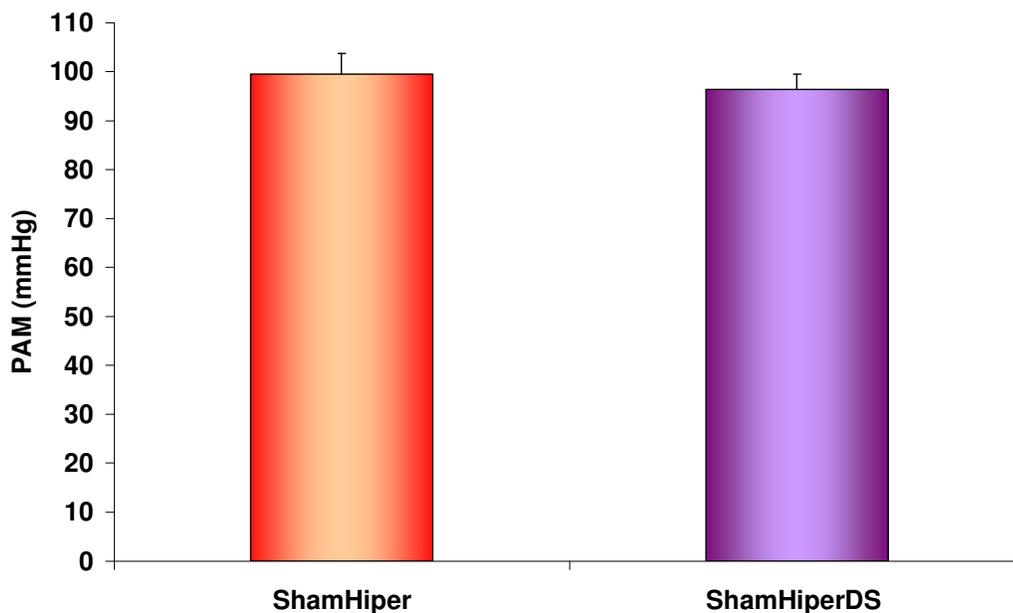


Figura 31 – Pressão Arterial Média (PAM) (mmHg) em ratos *Fisher* submetidos à cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS, n=6) por 60 dias. Valores expressos como média \pm EPM. Teste t de Student, $p > 0,05$.

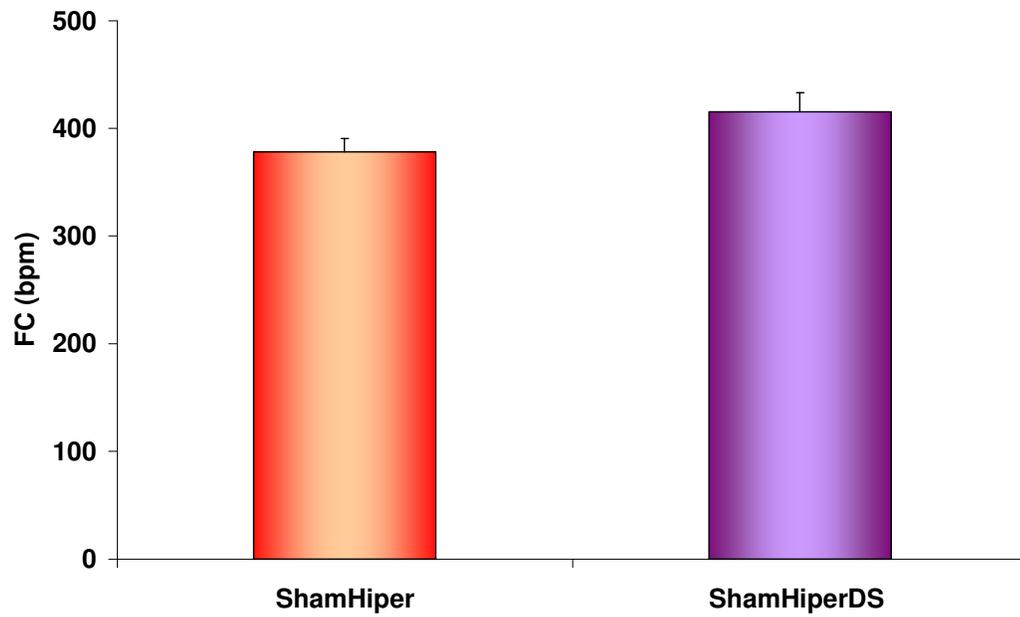


Figura 32 – Frequência Cardíaca (FC) (bpm) em ratos *Fisher* submetidos cirurgia à fictícia (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS, n=6) por 60 dias. Valores expressos como média \pm EPM. Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

4.3.4.2 – Avaliação da Bradicardia Reflexa

Para determinação da sensibilidade do Barorreflexo, os componentes Bradicárdicos e Taquicárdicos foram avaliados por regressão linear. Na avaliação da Bradicardia Reflexa, a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear é apresentada no quadro A da Figura 33. O quadro B das figuras mostra o *slope*, que representa a sensibilidade do barorreflexo.

O registro típico que mostra o efeito da infusão endovenosa de uma dose de fenilefrina em rato normotenso (Sham) (A) é semelhante ao mostrado na Figura 17, apresentada no item 4.2.5.2.

Os animais normotensos (sham) submetidos à dieta hipercolesterolêmica com DS possuem coeficiente de regressão (*slope*) estatisticamente semelhante ($-0,9165 \pm 0,2066$; $n=5$, ShamHiperDS) aos animais normotensos submetidos à dieta hipercolesterolêmica ($-1,318 \pm 0,2173$; $n=6$, ShamHiper) (Figura 33). Portanto, na avaliação da Bradicardia Reflexa realizada neste experimento, não foram encontradas diferenças significativas entre os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica e aqueles que receberam dieta hipercolesterolêmica com DS.

Bradicardia Reflexa

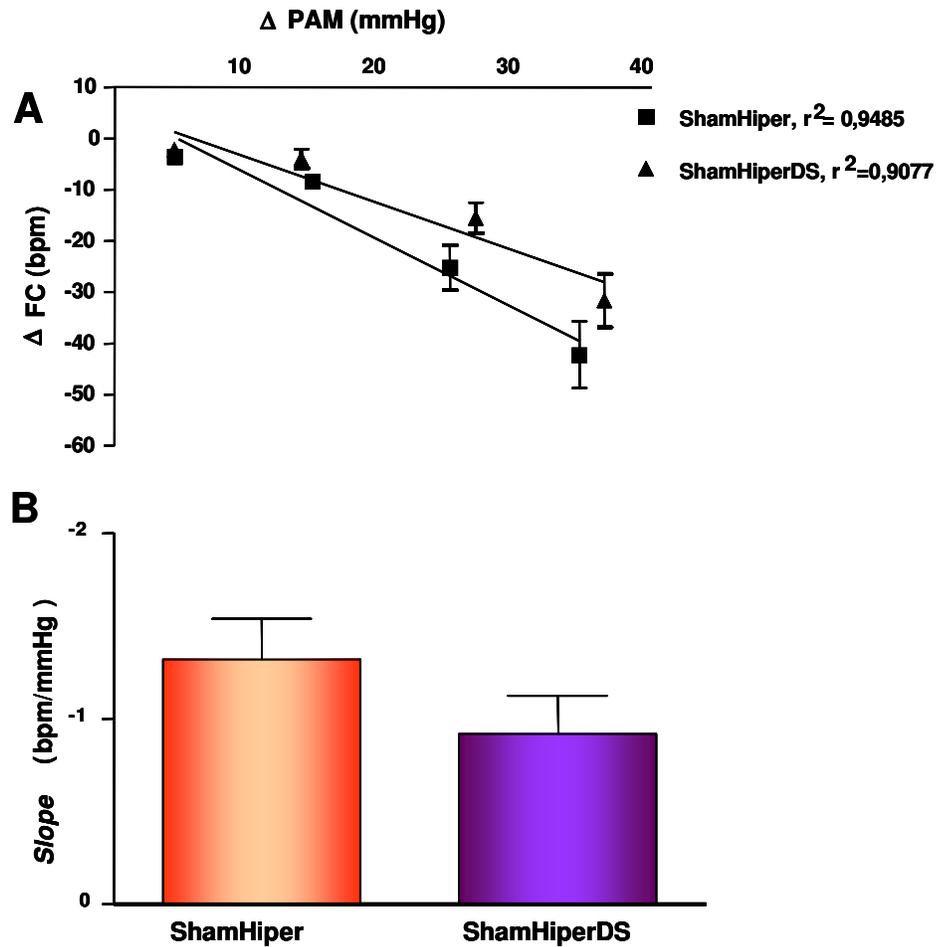


Figura 33 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de fenilefrina em animais dos grupos ShamHiperDS (n=5) e ShamHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média ± EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

4.3.4.3 – Avaliação da Taquicardia Reflexa

Na avaliação da Taquicardia Reflexa, a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear é apresentada no quadro A da Figura 34. O quadro B das figuras mostra o *slope*, que representa a sensibilidade do barorreflexo.

O registro típico que mostra o efeito da infusão endovenosa de uma dose de nitroprussiato de sódio em rato normotenso (Sham) (A) é semelhante ao mostrado na Figura 22, apresentada no item 4.2.5.3.

O coeficiente de regressão (*slope*) dos animais normotensos submetidos à dieta hipercolesterolêmica com DS não apresenta diferença significativa ($-0,6407 \pm 0,08490$; $n=5$, ShamHiperDS) em relação aos animais sham submetidos à dieta hipercolesterolêmica sem DS ($-0,4987 \pm 0,1654$; $n=6$, ShamHiper) (Figura 34). Portanto, na avaliação da Taquicardia Reflexa realizada neste experimento, não foram encontradas diferenças significativas entre os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica e aqueles submetidos à dieta hipercolesterolêmica com DS.

Taquicardia Reflexa

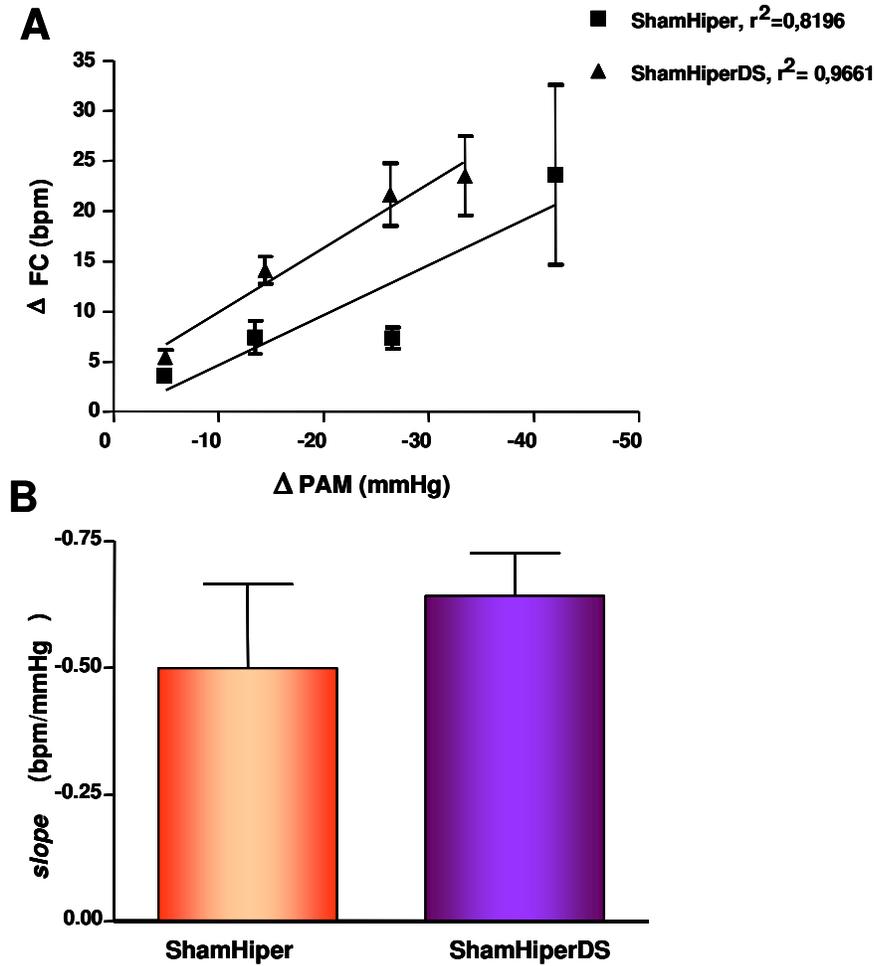


Figura 34 – Alterações reflexas da Frequência Cardíaca (FC) (bpm) produzidas por alterações da Pressão Arterial Média (PAM) provocadas por doses crescentes de nitroprussiato de sódio em animais dos grupos ShamHiperDS (n=5) e ShamHiper (n=6). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear; r^2 = coeficiente de correlação (A). As barras (média \pm EPM) representam o coeficiente de regressão (*slope*) obtido pela análise da regressão linear (B). Teste t de *Student*, $p > 0,05$.

4.3.5 – Avaliação do peso corporal e peso do fígado em animais submetidos à cirurgia fictícia (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica ou hipercolesterolêmica com DS por 60 dias

Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica com DS iniciaram o experimento sem diferença significativa ($112,4 \pm 1,3$ g; n=8, ShamHiperDS) quando comparados aos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica ($128,3 \pm 10,4$ g; n=7, ShamHiper) (Tabela 5).

Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica com DS apresentaram peso corporal final estatisticamente semelhante ($250,4 \pm 9,3$ g; n=8, ShamHiperDS) aos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica ($270,9 \pm 26,6$ g; n=7, ShamHiper). De maneira semelhante, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica com DS apresentaram ganho de peso estatisticamente semelhante ($138,0 \pm 9,2$ g; n=8, ShamHiperDS) aos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica ($139,6 \pm 16,5$ g; n=7, ShamHiper) (Tabela 5).

Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica com DS apresentaram um aumento no peso relativo do fígado ($2,741 \pm 0,133$; n= 7, ShamHiperDS) quando comparado aos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica ($1,850 \pm 0,0636$; n=7, ShamHiper) (Figura 35).

Tabela 5 – Peso corporal inicial, peso corporal final e ganho de peso de ratos *Fisher* normotensos (Sham), alimentados com dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS).

Grupos / Ratos <i>Fisher</i>	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganho de peso (g)
ShamHiper (n=7)	$128,3 \pm 10,4$	$270,9 \pm 26,6$	$139,6 \pm 16,5$
ShamHiperDS (n=8)	$112,4 \pm 1,3$	$250,4 \pm 9,3$	$138,0 \pm 9,2$

Valores expressos como média \pm EPM. Teste t de *Student*, p>0,05.

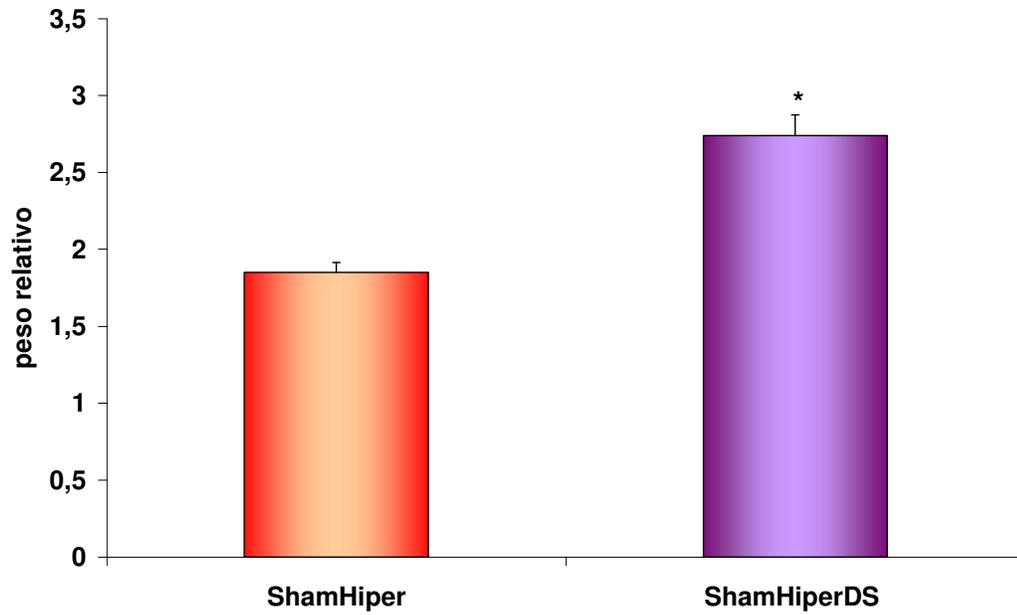


Figura 35 - Peso seco relativo do fígado em ratos *Fisher* normotensos (Sham) que receberam dieta hipercolesterolêmica (ShamHiper, n=7) ou hipercolesterolêmica com DS (ShamHiperDS, n=7). Valores expressos como média \pm EPM. Teste t de *Student*, * p < 0,05.

5 – Discussão

Os resultados obtidos no presente estudo, em síntese, mostraram que somente os ratos Fisher desenvolveram hipercolesterolemia e hipertensão renovascular concomitantes, servindo assim como modelo experimental para este trabalho. O menor peso seco do rim clipado (esquerdo) e o maior peso seco do rim não-clipado (direito), o aumento do peso seco do coração e a PAM elevada, mostraram que clipagem da artéria renal esquerda foi eficiente para induzir a hipertensão renovascular. Em ratos Fisher (sham) a adição de deoxicolato de sódio (DS) à dieta hipercolesterolêmica não aumentou significativamente os níveis séricos de colesterol em comparação aos animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica sem DS. No modelo animal de hipercolesterolemia e hipertensão renovascular, a sensibilidade bradicárdica foi reduzida em animais submetidos à hipertensão, associada ou não a hipercolesterolemia, enquanto a sensibilidade taquicárdica não se alterou significativamente em nenhum grupo avaliado.

A hipercolesterolemia e a hipertensão arterial, como importantes fatores de risco (FR) para a doença cardiovascular (DCV), precisam ser precisamente conhecidas para a realização de medidas preventivas eficazes antes que se desenvolvam danos em órgãos-alvo. Sabe-se que, quando esses dois FR estão presentes simultaneamente, a progressão da doença vascular aterosclerótica é acelerada (Neutel *et al.*, 1999).

De fato, a pesquisa científica apresenta interesse em novas abordagens no campo da hipertensão e da aterosclerose, com um dos principais investimentos sendo, em particular, para a prevenção da DCV. Apesar dos declínios registrados, a DCV é ainda responsável por aproximadamente 50% das mortes prematuras nos países industrializados do Ocidente, mais que câncer, AIDS e acidentes combinados (Leonardi *et al.*, 2000).

No rato como modelo experimental, a hipercolesterolemia pode ser alcançada pela ingestão de dietas ricas em triglicerídios e suplementadas com colesterol. Neste trabalho utilizamos uma dieta rica em óleo de soja (25%) contendo 1% de colesterol. Uma grande quantidade de fibra foi adicionada à dieta para diluir seu valor calórico a fim de evitar uma menor ingestão da mesma, o que poderia levar ao quadro de

desnutrição. A hipercolesterolemia foi verificada através da dosagem dos níveis séricos de colesterol total (mg/dL).

Chambers e Ness (1997) verificaram que o colesterol ingerido na dieta exerce regulação significativa por retroalimentação sobre a HMG-CoA redutase a nível de tradução desta enzima. Dessa forma, a expressão de níveis basais mais altos da HMG-CoA redutase permite um grau maior de “downregulation” desta enzima para compensar a absorção elevada de colesterol na dieta (Ness e Chambers, 2000).

Em um estudo de Ness e Gertz (2004) realizado com nove cepas de rato, a avaliação da expressão basal da HMG-CoA redutase hepática, da extensão da regulação do colesterol por retroalimentação, além da expressão do receptor de LDL hepático em resposta ao colesterol da dieta, mostrou que as cepas de ratos expressando os níveis basais mais altos de HMG-CoA redutase hepática foram mais resistentes a elevação do colesterol em resposta ao colesterol da dieta. Já os níveis do receptor LDL hepático não foram significativamente diminuídos pelo colesterol da dieta em nenhum dos animais. Assim, os ratos da cepa *Wistar*, que exibiram alta atividade da HMG-CoA redutase, acima de $125 \text{ pmol/min}^{-1}/\text{mg}^{-1}$, mostraram ser muito resistentes ao colesterol da dieta.

Em nossos resultados obtivemos baixos níveis séricos de colesterol em resposta à dieta hipercolesterolêmica ofertada aos ratos *Wistar* durante o Experimento I, corroborando com os resultados de Ness e Gertz (2004). De fato, os ratos *Wistar* não apresentaram níveis séricos de colesterol significativamente maiores que os animais submetidos à dieta controle. No entanto, no Experimento II, no qual foram utilizados ratos *Fisher*, os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram níveis séricos de colesterol significativamente maiores que aqueles que receberam dieta controle. Esse resultado está de acordo com o estudo de Ness e Gertz (2004), no qual os ratos da cepa *Fisher* apresentaram níveis basais intermediários de expressão da HMG-CoA redutase e conseqüentemente exibiram elevações significativas nos níveis séricos de colesterol.

O fígado está envolvido em múltiplos processos importantes na homeostase geral do colesterol na saúde e na doença, como, por exemplo, a síntese “de novo” do colesterol, o armazenamento e o transporte reverso do colesterol, a captação e a produção de proteínas (Murphy *et al.*, 2005).

Em nosso trabalho os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram um aumento no peso relativo do fígado quando comparado aos grupos que

receberam dieta controle. Foi observada também uma diferença na coloração do fígado dos animais que receberam a dieta hipercolesterolêmica, de modo a apresentarem aspecto esteatótico. O aumento do peso do fígado confirma os resultados encontrados por Rosa *et al.* (1998) e Turbino-Ribeiro *et al.* (2003). Como o fígado é o órgão responsável pela homeostase de lipídios, é razoável pensar que nem toda a gordura da dieta pode ser metabolizada e armazenada no tecido adiposo, causando acúmulo de gordura nesse órgão (Murphy *et al.*, 2005, Rosa *et al.*, 1998).

Dados epidemiológicos e experimentais mostram uma clara correlação entre níveis elevados de colesterol plasmático e aterosclerose. Níveis elevados de LDL são considerados o principal fator causal (Kwiterovich, 2000). A LDL se torna parte do processo aterosclerótico após modificação oxidativa (Steinberg *et al.*, 1989). O desenvolvimento da aterosclerose envolve depósito de lipídio no interior da parede das artérias, com subsequente inflamação e fibrose. Os depósitos de lipídio são compostos principalmente de colesterol e ésteres de colesterol, que estão associados com células espumosas e macrófagos sobre as paredes arteriais (Lichtenstein, 1996).

É conhecido que a aterosclerose é muito infreqüente na maioria das cepas de ratos, mesmo quando eles têm altos níveis sustentados de lipídios sanguíneos (Doggrell & Brown, 1998). Ratos e camundongos, diferentes dos humanos e de outras espécies, não têm proteínas de transferência de éster de colesterol (CETP) no plasma. Nesses animais a maior parte do colesterol do soro está presente como parte da HDL (Moghadasian, 2002).

Devido à dificuldade em obter, em ratos, grandes elevações nos níveis séricos de colesterol, muitos trabalhos têm utilizado sais biliares acrescentados à dieta rica em colesterol e triglicérides, pois estes aumentam a absorção intestinal de colesterol (Dolphin e Forsyth, 1983; Minhajuddin *et al.*, 2005; Uchida *et al.*, 1980).

Minhajuddin *et al.* (2005), utilizando dieta hipercolesterolêmica contendo 5% de gordura hidrogenada, 0,5% de ácido cólico e 1% de colesterol por três semanas, em ratos, obtiveram um aumento significativo nos níveis séricos de colesterol total (179.2 ± 15.2 mg/dL) em comparação aos animais recebendo dieta controle (73.7 ± 10.8 mg/dL).

Uchida *et al.* (1980) testaram os efeitos do deoxicolato de sódio (DS) sobre os níveis de colesterol no fígado e soro de ratos *Wistar* machos, alimentados por uma semana com dieta controle (com 2% de colesterol) ou dieta contendo 2% de colesterol acrescida de 0,4% de DS. A dieta com DS aumentou significativamente os níveis de

colesterol do fígado ($11,1 \pm 1,09$ mg/g) e do soro ($126 \pm 7,9$ mg/100mL) em relação à dieta controle ($5,8 \pm 0,23$ mg/g no fígado e $89 \pm 3,8$ mg/100mL no soro).

Portanto, no presente trabalho, foi realizado o Experimento III, no qual ratos *Fisher* receberam dieta hipercolesterolêmica complementada com 0,3% de DS, com a finalidade de se obter níveis de colesterol maiores que aqueles obtidos com a dieta hipercolesterolêmica no Experimento II. Todavia, a adição de DS não elevou os níveis séricos de colesterol quando comparados à dieta hipercolesterolêmica sem DS. É possível que a quantidade de DS acrescentada (0,3%) à dieta contendo 1% de colesterol não tenha sido suficiente para se obter um aumento significativo nos níveis séricos de colesterol em relação à dieta hipercolesterolêmica sem o DS.

Assim como no trabalho de Minhajudin *et al.* (2005), em nosso trabalho a dieta hipercolesterolêmica acrescida de um sal biliar elevou significativamente o colesterol sérico em relação à dieta controle (dados não mostrados), porém, não elevou significativamente em relação à dieta hipercolesterolêmica sem DS, por isso preferimos utilizar a dieta hipercolesterolêmica sem o sal biliar (DS).

Além disso, o fígado dos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica com DS apresentou peso relativo significativamente maior que o dos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica sem DS. O trabalho de Murphy *et al.* (2005) nos faz compreender parte das alterações metabólicas causadas pela dieta com DS. Esses autores submeteram camundongos à dieta controle ou dieta controle suplementada com ácido cólico (AC) (0.1% ou 0.5% p/p) por 6 a 7 dias. A dieta com AC aumentou a absorção intestinal de colesterol em cerca de 23% e elevou o colesterol total no fígado em mais de duas vezes. A concentração de ésteres de colesterol no fígado dos camundongos aumentou significativamente com a dieta contendo AC, sendo que esses efeitos podem ser explicados parcialmente pela diminuição concomitante na atividade da CYP7A1. A CYP7A1 é o componente único da 7 alpha-hidroxilase, enzima que regula a síntese dos sais biliares e a diminuição de sua atividade leva a um menor consumo do colesterol livre para a síntese de ácidos biliares.

De fato, o fígado é o principal exportador de lipoproteínas de colesterol e utilizando a síntese “de novo” de colesterol, a regulação dos receptores da LDL, dos receptores da HDL e de outros receptores, os níveis do colesterol são mantidos no sangue enquanto os níveis de ésteres de colesterol estocados podem variar largamente (Murphy *et al.*, 2005).

Apesar dos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica no Experimento II apresentarem elevações significativas nos níveis séricos de colesterol, não tiveram alterações na PAM e na FC basais em comparação aos animais que receberam dieta controle. Chade *et al.* (2003) também encontraram que a PAM de porcos submetidos à estenose arterial renal simultânea a dieta hipercolesterolêmica ou apenas à estenose arterial renal foram estatisticamente semelhantes.

Sabemos, no entanto, que a dislipidemia pode contribuir para o aparecimento da doença renal através da formação de placas de aterosclerose nas artérias aferentes do rim, estreitando a luz destes vasos e provocando prejuízos na hemodinâmica renal com consequente elevação da PA. Diversos experimentos mostraram que anormalidades lipídicas podem iniciar injúria glomerular e/ou acentuar a progressão da doença glomerular estabelecida (Gröne *et al.*, 1989; Kasiske *et al.*, 1990).

Embora a hipertensão seja frequentemente considerada como a causa da doença renal e da falência renal crônica, é também reconhecido que a hipertensão pode ser uma conseqüência dos defeitos na função de transporte tubular e/ou microcirculatório renal, que comprometem a capacidade normal do rim em manter o balanço de sódio em pressões arteriais normais. Mesmo quando não existe transtorno intrarenal primário, um prejuízo na função renal secundário à estimulação neural ou humoral inapropriada para o rim pode existir. Em essência, uma premissa amplamente aceita é que a hipertensão não pode coexistir na presença de função renal normal (Cowley, 1992; Guyton, 1991).

A estenose da artéria renal é uma das principais causas da hipertensão renovascular e pode levar a nefropatia isquêmica e a doença renal de estágio terminal (Lerman *et al.*, 2001). O papel da vasculatura renal em provocar hipertensão renovascular tem sido estabelecido desde 1934, quando Goldblatt *et al.* demonstraram que a obstrução parcial da artéria renal aumentava a PAM.

Em nosso estudo o desenvolvimento da hipertensão renovascular foi avaliado por medidas periódicas (10 dias) de PAM através da pletismografia de cauda (medida indireta). Verificou-se dessa forma que a cirurgia para produção da hipertensão renal (2R1C de Goldblatt) modificou significativamente a PAM (mmHg) em relação aos animais sham, aos 10, 20 e 30 dias após a cirurgia. Para validação desses resultados, a medida de PAM foi realizada também um dia antes dos animais serem submetidos à cirurgia e comprovamos, assim, que os diferentes grupos não apresentavam diferença significativa em relação a PAM.

Somente 30 dias após a cirurgia 2R1C a PAM (obtida por pletismografia) foi significativamente maior que antes da cirurgia nos animais 2R1C que receberam dieta controle (2R1CCont). No entanto, 20 dias após a cirurgia os animais 2R1C que receberam dieta hipercolesterolêmica (2R1CHíper) já apresentaram a PAM significativamente maior que antes da cirurgia. Esses dados podem sugerir que a dieta hipercolesterolêmica torna os animais propensos a desenvolver hipertensão renovascular (2R1C) mais precocemente, e que isto poderia ser devido a alterações funcionais renais, como descrito por Chade *et al.* (2002 e 2003).

Em um modelo animal (porco) submetido simultaneamente à dieta hipercolesterolêmica e estenose da artéria renal Chade *et al.* (2002) verificaram que a disfunção glomerular e tubular estava elevada quando comparada com a dieta hipercolesterolêmica e a estenose da artéria renal sozinhas. Estas alterações funcionais foram acompanhadas por um aumento marcante no estresse oxidativo, inflamação, e atrofia tubular, como também por fibrose tubulointersticial e perivascular em rins de animais submetidos simultaneamente à estenose arterial renal e dieta hipercolesterolêmica comparados com aqueles com estenose da artéria renal apenas.

Chade *et al.*, em 2003, mostraram que a dieta hipercolesterolêmica (2% de colesterol) somada a estenose arterial renal por 12 semanas acelerou o desenvolvimento de fibrose no rim estenótico de porcos, amplificando mecanismos pró-fibróticos e interrompendo o remodelamento do tecido. Segundo Wanner e Quaschnig (2001) diversos fatores pró-crescimento e pró-inflamatórios implicados no remodelamento do tecido renal na estenose arterial renal podem ser ativados também na hipercolesterolemia, uma substituta da fase inicial da aterosclerose e um fator de risco independente para a progressão da doença renal. Em ambas condições, o prejuízo da função renal é acompanhado pela ativação do SRA e a geração acentuada de espécies reativas de oxigênio que podem modular a injúria do tecido renal (Lerman *et al.*, 2001).

No presente trabalho a PAM dos animais também foi medida diretamente na aorta abdominal, via artéria femoral, trinta dias após a clipagem e como esperado, os animais submetidos à cirurgia 2R1C apresentaram PAM basal maior que os animais submetidos à cirurgia fictícia, conforme o descrito na literatura (Levy *et al.*, 2001; Sharifi *et al.*, 2003; Britto *et al.*, 1997).

É postulado que esta elevação crônica na PAM dos animais 2R1C é conseqüência da ativação patológica do SRA induzida pela estenose da artéria renal

(Sadjadi *et al.*, 2002; Abdi *et al.*, 1997). A cascata de eventos iniciada pela secreção aumentada de renina do rim clipado leva a aumentos na Ang II circulante, que por sua vez inibe a produção de renina pelo rim não-clipado (Mitchell e Navar, 1995; Ploth, 1983).

Navar *et al.* (1998) mostraram que os níveis plasmáticos de Ang II em ratos 2R1C estavam elevados em sete dias, mas voltaram a valores próximos ao controle três semanas após a clipagem. No entanto, mesmo depois que a hipertensão já está bem estabelecida e a concentração de Ang II plasmática retorna a valores semelhantes aos do controle, os rins não-clipados continuam a ter níveis intrarenais elevados de Ang II. O conteúdo intrarenal elevado de Ang II foi associado com internalização mediada por receptor (Navar *et al.*, 1998), como também com atividade elevada da ECA, indicando conversão mais eficiente de Ang I em Ang II (Guan *et al.*, 1992).

Sharifi *et al.* (2003) demonstraram que existe uma correlação positiva entre o aumento da pressão sanguínea e a atividade local da ECA em vários tecidos, assim como no soro, destacando o papel importante e talvez etiológico da ECA no desenvolvimento da hipertensão. Além disso, foi demonstrado que a atividade e a expressão do gene da ECA dentro da aorta e rim dos animais 2R1C foi elevada comparada aos controles (Holubbrash *et al.*, 1993).

Os efeitos diretos e indiretos das concentrações circulantes elevadas de Ang II junto com os aumentos resultantes na produção de aldosterona e das elevações na atividade do sistema nervoso simpático contribuem para a capacidade excretória prejudicada do rim não-clipado (Mitchell e Navar, 1995; Ploth, 1983). A Ang II circulante, através dos seus efeitos vasculares diretos, aumenta agudamente a resistência periférica total e eleva a pressão sanguínea, mas também tem ações sobre quase todo o organismo (Mitchell e Navar, 1995).

Os níveis intra-renais elevados de Ang II no rim não-clipado são responsáveis pela função hemodinâmica e reabsortiva tubular alterada (Navar *et al.*, 1998). Elevações intra-renais de Ang II estimulam diretamente a função reabsortiva tubular proximal, acentuando a atividade do trocador Na^+/H^+ na membrana luminal e do cotransportador $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$ da membrana basolateral (Mitchell e Navar, 1995). Um aumento mediado pela Ang II na taxa de reabsorção tubular proximal, por si só, poderia não provocar diminuições sustentadas na distribuição do fluido no néfron distal e na excreção de sódio por causa da ação compensatória do mecanismo de *feedback* tubuloglomerular

(FTG) em restaurar a distribuição de volume no néfron distal de volta aos níveis controle (Navar *et al.*, 1998). No entanto, a Ang II também exerce uma poderosa influência modulatória sobre a sensibilidade geral do mecanismo de FTG (Mitchell e Navar, 1995). A responsividade aumentada do FTG, combinada com a ação estimulatória direta da Ang II sobre a taxa de reabsorção tubular proximal, fornece um poderoso mecanismo sinérgico pelo qual os níveis elevados de Ang II prejudicam a habilidade do rim não-clipado de manter taxas normais de excreção de sódio em pressões normais (Navar *et al.*, 1998).

Nossos resultados mostraram que os animais submetidos à cirurgia 2R1C, tanto *Wistar* quanto *Fisher*, além de níveis elevados de PAM, apresentaram FC (bpm) basal maior que os animais submetidos à cirurgia fictícia. Head e Burke (2001) mostraram que a FC encontra-se significativamente elevada em animais (coelhos) 2R1C, três semanas após a cirurgia, em comparação aos animais sham. No entanto, esse aumento da FC não foi observado em medidas realizadas seis semanas após a cirurgia 2R1C. Em nosso estudo, a medida direta da FC foi feita quatro semanas após a cirurgia, quando possivelmente níveis elevados de FC ainda podem ser encontrados.

Existem também resultados diferentes dos nossos na literatura, como o de Duke *et al.* (2005), que analisando ratos 2R1C três semanas após a clipagem não encontraram diferença significativa na FC dos animais 2R1C (402 ± 8 bpm) comparados aos animais sham (375 ± 11 bpm). Li e Widdop (1995) também não encontraram diferença significativa na FC de animais 2R1C (390 ± 13 bpm), três a quatro semanas após a cirurgia, quando comparados a animais sham (366 ± 11 bpm).

Em nosso trabalho avaliamos também o peso dos órgãos que possivelmente teriam comprometimento. Os animais com hipertensão renovascular apresentaram rim não-clipado (direito) estatisticamente maior que os animais submetidos à cirurgia fictícia (sham). O rim clipado (esquerdo) dos animais hipertensos, no entanto, apresentaram-se estatisticamente menor que nos animais normotensos. Esses resultados estão de acordo com a literatura (Kobayashi *et al.*, 1999; Kunico *et al.*, 1991).

Segundo Kobayashi *et al.* (1999) e Kunico *et al.* (1991), as alterações de peso no rim não-clipado são ainda acompanhadas de injúria tubulointersticial marcante, esclerose glomerular e/ou hialinose, além de fibrose intersticial e atrofia tubular. Kunico *et al.* (1991) propuseram que o recrutamento de células inflamatórias e citocinas, a proliferação de fibroblastos e a deposição de matriz podem ser os eventos chave no

processo fibrótico do rim não-clipado. Com relação à expressão de renina, esta é suprimida no rim não-clipado dos animais 2R1C em comparação aos animais sham, mas é altamente elevada no rim clipado (Kobayashi *et al.*, 1999). Embora o rim não-clipado torne-se depletado em renina ele falha em evitar a hipertensão, pois, como já descrito, o aumento da Ang II intrarenal (internalizada por receptor) fornece um forte estímulo hipertensinogênico (Navar *et al.*, 1998).

Além das alterações renais descritas, nossos dados mostraram que os animais com hipertensão obtiveram valores maiores de peso relativo do coração que os animais normotensos. Esse resultado está de acordo com Brown *et al.* (1997); Wang *et al.* (2001) e Kobayashi *et al.* (1999). A hipertrofia cardíaca tem sido associada com uma expressão elevada de mRNA de AT₁ em ratos 2R1C (Suzuki *et al.*, 1993). É bem conhecido que a Ang II tem participação na hiperplasia e hipertrofia do tecido. Portanto, no modelo de hipertensão 2R1C, a Ang II parece estar envolvida nos aumentos de peso do rim não-clipado e do coração (Kobayashi *et al.*, 1999).

O dano em órgão-alvo no modelo 2R1C depende do tamanho e do tempo da clipagem e geralmente inclui disfunção endotelial, hipertrofia cardíaca (um aumento de 20-50% no tamanho cardíaco), e hipertrofia do rim contralateral exposto à hipertensão (Pinto *et al.*, 1998; Akabane *et al.*, 1985). Como na maioria dos modelos de hipertensão, muitos desses efeitos derivam de um aumento na pressão sistêmica, mudança no padrão do fluxo sanguíneo (mecanismos do fluido não-laminar) e estresse por estiramento da parede. A ativação de enzimas oxidativas tais como NAD(P)H oxidase, induzida por dieta ou estiramento de parede, a disponibilidade do óxido nítrico alterada, e conseqüentemente, a inflamação e o estresse oxidativo, podem todos contribuir para a disfunção endotelial e remodelamento vascular como faz a ativação da Ang II sistêmica ou tecidual nos modelos dependentes da angiotensina (Lerman *et al.*, 2005).

Devido a todas as alterações descritas até aqui, concluímos que o Experimento II nos forneceu o modelo experimental apropriado para reproduzir as situações clínicas que frequentemente precedem a DCV, dessa forma, avaliamos nesses animais a sensibilidade barorreflexa.

A resposta barorreflexa da FC foi avaliada diante das situações de aumento ou diminuição da PAM provocadas através do uso de drogas vasoativas. As administrações dessas drogas podem ser feitas por injeções na forma de *bolus*, método *steady-state* (estado estacionário) ou “rampa de infusão” (Farah *et al.*, 1999). É bem aceito que os

barorreceptores arteriais se adaptam (*resetting*) em resposta à hipertensão, como também em resposta à hipotensão: uma adaptação parcial ocorre dentro das primeiras 6h e uma adaptação completa dentro dos primeiros dois dias (Krieger, 1989). Mais recentemente, foi demonstrado que uma adaptação aguda ocorre dentro dos primeiros poucos minutos após um aumento ou diminuição mantidos da pressão sanguínea (Krieger, 1989, Xavier-Neto *et al.*, 1996).

Desde que diferentes maneiras de alterar a pressão sanguínea podem alterar a função barorreceptora aferente, as alterações de PAM obtidas durante curtos períodos de tempo (dentro de 30s, ex: injeções em *bolus*) são mais apropriados para prevenir a adaptação aguda (Farah *et al.*, 1999). Dessa forma, o reflexo barorreceptor neste estudo foi avaliado mediante injeções endovenosas em *bolus*.

O uso de doses crescentes das drogas vasopressoras e vasodepressoras possibilitou a obtenção dos ganhos barorreflexos em locais relativamente dispersos dentro de uma faixa selecionada de alterações pressóricas de 0 a 50 mmHg. Elevações de pressão sanguínea maiores que 50 mmHg podem envolver a participação de outros reflexos cardíacos (cardiopulmonar, quimiorreflexo, reflexos extrínsecos, etc) nas respostas bradicárdicas (Head & McCarty, 1987). Portanto, neste estudo foram descartadas as elevações maiores que 40 mmHg, permitindo uma margem de segurança em relação ao valor descrito pela literatura.

A análise por regressão linear e por índice médio fornecem acesso de forma diferenciada aos ganhos barorreflexos de respostas bradicárdicas e taquicárdicas. Isso difere da análise por função logística, a qual fornece apenas um valor que caracteriza o ganho médio do controle barorreflexo da FC (Farah *et al.*, 1999).

As contribuições dos componentes simpático e parassimpático na promoção das respostas cronotrópicas têm características peculiares distintas, diante de um aumento ou diminuição da PA (Alzamora *et al.*, 2006). Enquanto a taquicardia barorreflexa é determinada por atuação de ambos os componentes autonômicos, retirada parassimpática e principalmente maior ativação simpática, a bradicardia barorreceptora é praticamente determinada por uma descarga vagal, uma vez que o simpático é muito lento para responder a mudanças bruscas na PAM (Head & McCarty, 1987). Logo, a determinação dissociada dos ganhos bradicárdicos e taquicárdicos parece expor melhor as disfunções autonômicas do que as análises realizadas por meio de funções logísticas.

Neste trabalho, portanto, optamos pela análise por regressão linear e pela avaliação dos dois componentes do barorreflexo: o Bradicárdico e o Taquicárdico.

Na avaliação da Bradicardia Reflexa, os animais hipertensos renais apresentaram a sensibilidade bradicárdica reduzida em comparação aos animais normotensos. Como demonstramos que os animais hipercolesterolêmicos não apresentaram a sensibilidade da bradicardia reflexa diferente dos animais normocolesterolêmicos, sugerimos que as alterações na sensibilidade do barorreflexo foram decorrentes apenas da hipertensão. Estudos pioneiros como o de Bristow *et al.* (1969) assim como estudos posteriores como o de Britto *et al.* (1997), Oliveira *et al.* (1996) e Wang *et al.* (2005) têm demonstrado a redução da sensibilidade bradicárdica reflexa em vários modelos de hipertensão.

Diversas pesquisas indicaram que a sensibilidade barorreflexa não é determinada apenas pelo nível de pressão arterial e estiramento vascular, mas também é modulado por várias substâncias neurohumorais e fatores parácrinos (Goldman *et al.*, 1984; Kunze *et al.*, 1984; Chen *et al.*, 1990; Xie *et al.*, 1990; Li *et al.*, 1992; Alzamora *et al.*, 2006).

A importância do SRA neste deficiente controle pressorreceptor observado nos hipertensos têm sido largamente estudada (Oliveira *et al.*, 1996). Diversos estudos mostraram os efeitos benéficos dos inibidores da ECA no tratamento da hipertensão (Ferrario *et al.*, 1990 - A; Linz *et al.*, 1995). Por exemplo, o tratamento de ratos 2R1C com enalapril (inibidor da ECA) produziu um aumento de 70% da bradicardia reflexa induzida por aumentos da PAM produzidos pela injeção endovenosa de fenilefrina (Britto *et al.*, 1997).

Vários estudos têm sugerido que esta melhora na sensibilidade barorreflexa esteja relacionada a alterações dos mecanismos neurais envolvidos na regulação da PA, e em especial, nos locais onde o SRA modula a transmissão barorreflexa (Andresen & Brown, 1980; Stryker-Boudier, 1982; Berecek *et al.*, 1983; Kumagai *et al.*, 1992; Alzamora *et al.*, 2006; Ferrario, 1991 – B). Brooks (1995) mostrou que a diminuição na sensibilidade barorreflexa produzida por infusão intravenosa crônica de Ang II é parcialmente revertida após a interrupção da infusão, mesmo com a manutenção dos níveis de hipertensão por outro vasoconstritor.

Moreira *et al.* (1988) observaram que na hipertensão renal renino-dependente o barorreflexo está inibido independente da severidade da hipertensão. Outros estudos sugerem que a inibição da bradicardia reflexa observada na hipertensão renal é

provavelmente decorrente de uma deficiência na integração central do componente vagal do barorreflexo (Campagnole-Santos *et al.*, 1988; Moreira *et al.*, 1988; Campagnole-Santos *et al.*, 1989; Chavez *et al.* 1995). Uma série de estudos na literatura tem mostrado que o componente vagal do controle reflexo da FC é muito afetado pela Ang II (Casto & Phillips, 1986; Michelini *et al.*, 1990 e 1992; Alzamora *et al.*, 2006).

Já está bem estabelecido que as alterações barorreflexas da FC, especialmente a bradicardia reflexa provocada por estímulo pressor resulta principalmente de aumento da atividade vagal com participação menor do tônus simpático para o coração (Kirchheim, 1976; Alzamora *et al.*, 2006). Em situações clínicas, como na hipertensão essencial, a sensibilidade dos barorreceptores para o controle da FC se encontra reduzida. Isso tem sido correlacionado à redução do componente eferente vagal, uma vez que essa alteração é mais evidente frente a aumentos do que a quedas da PA (Dall'Ago *et al.*, 1999).

De fato, diferente da redução da sensibilidade bradicárdica encontrada nos animais hipertensos deste experimento, na avaliação da Taquicardia Reflexa não foram encontradas diferenças significativas entre os animais com hipertensão renovascular e os animais normotensos. Além disso, relatamos aumento dos níveis da PA e FC nesses animais, corroborando com dados da literatura que associam hipertensão, hiperatividade simpática e disfunção barorreflexa, como os resultados do trabalho de Floras *et al.* (1988).

Em estudos anteriores realizados em humanos e animais, diferenças significativas no ganho entre respostas taquicárdicas e bradicárdicas foram observadas durante estados normais e patofisiológicos quando os valores de FC foram analisados por índice médio ou regressão linear (Pickering *et al.*, 1972; Mancina *et al.*, 1977; Mancina, 1983; Irigoyen *et al.*, 1991; Michelini & Bonagamba, 1990; Alzamora *et al.*, 2006).

A disfunção dos barorreceptores associa-se com aumentos da atividade simpática e principalmente reduções da atividade parassimpática, aumentando a FC e elevando a variabilidade da PA, o que tem conseqüências importantes no controle cardiovascular (Dall'Ago *et al.*, 1999). Apesar dessa afirmação ser coerente, esse tema parece controverso mesmo diante da literatura e, assim, precisa de maiores esclarecimentos.

Em pesquisa recente da literatura (Cai *et al.*, 2005) foi mostrado que a disfunção barorreflexa arterial promove o desenvolvimento de aterosclerose em ratos, e que a inflamação pode estar envolvida neste processo. Não está claro como a disfunção barorreflexa inicia a inflamação. Uma possível explicação é que o balanço entre o sistema nervoso simpático e parassimpático é quebrado durante a disfunção barorreflexa. Uma atividade simpática elevada pode ser acompanhada por uma atividade elevada do SRA. Por outro lado, uma atividade parassimpática diminuída pode levar a uma função diminuída da subunidade $\alpha 7$ do receptor nicotínico da acetilcolina, que inibe a liberação de TNF α e IL-1 β (Libert, 2003; Borovikova *et al.*, 2000). Portanto, a ativação do SRA e a inibição da subunidade $\alpha 7$ do receptor nicotínico da acetilcolina na disfunção barorreflexa poderia induzir inflamação. Assim, Cai *et al.* (2005) demonstraram que a relação entre a função barorreflexa e o grau de aterosclerose nos ratos significa que a disfunção barorreflexa é a causa, mas não a consequência de uma aterosclerose mais severa.

Sasaki *et al.* (1994), também investigaram a influência do aumento da variabilidade da pressão sanguínea sobre o desenvolvimento da aterosclerose aórtica em cinco grupos de ratos *Wistar*: a) Controle, b) Dieta hipercolesterolêmica (DH), c) DH + desnudação do endotélio (DN), d) DH + DN + 2R1C e e) DH + DN + desnervação sino-aórtica (DAS). Esses autores demonstraram que a dieta hipercolesterolêmica sozinha não foi capaz de induzir aterosclerose, enquanto a aorta de ratos submetidos à DH, DN e 2R1C demonstraram placa ateromatosa com proliferação celular proeminente, e ratos submetidos a DSA também apresentaram placa ateromatosa leve a moderada.

Está claro que o prejuízo do barorreflexo está envolvido na progressão da doença cardiovascular e que a associação de comorbidades acentuam o desenvolvimento da hipertensão e/ou os danos em órgãos-alvo. Neste trabalho nós avaliamos a sensibilidade do barorreflexo na presença de dois importantes FR para a doença cardiovascular e demonstramos que a hipertensão renovascular diminui a sensibilidade da bradicardia, mas não da taquicardia reflexa e que a hipercolesterolemia não interferiu na sensibilidade de nenhum dos dois componentes. No entanto, é possível que o tempo de exposição à dieta hipercolesterolêmica ou à hipertensão renovascular ou até mesmo o tempo de interação entre elas, no animal utilizado neste trabalho, tenha sido insuficiente para produzir alterações significativas na sensibilidade barorreflexa.

De forma importante, vale ressaltar que o tratamento da dislipidemia é a abordagem aceita quase universalmente na prevenção das DCVs (Ceska *et al.*, 2004). Reduzir lipídios pode servir como um método adicional de corrigir a hipertensão em alguns pacientes de alto risco e também exerce outros efeitos positivos sobre o risco cardiovascular (Ceska *et al.*, 2004). Sendo assim, não podemos deixar de considerar que a hipercolesterolemia pode levar a alterações que não foram analisadas neste estudo, comprometendo ainda mais o organismo já acometido pela hipertensão.

6- Sumário dos Resultados e Conclusão

1 - Nossos resultados mostraram que os ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica não apresentaram níveis séricos de colesterol significativamente maiores que aqueles submetidos à dieta controle, não sendo, portanto, adequados ao desenvolvimento do modelo proposto.

2 - Os ratos *Fisher* submetidos à dieta hipercolesterolêmica apresentaram níveis séricos de colesterol significativamente maiores que aqueles submetidos à dieta controle.

3 - A dieta hipercolesterolêmica com deoxicolato de sódio (DS) não elevou significativamente o colesterol sérico dos ratos *Fisher* em relação à dieta hipercolesterolêmica sem DS, no entanto, alterou significativamente o peso relativo do fígado em comparação à dieta hipercolesterolêmica sem DS. Além disso, não alterou significativamente nenhum dos demais parâmetros avaliados (PAM, FC, bradicardia e taquicardia reflexas).

4 - Em ratos *Fisher*, além de altos níveis séricos de colesterol, foram obtidos níveis elevados de PAM nos animais submetidos à cirurgia 2R1C em relação aos animais Sham. Esses animais foram adequados ao desenvolvimento do modelo proposto.

5 - A sensibilidade da bradicardia reflexa foi reduzida em animais com hipertensão renal, associada ou não a hipercolesterolemia, enquanto a sensibilidade taquicárdica não se alterou significativamente em nenhum grupo avaliado.

Nossos dados sugerem que, a diminuição da sensibilidade bradicárdica e a manutenção da sensibilidade taquicárdica encontradas nos animais com hipertensão renovascular podem estar correlacionadas principalmente à redução da atividade parassimpática, uma vez que a alteração no controle barorreflexo foi mais evidente frente a aumentos do que a quedas da pressão arterial. Os resultados sugerem também que a hipercolesterolemia não afeta a sensibilidade barorreflexa, reduzida em decorrência da hipertensão renovascular, no organismo onde hipercolesterolemia e hipertensão co-existem.

7– Referências Bibliográficas

ABDI A., JOHNS E.J. (1997). The effect of angiotensin II receptor antagonists on kidney function in two-kidney, two-clip Goldblatt hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.* **331**:185-92.

AKABANE S., NATSUME T., MATSUSHIMA Y., DEGUCHI F., KURAMOCHI M., ITO K. (1985). Alterations in renal Na₂K-ATPase activity and [³H]ouabain binding in Goldblatt hypertensive rabbits. *J. Hypertens.* **3**:469–474.

ALLEN A. M., MOELLER I., JENKINS T. A., ZHUO J., ALDRED G. P., CHAI S.Y., MENDELSON F.A.O. (1998). Angiotensin receptors in the nervous system. *Brais Res. Bull.* **47**(1): 17-28.

ALZAMORA A. C., SANTOS R. A. S. E CAMPAGNOLE-SANTOS M. J. (2002). Hypotensive effect of ANG II and ANG-(1–7) at the caudal ventrolateral medulla involves different mechanisms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **283**: R1187–R1195.

ALZAMORA A. C., SANTOS R. A. S. E CAMPAGNOLE-SANTOS M. J. (2006). Baroreflex modulation by angiotensins at the rat rostral and caudal ventrolateral medulla. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **290**: 1027-1034.

ANDERSON R. G. (1998). The caveolae membrane system. *Annu. Rev. Biochem.* **67**: 199-225.

ANDRESEN M. C. & BROWN A. M. (1980). Baroreceptor function in spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.* **47**: 829-834.

BEAGLEHOLE R. (1999). International trends in coronary heart disease mortality and incidence rates. *J. Cardiovasc. Risk.* **6**: 63-68.

BERECEK K.H., OKUNO T., NAGAHAMA S. & OPARIL S. (1983). Altered vascular reactivity and baroreflex sensitivity induced by chronic central administration of captopril in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* **5**: 689-700.

BOROVIKOVA L.V., IVANOVA S., ZHANG M., *et al.* (2000). Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* **405**:458–62.

BREDERODE J. E. M., SEAGARD J. L., DEAN C, HOPP F. A., KAMPINE J. P. (1990). Experimental and modeling study of the excitability of carotid sinus baroreceptors. *Circulation Research* **66**: 1510-1525.

- BRISTOW J. D., HONOUR A. J., PICKERING G. W., SLEIGHT P., SMYTH H. S. (1969). Diminished reflex sensitivity reflex in high blood pressure. *Circulation* **39**: 48-54.
- BRITTO R. R., SANTOS R. A. S., FAGUNDES-MOURA C. R., KHOSLA M. C., CAMPAGNOLE-SANTOS M. J. (1997). Role of Angiotensin-(1-7) in the Modulation of the Baroreflex in Renovascular Hypertensive Rats. *Hypertension* **30** (Pt 2): 549-556.
- BRODY M. J., VARNER K. J., VASQUEZ E. C. E LEWIS S. J. (1991). Central nervous system and the pathogenesis of hypertension. Sites and mechanisms. *Hypertension* **18** (suppl. 5): III7-12.
- BROOKS V. L. (1995). Chronic infusion of angiotensin II resets baroreflex control of heart rate by an arterial pressure-independent mechanism. *Hypertension* **26**(3): 420-424.
- BROWN, M. S. E GOLDSTEIN J. L. (1974). Familial hypercholesterolemia: defective binding of lipoproteins to fibroblasts associated com impaired regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzima A reductase ativity. *Proc. Nati. Acad. Sci U.S.A.* **71**: 788-794.
- CAI G-J., MIAO C-Y., XIE H-H., LU L-H., SU D-F. (2005). Arterial baroreflex dysfunction promotes atherosclerosis in rats. *Atherosclerosis* **183**: 41-47.
- CAMPAGNOLE-SANTOS M. J., DIZ D. I. E FERRARIO C. M. (1988). Baroreceptor reflex modulation by angiotensin II at the nucleus tractus solitari. *Hypertension* **11**: I167-I171.
- CAMPAGNOLE-SANTOS M. J., DIZ D. I., SANTOS R. A. S., KHOSLA M. C. E FERRARIO C. M. (1989). Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7) microinjected into the dorsal medial medulla. *American Journal of Physiology* **257**: H324-H329.
- CAMPAGNOLE-SANTOS M. J., HERINGER S. B., BATISTA E. N., KHOSLA M. C. E SANTOS R. A. S (1992). Differential baroreceptor reflex modulation by centrally infused angiotensin peptides. *American Journal of Physiology* **263**: R89-R94.
- CAMPBELL D. J. (1987). Circulation and tissue angiotensin systems. *J. Clin. Invest.* **79**:1.
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (1984). Guide to the Care and Use of Experimental Animals CCAC Ottawa, Canada.
- CASTO R. & PHILLIPS M. I. (1986). Angiotensin II attenuates baroreflex at nucleus tractus solitarius of rats. *Am. J. Physiol.* **250** (Regulatory Integrative comp. Physiol 19): R193-R198.

CESKA R., MELENOVSKY V., MALIK J. *et al.* (2004). Hypolipidemic drugs, blood pressure, heart rate, heart rate variability and sympathetic activity. *International Congress Series* **1262**: 458-461.

CHADE A. R., RODRIGUEZ-PORCEL M., GRANDE J. J., *et al.* (2003). Mechanisms of renal structural alterations in combined hipercolesterolemia and renal artery stenosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **23**: 1295-1301.

CHADE A. R., RODRIGUEZ-PORCEL M., GRANDE J., *et al.* (2002). Distinct renal injury in early atherosclerosis and renovascular disease. *Circulation* **106**: 1165-1171.

CHAMBERS C. M. E NESS G. C. (1997). Translational regulation of hepatic HMG-CoA reductase by dietary cholesterol. *Biochemical and Biophysical Research Communications* vol **232**(2 issue): 278-281.

CHAMBERS C. M. E NESS G. C. (1998). Dietary cholesterol regulates hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene expression in rats primarily at the level of translation. *Arch. Biochem. Biophys.* **354**: 317-322.

CHAMPE P.C. & HARVEY R.A. (2000). Metabolismo de Colesterol e Lipídios. *Bioquímica Ilustrada*. Porto Alegre, Brazil: Artmed 211-234.

CHAVEZ G. Z., CALIGIORNE S. M., SANTOS R. A. R., KHOSLA M. C., CAMPAGNOLE-SANTOS M. J. (1995). Evidence that endogenous angiotensin-(1-7) participates in the modulation of the baroreflex at the nucleus tractus solitarii. *Hypertension* **25**(6): 1389.

CHEN H. I., CHAPLEAU M. W., MCDOWELL T. S., ABBOUD F. M. (1990). Prostaglandins contribute to activation of baroreceptors in rabbits: possible paracrine influence of endothelium. *Circ. Res.* **67**:1394-1404.

COCKERILL G. W., RYE K. A., GAMBLE J. R., VADAS M. A., BARTER P. J. (1995). High-Density Lipoproteins Inhibit Cytokine-Induced Expression of Endothelial Cell Adhesion Molecules. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **15**:1987-1994.

COWLEY A. W., Jr. (1992). Long-term control of arterial blood pressure. *Physiol. Rev.* **72**: 231-300.

CUSHING S. D., BERLINER J. A., VALENTE A. J., *et al.* (1990). Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**: 5134-8.

DALL'AGO P., MAEDA C.Y., DE ANGELIS K., SCHAAN B.D. & IRIGOYEN M.C. (1999). Controle reflexo da pressão arterial no diabetes experimental. *Revista Brasileira de Hipertensão* **6**: 255-266.

DAMPNEY R. A. (1994). Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol. Rev.* **74**: 323-364.

- DOGGRELL S. A. & BROWN L. (1998). Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc. Res.* **39**: 89-105.
- DOLPHIN P. J., FORSYTH S. J. (1983). Nascent hepatic lipoproteins in hypothyroid rats. *Journal of Lipid Research* **24**: 541-551.
- DREWNOWSKI A., POPKIN B. M. (1997). The nutrition transition: new trends in the global diet. *Nutr. Rev.* **55**: 31-43.
- DUKE L. M., EVANS R. G. E WIDDOP R. E. (2005). AT₂ receptors contribute to acute blood pressure-lowering and vasodilator effects of AT₁ receptor antagonism in conscious normotensive but not hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **288**: 2289-2297.
- DZAU V. J. (1986). Significance of the vascular rennin-angiotensin pathway. *Hypertension* **8**: 553-558.
- DZAU V. J. (1988). Circulating versus local renin angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation* **77**: I4-I13.
- ETO M., TOBA K., AKISHITA M., *et al.* (2003). Reduced endothelial vasomotor function and enhanced neointimal formation alter vascular injury in a rat model of blood pressure lability. *Hypertens. Res.* **26**: 991-998.
- FARAH V. M. A., MOREIRA E. D., PIRES M. D., IRIGOYEN M. C. C. E KRIEGER E. M. (1999). Comparison of three methods for determination of baroreflex sensitivity in conscious rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **32**: 361-369.
- FERRARIO C. M. (1990 - A). Importance of renin-angiotensin-aldosterone system (RAS) in the physiology and pathology of hypertension. *Drugs* **39** (suppl. 2): 1-8.
- FERRARIO C. M., BARNES K. L., BLOCK C. H., *et al.* (1990 - B). Pathways of angiotensin formation and function in the brain. *Hypertension* **15**: I13-I19.
- FIELDING C. J. AND FIELDING P. E. (1995). Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J. Lipid Res.* **36**: 211-228.
- FLORAS J.S., HASSAN M.O., JONES J.V., OSIKOWSKA B.A., SEVER P.S. & SLEIGHT P. (1988). Consequences of impaired arterial baroreflexes in essential hypertension: effects on pressor responses, plasma noradrenaline and blood pressure variability. *J.Hypertens.* **6**: 525-535.
- FREITAS, O. C. *et al.* (2001). Prevalência da hipertensão Arterial sistêmica na população Urbana de Catanduva, SP. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* **77**: 9-15.
- FROHLICH E. D. (1989). Angiotensin convertin enzyme inhibitors. Present e future. *Hypertension*, **13** (suppl. 5) I125-130.

- FUENTES R., UUSILATO T., PUSKA P., *et al.* (2003). Blood cholesterol level and prevalence of hypercholesterolaemia in developing countries: a review of population-based studies carried out from 1979 to 2002. *J. Cardiovasc. Risk* **10**: 411-419.
- GINSBERG H. N. & STALENHOEF A. F. (2003). The metabolic syndrome: targeting dyslipidaemia to reduce coronary risk. *J. Cardiovascular Risk* **10**: 121-128.
- GIORGI D. M. A. Endotélio na hipertensão arterial. In: Luz P. L., Laurindo F. R. M. e Chagas A. C. P. (2003). Endotélio e doenças cardiovasculares. São Paulo: Atheneu, p.238-239.
- GOLDBLATT H., LYNCH J., HANZAL R. F., SUMMERVILLE W. W. (1934). Studies on experimental hypertension: I. the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J. Exp. Med.*, **59**: 347.
- GOLDMAN W.F., SAUM W.R. (1984). A direct excitatory action of catecholamines on rat aortic baroreceptors in vitro. *Circ Res.* **55**:18-30.
- GOLDSMITH S. R. E HASKING G. J. (1995). Angiotensin II inhibits the forearm vascular response to increased arterial pressure in humans. *Journal of the American College of Cardiology* **25**(I): 246-250.
- GRANATA A. R., NUMATO Y., KUMADA M., REIS D. J. (1986). A1 noradrenergic neurons tonically inhibit sympathoexcitatory neurons of C1 area in rat brainstem. *Brain Research* **377**: 127-147.
- GRIENGLING K. K., MINIERI C. A., OLLERENSHAW J. D., ALEXANDER R. W. (1994). Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* **74**: 1141-1148.
- GRÖNE H. J., WALLI A., GRÖNE E., *et al.* (1989). Induction of glomerulosclerosis by dietary lipids. A functional and morphologic study in the rat. *Lab. Invest.* **60**: 433-446.
- GUAN S., FOX J., MITCHELL K. D. E NAVAR L.G. (1992). Angiotensin and angiotensin converting enzyme tissue levels in two-kidney, one clip hypertensive rats. *Hypertension* **20**: 763-767.
- GUYTON A. C. (1991). Blood pressure control-special role of the kidneys and body fluids. *Science* **252**: 763-767.
- GUYTON J. R. & KLEMP K. F. (1996). Development of the lipid-rich core in human atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **16**: 4-11.
- HEAD G. A. E BURKE S. L. (2001). Renal and cardiac sympathetic baroreflexes in hypertensive rabbits. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **28**: 972-975.

- HEAD G.A. & MCCARTY R. (1987) Vagal and sympathetic components of the heart rate range and gain of the baroreceptor-heart rate reflex in conscious rats. *J.Auton.Nerv.Syst.* **21**, 203-213.
- HERINGER S. B. (1997). Papel da Angiotensina-(1-7) na Modulação Central do Controle Barorreflexo da Frequência Cardíaca. Tese, Universidade Federal de Minas Gerais.
- HOLUBBRASH C., HASENFUSS G., SCHMIDT S., KNORR A., PIESKE B. (1993). Angiotensin I and II exert inotropic effects in atrial but not in ventricular human myocardium, an in vitro study under physiological experimental conditions. *Circulation* **88**:1228–1237.
- IBSEN H., EGAN B., OSTERZIEL K., VANDER A., JULIOS S. (1983). Reflex-hemodynamic adjustments and baroreflex sensitivity during converting enzyme inhibition with MK-421 in normal humans. *Hypertension* **5**(suppl I): 184-191.
- IRIGOYEN M. C., MOREIRA E.D., CESTARI I. A. & KRIEGER E. M. (1991). The relationship between renal sympathetic nerve activity and arterial pressure after selective denervation of baroreceptors and chemoreceptors. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **24**: 219-222.
- KÁDÁR A. E GLASZ T. (2001). Development of atherosclerosis and plaque biology. *Cardiovascular Surgery*, **9**(2): 109-121.
- KANNEL W. B. (2000). Risk stratification in hypertension: new insights from the Framingham study. *American Journal of Hypertension* **1**: 3S-10S.
- KASISKE B. L., O'DONNELL M. P., SCHIMTZ P. G., *et al.* (1990). Renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney Int.* **37**: 880-891.
- KECTON T. K. & CAMPBELL W. B. (1980). The pharmacologic alteration of rennin release. *Pharmacol. Rev.* **32**(2): 81-227.
- KEIDAR A., ATTIAS J., HEINRICH R., COLEMAN R., AVIRAM M. (1999). Angiotensin II atherogenicity in apolipoprotein E deficient mice is associated with increased cellular biosynthesis. *Atherosclerosis* **146**: 249–257.
- KIRCHHEIM H.R. (1976). Systemic arterial baroreceptor reflex. *Physiol. Rev.* **56**: 100-176.
- KOBAYASHI S., ISHIDA A., MORIYA H., *et al.* (1999). Angiotensin II receptor blockade limits kidney injury in two-kidney, one-clip Goldblatt hypertensive rats with special referente to phenotypic changes. *J. Lab. Clin. Méd.* **133**: 134-143.
- KRIEGER E. M. (1989). Arterial baroreceptor resetting in hypertension. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **15** (suppl): 3-7.

- KRIEGER E. M. (1986). Neurogenic mechanisms in hypertension: resetting of the baroreceptors. *Hypertension* **8** (suppl I):1-7.
- KUMAGAI K., SUSUKI H., RYUZAKI M., *et al.* (1992). Effects of antihypertensive agents on arterial baroreceptor reflexes in conscious rats. *Hypertension* **20**: 701-709.
- KUNZE D. L., KRAUHS J. M., ORLEA C. J. (1984). Direct action of norepinephrine on aortic baroreceptors of rat adventitia. *Am. J. Physiol.* **247**(Heart Circ Physiol. 16): H811-H816.
- KWITEROVICH P. O., Jr. (2000). The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *Am. J. Cardiol.* **86**: 5L-10L.
- LEENEN F.H.H., DE JONG W. (1971). A solid silver clip for induction of predictable levels of renal hypertension in the rat. *J. Appl. Physiol.* **31**:142-144 *apud* Lerman L. O., Chade A. R., Sica V., Napoli C. (2005). Modelos animais de hipertensão: uma revisão. *J. Lab. Clin. Med.* **146**:160-173.
- LEHNINGER A. L., NELSON D. L., COX M. M. (2000). Lehninger Princípios de Bioquímica. 3ª Ed. São Paulo. Sarvier.
- LEONARDI A., SIRONI G., MOTTA G. (2000). Receptors in cardiovascular disease: review and introduction. *Pharmaceutica Acta Helveticae* **74**: 157-161.
- LERMAN L. O., CHADE A. R., SICA V., NAPOLI C. (2005). Modelos animais de hipertensão: uma revisão. *J. Lab. Clin. Med.* **146**:160-173.
- LERMAN L.O., NATH K.A., PORCEL J.K., SCHWARTZ R.S., NAPOLI C., ROMERO J.C. (2001). Increased Oxidative Stress in Experimental Renovascular Hypertension. *Hypertension* **37** [part 2]: 541-546.
- LEVY B.I., DURIEZ M., SAMUEL J.L. (2001). Coronary microvasculature alteration in hypertensive rats. Effect of treatment with a diuretic and an ACE inhibitor. *American Journal of Hypertension* **14**: 7-13.
- LEWIS P.M. DUNN M. P., MCMAHON J. A., *et al.* (2001). Cholesterol modification of sonic hedgehog is required for long-range signaling activity and effective modulation of signaling by Ptc1. *Cell* **105**: 599-612.
- LIBERT C. (2003). Inflammation: a nervous connection. *Nature* **421**:328-9.
- LI D. Y., ZHANG Y. C., PHILIPS M.I., SAWAMURA T., MEHTA J. L. (1999). Upregulation of endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein (LOX-1) in cultured human coronary artery endothelial cells by angiotensin II type 1 receptor activation. *Cir. Res.* **84**: 1043-1049.
- LI D., SALDEEN T., ROMEO F., MEHTA J.L. (2000). Oxidized LDL upregulates angiotensin II type 1 receptor expression in cultured human coronary artery endothelial

- cells: the potential role of transcription factor NF-kappa B. *Circulation* **102**: 1970–1976.
- LI Z., ABOUD F. M., CHAPLEAU M. W. (1992). Aggregating human platelets in carotid sinus of rabbits decrease sensitivity of baroreceptors. *Circ. Res.* **70**: 644-650.
- LI Z., MAO H.Z., ABOUD F. M. E CHAPLEAU M. W. (1996). Oxygen-derived free radicals contribute to baroreceptor dysfunction in atherosclerotic rabbits. *Circulation Research* **79**: 802:811.
- LICHETENTSEIN A. H. (1996). Atherosclerosis. In: Present Knowledge in Nutrition (Ziegler E. & Filer L. J., Jr., eds.), pp. 430-437. ILSI Press, Washington, DC.
- LINZ W., WIEMER G., GOHLKE P., UNGER T., SCHOLKENS B. A. (1995). Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacol. Rev.* **47**: 25-49.
- LI X. C. E WIDDOP R. E. (1995). Regional hemodynamic effects of the AT₁ receptor antagonist CV – 11974 in conscious renal hypertensive rats. *Hypertension* **26**: 989-997.
- LOPEZ A. D. (1993). Assessing the burden of mortality from cardiovascular disease. *World Health Stat Q.* **46**: 91-96.
- MACHADO B.H., MAUAD H., CHIANCA JUNIOR D.A., HAIBARA A.S. & COLOMBARI E. (1997). Autonomic processing of the cardiovascular reflexes in the nucleus tractus solitarii. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **30**: 533-543.
- MAGALDI J. B. (1944). In: Relatório de um estudo sobre nutrição realizado sob os auspícios dos “Fundos Universitários de Pesquisa para a Defesa Nacional”. *São Paulo Médico*, 207.
- MANCIA G. (1983). Reflex control of circulation in normotensive and hypertensive humans. In: Ganten D. & Pfaff D. (Editors), Current Topics in Neuroendocrinology: Central Cardiovascular Control. Springer-Verlag, Berlin, 63-86.
- MANCIA G., FERRARI A., GREGORINI L., LUDBROOK J., & ZANCHETTI A. (1977). Circulatory reflexes from carotid and extracarotid baroreceptor áreas in man. *Circulation Research* **41**: 309-315.
- MATTOS S. L. (2000). Avaliação de modelos dietéticos para estudo de hipercolesterolemia em ratos. *Dissertação de Mestrado*. NUPEB-UFOP.
- MCCUBBIN J.W., GREEM J.H., PAGE I.H. (1956). Baroreceptor function in chronic renal hypertension. *Circ. Res.* **4**: 205-210.
- MICHELINI L. C., OLIVEIRA M., SANTOS M. (1992). Baroreceptor reflex control of heart rate during development of coarctation hypertension. *Hypertension Dallas* **19** (Suppl. II): II159-II163.

- MICHELINI L. C. & BONAGAMBA L. G. H. (1990). Angiotensin II as a modulator of baroreceptor reflexes in the brainstem of conscious rats. *Hypertension* **15**(suppl I): I-145-I-150.
- MINHAJUDDIN M., BEG Z. H., IQBAL J. (2005). Hypolipidemic and antioxidant properties of tocotrienol rich fraction isolated from rice bran oil in experimentally induced hyperlipidemic rats. *Food and Chemical Toxicology* **43**: 747–753.
- MITCHELL K. D. E NAVAR L. G. (1995). Intrarenal actions of angiotensin II in the pathogenesis of experimental hypertension. In: *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management*, editado por J. H. Laragh and B. M. Brenner. New York: Raven, 1995, p. 1437-1450.
- MOGHADASIAN M. H. (2002). Experimental atherosclerosis: a historical overview. *Life Sci.* **70**: 855-865.
- MOREIRA E. D., OLIVEIRA M., KRIEGER E. M. (1988). Impaired baroreflex control of heart rate in high-renin renal hypertension. *J. Hypertension* **6**: 619-625.
- MURPHY C., PARINI P., WANG J., *et al.* (2005). Cholic acid as key regulator of cholesterol synthesis, intestinal absorption and hepatic storage in mice. *Biochimica et Biophysica Acta* **1735**: 167 – 175.
- NAVAR L.G., ZOU L., THUN A.V., WANG C.T., IMIG J.D., MITCHELL K.D. (1998). Unraveling the Mystery of Goldblatt Hypertension. *News Physiol. Sci.* **13**: 170-176.
- NAWROCKI J.W., WEISS S.R., DAVIDSON M.H., SPRECHER D.L., SCHWARTZ S.L., LUPIEN P.J, JONES PH, HABER HE, BLACK DM. (1995).Reduction of LDL cholesterol by 25% to 60% in patients with primary hypercholesterolemia by atorvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **15**: 678–682.
- NESS G. C. E CHAMBERS C. M. (2000).Feedback and hormonal regulation of hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase: the concept of cholesterol buffering capacity. *Exp. Biol. Med.* **224**:8-19.
- NESS G. C. E GERTZ K. R. (2004). Hepatic HMG-CoA reductase expression and resistance to dietary cholesterol. *Exp. Biol. Med.* **229**: 412-416.
- NEUTEL J. M., DAVID H. G., WEBER M. A. (1999). Is high blood pressure a late manifestation of the hypertension syndrome? *American Journal of Hypertension* **12**: 2155-2235.
- NEUTEL J. M., SMITH D. H. G. (1999). Hypertension Control: Multifatorial contributions. *American Journal of Hypertension* **12** (12): 169S.

- NICHOLLS M.G., CHARLES C.J., CROZIER I.G., ESPINER E.A., IKRAM H., RADEMAKER M.J., RICHARDS A.M., YANDLE T.G., (1994). Blockade of the renin-angiotensin system. *J. Hypertens.* **12** (10): S95-S103.
- NICKENIG G, SACHINIDIS A, MICHAELSEN F, BÖHM M, SEEWALD S, VETTER H. (1997). Up-regulation of vascular angiotensin II receptor gene expression by low density lipoprotein in vascular smooth muscle cells. *Circulation* **95**: 473-478.
- NICKENIG G. (2004). Should angiotensin II receptor blockers and statins be combined? *Circulation* **110**: 1013-1020.
- NICKENIG G., HARRISON D.G. (2002 - A). The AT₁-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis, part II: oxidative stress and atherogenesis. *Circulation* **105**: 393-396.
- NICKENIG G., HARRISON D.G. (2002 - B). The AT₁-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis, part II: AT₁ receptor regulation. *Circulation* **105**: 530-536.
- OKRAINEC K., BANERJEE D. K. e EISENBERG M. J. (2004). Coronary artery disease in the developing world. *Am. Heart J.* **148**: 7-15.
- OLIVEIRA D. R., SANTOS R. A. S., SANTOS G. F. P., KHOSLA M. C., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J (1996). Changes in the baroreflex control of heart rate produced by central infusion of selective angiotensin antagonists in hypertensive rats. *Hypertension* **27**: 1284-1290.
- OLSON R. E. (1998). Discovery of the lipoproteins, their role in fat transport and their significance as risk factors. Symposium: Evolution of ideas about the nutritional value of dietary fat. *J. Nutr.* **128**: 439S-443S.
- ORAM J. F. e YOKOYAMA S. (1996). Apolipoprotein-mediated removal of cellular cholesterol and phospholipids. *Journal of Lipid Research* **37**(12): 2473-2491.
- PEHLIVANIDIS A. N., ATHYROS V. G., DEMITRIADIS D. S., PAPAGEORGIOU A. A., BOULOUKOS V. J. e KONTOPOULOS A. G. (2001). Heart rate variability after long-term treatment with atorvastatin in hypercholesterolaemic patients with or without coronary artery disease. *Atherosclerosis* **157**: 463-469.
- PICKERING T. G., GRIBBIN B. & SLEIGHT P. (1972). Comparison of the reflex heart rate response to rising and falling arterial pressure in man. *Circulation Research* **6**: 277-283.
- PINTO Y. M., PAUL M., GANTEN D. (1998). Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovascular Research* **39**: 77-88.

- PLIQUETT R.U., CORNISH K.G., PEULER J.D., ZUCKER I.H. (2003). Simvastatin normalizes autonomic neural control in experimental heart failure. *Circulation* **107**: 2493-2498.
- PLOTH D. W. (1983). Angiotensin-dependent renal mechanisms in two-kidney one-clip renal vascular hypertension. *Am. J. Physiol.* **245** (Renal Fluid Electrolyte Physiol, 14): F131-F141.
- REDDY K. S. (1993). Cardiovascular disease in India. *World Health Stat Q.* **46**: 101-107.
- REDDY K. S. e YUSUF S. (1998). Emerging Epidemic of Cardiovascular Disease in Developing Countries. *Circulation* **97**: 596-601.
- REID I. A. (1984). Actions of angiotensin on the brain: mechanisms and physiologic role. *Am. J. Physiol.* **246**(5Pt 2): F533-F543.
- ROSA C. O., COSTA N. M., LEAL P. F., OLIVEIRA T. T. (1998). The cholesterol-lowering effect of black beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) without hulls in hypercholesterolemic rats. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* **48**(4): 299-305.
- ROS E. (2000). Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis* **151**: 357-379.
- RUSSEL D. W. (2003). The enzymes, regulation, e genetics of bile acid synthesis. *Annu. Rev. Biochem.* **72**: 137-174.
- SABRY M. O. D., SAMPAIO H. A. C., SILVA M. G. C. (2001). Hipertensão e obesidade em um grupo populacional no nordeste do Brasil. *Revista de Nutrição* **15**(2): 132-147.
- SADJADI J., PUTTAPARTHI K., LI L., *et al.* (2002). Upregulation of autocrine-paracrine renin-angiotensin systems in chronic renovascular hypertension. *J. Vasc. Surg.* **36**:386-92.
- SANDER G. E. E GILES T. D. (2002). Hypertension and lipids: lipid factors in the hypertension syndrome. *Curr. Hypertens. Rep.* **4**: 458-463.
- SANTOS R. A. S., BROSNIHAN K. B., CHAPPELL M. C., *et al.* (1988). Converting enzyme activity and angiotensin metabolism in dog braistem. *Hypertension* **11**: I153-I157.
- SANTOS R. S. A., CAMPAGNOLE-SANTOS M. J. (1994). Central and peripheral actions of angiotensin-(1-7). *Braz. J. Med. Biol. Res.* **27**: 1033-1047.
- SANTOS R. A. S., SIMÕES E SILVA A.C., MARIC C., SILVA D.M.R., MACHADO R. P., BUHR I., HERINGER-WALTER S., PINHEIRO S.V.B., LOPES, M.T., WALTHER T. (2003). Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-

- coupled receptor Mas. *Proceedings National Academy Science, USA* **100**(14): 8258-8263.
- SASAKI S., YONEDA Y., FUJITA H., *et al.* (1994). Association of blood pressure variability with induction of atherosclerosis in cholesterol-fed rats. *American Journal of Hypertension* **7**(5): 453-459.
- SBC (Sociedade Brasileira de Cardiologia). III Consenso Brasileiro de Hipertensão Arterial – CBHA. Campos do Jordão (SP) 1998.
- SCHER A.M. (1977). Carotid and aortic regulation of arterial blood pressure. *Circulation* **56**: 521-528.
- SCHNEIDER W. J., BEISIEGEL O., GOLDSTETIN J. L. & BROWN M. S. (1982). Purification of the low-density lipoprotein receptor, an acid glycoprotein of 164.000 molecular weight. *J. Biol. Chem.* **257**: 2664-2673.
- SHARIFI A. M., AKBARLOO N., HESHMATIAN B., ZIAI A. (2003). Alteration of local ACE activity and vascular responsiveness during development of 2K1C renovascular hypertension. *Pharmacological Research* **47**: 201–209.
- SHEPHERD J. T. (1982). Reflex control of arterial blood pressure. *Cardiovasc. Res.* **16**: 357-370.
- SHEPHERD J.T. (1986). Cardiac mechanoreceptors. In: Fozard, H.A., Haber E., Jennings R.B., Katz A.M., Morgan H.E. (eds). *The heart and cardiovascular system*. New York, Raven Press, p. 1535.
- SINGH B. K. E MEHTA J.L. (2001). Interactions between the renin-angiotensin system and dyslipidemia: relevance in atherogenesis and therapy of coronary heart disease. *Indian Heart J.* **53**: 511-118.
- SMALL D. M., DOWLING R. H., REDINGER R. N. (1972). The enterohepatic circulation of bile salts. *Arch. Intern. Med.* **130**: 552-573.
- SOARES P. P. S., USHIZIMA M.R., KRIEGER E. M., IRIGOYEN, M. C. C. (2005). A semi-automatic computerized method to measure baroreflex-mediated heart rate responses that reduces interobserver variability. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **38**: 949-957.
- SPYER K.M. (1981). Neural organization and control of the baroreceptor reflex. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **88**: 23-124.
- STARY H. C., CHANDLER A. B., GLAGOV S., *et al.* (1994). A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Atherosclerosis, American Heart Association. *Circulation* **89**: 2462-2478.

STEINBERG D., LEWIS A. (1997). Conner memorial lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation* **95**: 1062–1071.

STEINBERG D., PARTHASARATHY S., CAREW T. E. *et al.*, (1989). Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Méd.* **320**: 915-924.

STEINBRECHER U.P., PARTHASARATHY S., LEAKE D. S., WWITZTUM J. L., STEINBERG D. (1984). Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 3883-3887.

STRAWN W.B., CHAPPELL M.C., DEAN R.H., KIVLIGHN S., FERRARIO C.M. (2000). Inhibition of early atherogenesis by losartan in monkeys with diet induced hypercholesterolemia. *Circulation* **101**: 1586–1593.

STREHLOW K., SVEN W., MICHAEL B., NICKENIG G. (2000). Angiotensin AT₁ receptor over-expression in hypercholesterolaemia. *Ann. Med.* **32**(6): 386-389.

STRYKER-BOUDIER H. A. J., EVENWEL R. I, SMITS J. F. M., VAN ESSEN H. (1992). Baroreflex sensitivity during the development of spontaneous hypertension in rats. *Clin. Sci.* **62**: 589-594.

SUZUKI J., MATSUBARA H., URAKAMI M., INADA M. (1993). Rat angiotensin II (type 1A) receptor mRNA regulation and subtype expression in myocardial growth and hypertrophy. *Circ. Res.* **73**: 439-447.

TERRIS M. (1999). The development and prevention of cardiovascular disease risk factors: socioenvironmental influences. *Prev. Med.* **29**: S11-7.

The fifth report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (JNC V) (1993). *Arch Intern Med* **153**(2): 149-152.

The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (2003). *JAMA* **289**(19): 2560-2570.

THEILMEIER G., GEEST B., VELDHOVEN P. P. V., *et al.* (2000). HDL-associated PAH-AH reduces endothelial adhesiveness in apoE^{-/-} mice. *FSEB J.* **14**: 2032-2039.

TORZEWSKI M., KLOUCHE M., HOCK J., *et al.* (1998). Immunohistochemical demonstration of enzymatically modified human LDL and its colocalization with the terminal complement complex in the early atherosclerotic lesion. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **18**: 369-378.

TURBINO-RIBEIRO S. M. L., SILVA M. E., CHIANCA Jr. D. A., PAULA H., CARDOSO L. M, COLOMBARI E. (2003). Iron overload in hypercholesterolemic rats affects iron homeostasis and serum lipids but not blood pressure. *J. Nutr.* **133**: 15-20.

- UCHIDA K, NOMURA Y. E TAKEUCHI N. (1980). Effects of cholic acid, chenodeoxycholic, and their related bile acids on cholesterol, phospholipid, and bile acid levels in serum, liver, and feces of rats. *J. Biochem.* **87**: 187-194.
- VERBENE A.J. & GUYENET P.G. (1992). Midbrain central gray: influence on medullary sympathoexcitatory neurons and the baroreflex in rats. *Am. J. Physiol.* **263**: R24-R33.
- WANG C., DOBRYNSKI E., CHÃO J. E CHÃO L. (2001). Adrenomedullin gene delivery attenuates renal damage and cardiac hypertrophy in Goldblatt hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol* **280**: F964-F971.
- WANG D-S, XIE H-H, SHEN F-M, CAI G-J E SU D-F. (2005). Blood pressure variability, cardiac baroreflex sensibility and organ damage in experimentally hypertensive rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **32**: 545-552.
- WANG W., HAN H.Y. E ZUCKER I. H. (1996). Depressed baroreflex in heart failure is not due to structural change in carotid sinus nerve fibers. *Journal of the Autonomic Nervous System* **57**: 101-108.
- WANNER C., QUASCHNING T. (2001). Dyslipidemia and renal disease: pathogenesis and clinical consequences. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **10**: 195-201.
- WATANABE T., PAKALA R., KATAGIRI T., BENEDICT C.R. (2001). Mildly oxidized low-density lipoprotein acts synergistically with angiotensin II in inducing vascular smooth muscle cell proliferation. *J. Hypertens.* **19**: 1065-73.
- WILLIAN J. R., HARRISON T. R. & GROLLMAN A. (1939). A simple method for determining the systolic blood pressure of the unanesthetized rat. *J. Clin. Invest.*, **18**: 373.
- WITZTUM J. L. E STEINBERG D. (1991). Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J. Clin. Invest.* **88**: 1785-1792.
- XAVIER-NETO J., MOREIRA E. D. & KRIEGER E. M. (1996). Viscoelastic mechanisms of aortic baroreceptor resetting to hypotension and to hypertension. *American Journal of Physiology* **271**: H1407-H1415.
- XIE P., CHAPLEAU M. W., MCDOWELL T. S., HAJDUCZOK G., ABOUD F. M. (1990). Mechanism of decreased baroreceptor activity in chronic hypertensive rabbits: role of endogenous prostanoids. *J. Clin. Invest.* **86**: 625-630.
- YANCEY P. G., BORTNICK A. E., KELLNER-WEIBEL G., LIERA-MOYA M., PHILLIPS M. C., ROTHBLAT G. H. (2003). Importance of Different Pathways of Cellular Cholesterol Efflux. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **23**: 712-719.
- YAO C., WU Z., WU J. (1993). The changing pattern of cardiovascular diseases in China. *World Health Stat Q.* **46**: 113-118.

YLÄ-HERTTUALA S., PALINSKI W., BUTLER S.W., PICARD S., STEINBERG D., WITZTUM J.L. (1994). Rabbit and human atherosclerotic lesions contain IgG that recognizes epitopes of oxidized LDL. *Arterioscler. Thromb.* **14**: 32–40.

ZHANG Y. E MANGELSDORF D. J. (2002). Luxuries of Lipid Homeostasis: The Unity of Nuclear Hormone Receptors, Transcription Regulation, and Cholesterol Sensing. *Molecular interventions* **2**(2): 78-87.