



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

**ANA BEATRIZ LIMA CAVALCANTE**

**COMPORTAMENTO INGESTIVO E ALTERAÇÕES DA PRESSÃO ARTERIAL NA  
PROLE DE RATAS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2-RINS-1-CLIFE**

**FORTALEZA**

**2024**

ANA BEATRIZ LIMA CAVALCANTE

**COMPORTAMENTO INGESTIVO E ALTERAÇÕES DA PRESSÃO ARTERIAL NA  
PROLE DE RATAS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2-RINS-1-CLIFE**

Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Ciências biomédicas.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

C364c Cavalcante, Ana Beatriz Lima.  
Comportamento ingestivo e alterações da pressão arterial na prole de ratas com hipertensão renovascular 2-rins-1-clipe / Ana Beatriz Lima Cavalcante. – 2024.  
55 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Cardiovasculares, Fortaleza, 2024.  
Orientação: Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari.

1. Hipertensão renovascular. 2. Pressão arterial. 3. Água. 4. Sódio. I. Título.

CDD 616.1

---

ANA BEATRIZ LIMA CAVALCANTE

**COMPORTAMENTO INGESTIVO E ALTERAÇÕES DA PRESSÃO ARTERIAL NA  
PROLE DE RATAS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2-RINS-1-CLIFE**

Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Ciências biomédicas.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari

Aprovado em 15/03/2024.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Mariana Ruiz Lauer  
University of Minnesota

---

Profa. Dra. Graziela Torres Blanch  
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

---

Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari  
Universidade Federal do Ceará

*Dedico esse trabalho aos amores da minha vida:*

*Meus pais Ana Isabel e Francisco Irismar, ao meu irmão Breno por serem a minha base e inspiração de vida, e ao meu companheiro de vida Rodrigo Lima.*

## **Agradecimentos**

Ao meu bom Deus por me guiar e pelas bênçãos que me concedeu e concede ao longo dos meus dias,

A minha família pelo amor e apoio em cada escolha e novo desafio, aos meus pais Ana Isabel e Francisco Irismar pelo amor inigualável e por me ensinar o valor da perseverança, ao meu irmão Breno Luiz que mesmo distante sempre se faz presente em cada conversa e conselho e por ser a minha inspiração para iniciar na pesquisa científica. Aos meus avós Terezinha Maria, José Melo, Francisca Cavalcante, Adalberto Cavalcante por serem as fontes de sabedoria e luta em meus dias.

Aos orientadores, Dra. Camila Ferreira Roncari e Dr. Richard Boarato David pelo cuidado em instruir e guiar o desenvolvimento da pesquisa e pela receptividade no LANCI (laboratório de neurofisiologia e comportamento ingestivo), onde foi desenvolvido boa parte desse trabalho. Em especial, agradeço a professora Dra. Camila Ferreira Roncari pela paciência e a dedicação em ensinar cada detalhe dos protocolos e por estimular e despertar a curiosidade científica, além de ser uma inspiração como ser humano, professora e cientista.

Ao professor Dr. Daniel Freire de Sousa pela amizade e apoio em continuar e persistir na pesquisa e por incentivar a minha jornada na Fisiologia Humana.

Aos meus amigos da graduação Aline Camurça e Luan Maciel pela amizade que mesmo distantes me incentivam e apoiam em minha jornada

Por cada membro que apoiou a realização desse trabalho e que passou pelo Laboratório de Neurofisiologia e Comportamento Ingestivo (LANCI) – em especial aos meus colegas que tornaram os dias mais alegres Gabriela Freire, Mateus Cunha, Maxwell Sampaio, Erly Yicela, Rian Victor, Thiago Amorim, Raquel Nogueira, Yure Moreira.

Aos colaboradores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC) que apoiaram a realização desse trabalho tornando o ambiente mais agradável.

Ao LELC (Laboratório Escola Luís Capelo) na pessoa do Prof. Dr. Armênio Aguiar que sempre foi muito receptivo em partilhar os conhecimentos e a utilização dos aparelhos para a pesquisa, além dos técnicos Márcia e Haroldo pelo apoio e ajuda.

A Universidade Federal do Ceará por ser uma casa para o conhecimento e que me possibilitou dedicar ao desenvolvimento desse trabalho

A Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - pelo apoio científico e financeiro para o desenvolvimento desse trabalho.

Aos professores participantes da banca examinadora de qualificação e de defesa, Dr. Rodrigo Siqueira, Dr. Daniel Sousa, Dr. Thyago Queiroz, Dra. Mariana Lauer, Dra. Graziela Blanch, que se dedicaram e se prontificaram a ler este trabalho e pelas considerações enriquecedoras.

Por fim e não menos importante, a todas as vidas não humanas que passaram por mim e contribuíram direta e indiretamente e tornaram possível o desenvolvimento dessa pesquisa.

Gratidão!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

- Arthur Schopenhauer

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1</b>	<b>Hipertensão arterial sistêmica .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2</b>	<b>Hipertensão renovascular em modelos animais .....</b>	<b>17</b>
<b>1.3</b>	<b>Efeito do estímulo natriorexigênico durante a gestação sobre a prole .....</b>	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO .....</b>	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>Animais .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Cirurgia para desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C nas ratas .....</b>	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Pletismografia de cauda para registro indireto da pressão arterial sistólica (PAS) .....</b>	<b>23</b>
<b>3.4</b>	<b>Acasalamento e obtenção da prole .....</b>	<b>23</b>
<b>3.5</b>	<b>Determinação da composição corporal por impedância elétrica .....</b>	<b>24</b>
<b>3.6</b>	<b>Canulação da artéria femoral para medida dos parâmetros cardiovasculares .....</b>	<b>25</b>
<b>3.7</b>	<b>Mensuração da ingestão de água, NaCl 0,3 M, ração e volume urinário .....</b>	<b>26</b>
<b>3.8</b>	<b>Eutanásia e análise dos rins .....</b>	<b>26</b>
<b>3.9</b>	<b>Apresentação dos resultados e análise estatística .....</b>	<b>27</b>
<b>3.10</b>	<b>Representações esquemáticas do desenho experimental.....</b>	<b>27</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADO .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Peso corporal de ratas 2R1C e sham durante o período de desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Pressão arterial sistólica (PAS) de ratas 2R1C e sham durante o período de desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C .....</b>	<b>30</b>
<b>4.3</b>	<b>Composição corporal das ratas 2R1C e sham .....</b>	<b>31</b>
<b>4.4</b>	<b>Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) de ratas 2R1C e sham</b>	
<b>4.5</b>	<b>Relação peso rim esquerdo/rim direito em ratas 2R1C e sham.....</b>	<b>34</b>
<b>4.6</b>	<b>Peso corporal dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀), após o desmame (25 dias de vida).....</b>	<b>35</b>

<b>4.7</b>	<b>Peso corporal diário dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀).....</b>	<b>36</b>
<b>4.8</b>	<b>Consumo diário de ração dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀).....</b>	<b>38</b>
<b>4.9</b>	<b>Ingestão diária de água e sódio dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀).....</b>	<b>40</b>
<b>4.10</b>	<b>Volume urinário dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀) .....</b>	<b>42</b>
<b>4.11</b>	<b>Pressão arterial média (PAM) e Frequência cardíaca (FC) dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀).....</b>	<b>44</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>50</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>51</b>

## RESUMO

A concentração extracelular do íon sódio, determinante da osmolaridade plasmática, da volemia e, por conseguinte, da pressão arterial (PA), é regulada por um complexo mecanismo homeostático que envolve a integração autonômica, neuroendócrina e comportamental. A ingestão de sódio em excesso constitui fator de risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como hipertensão arterial (HA). Além das mudanças homeostáticas ocorridas com a elevação da pressão arterial, desafios durante o período gestacional podem causar mudanças permanentes na regulação homeostática no longo prazo, o que favorece o desenvolvimento de disfunções fisiológicas tardias na vida adulta. Diante disso, o presente estudo teve por objetivo: verificar as alterações na pressão arterial e o comportamento ingestivo de filhotes macho e fêmea nascidos de ratas com hipertensão renovascular 2-rins-1-clipe (2R1C) estabelecida previamente à gestação. Foram utilizadas ratas Wistar pesando entre 150 e 180 g para indução da hipertensão renovascular 2R1C. Após 6 semanas de acompanhamento da PA e confirmação da hipertensão 2R1C as fêmeas foram enviadas para acasalamento. As proles macho e fêmea foram separados em caixas coletivas após o desmame até atingirem a fase adulta. A composição corporal das mães foi avaliada por impedância bioelétrica, em seguida, foi realizada a canulação da artéria femoral para registro da PA. Foram realizadas medidas diárias de peso, ingestão de ração, água e NaCl 0,3 M e volume urinário na prole das ratas 2R1C e sham. Ao final dos experimentos, foram registradas a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) destes animais. A estenose parcial da artéria renal, com rim contralateral intacto, induziu um aumento da PA sistólica e, conseqüentemente, da PAM e FC nas fêmeas. Não houve diferenças significativas no índice de massa corporal, líquido intracelular e quantidade total de água, porém as ratas 2R1C tiveram aumento significativo no líquido extracelular e massa adiposa e redução na massa livre de gordura em comparação as ratas sham. Houve aumento significativo da massa corporal da prole (machos e fêmeas) de mães 2R1C, sem alteração no consumo de ração. A prole de ratas 2R1C também apresentou maior ingestão diária de NaCl 0,3 M e volume urinário e menor PAM em relação à prole de ratas sham. Dessa forma os resultados do presente estudo sugerem que a hipertensão renovascular materna tem efeitos sobre a pressão arterial e comportamento ingestivo da prole.

**Palavras-chave:** hipertensão renovascular; pressão arterial; água; sódio;

## ABSTRACT

Extracellular concentration of sodium, which determines plasma osmolarity, blood volume and, consequently, arterial pressure (AP), is regulated by a complex homeostatic mechanism that involves autonomic, neuroendocrine and behavioral integration. Excess sodium intake is a risk factor for the development of cardiovascular diseases, such as arterial hypertension (AH). In addition to the homeostatic changes that occur with increased BP, challenges during gestational period can cause permanent changes in homeostatic regulation in the long term, which favors the development of physiological dysfunctions later in adult life. Therefore, the present study aimed to verify changes in arterial pressure and ingestive behavior of male and female offspring of dams with 2-kidney-1-clip renovascular hypertension (2K1C) established prior to pregnancy. Wistar rats weighing between 150 and 180 g were used to induce 2K1C renovascular hypertension. After 6 weeks of BP monitoring and confirmation of 2K1C hypertension, the females were sent for mating. Male and female offspring were separated into collective boxes after weaning until they reached adulthood. The dams' body composition was assessed by bioelectrical impedance and then femoral artery cannulation was performed to record AP. Daily measurements of weight, food, water and 0.3 M NaCl intake and urinary volume were recorded in 2K1C and sham offspring. At the end of the experiments, mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) of the offspring were recorded. Renal artery partial stenosis, with an intact contralateral kidney, induced an increase in systolic AP and, consequently, MAP and HR in females. There was no significant difference in body mass index, intracellular fluid and total amount of water, however 2K1C rats had a significant increase in extracellular fluid and adipose mass and a reduction in fat-free mass compared to sham rats. Body weight was significantly increased in the offspring (male and female) of 2K1C dams, with no change in food intake. The offspring of 2K1C rats also had higher daily intake of 0.3 M NaCl and urinary volume and lower MAP compared to the offspring of sham rats. Therefore, the present results suggest that maternal renovascular hypertension arterial pressure and ingestive behavior of offspring.

**Keywords:** renovascular hypertension; arterial pressure; water; sodium.

## LISTA DE FIGURAS

**FIGURA 1** - Ilustração representativa da hiperativação do sistema-renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) após a diminuição do fluxo sanguíneo renal.

**FIGURA 2** - Desenho demonstrando o posicionamento dos eletrodos no animal para avaliação da composição corporal por impedância bioelétrica.

**FIGURA 3** - Reconhecimento e isolamento da artéria femoral para a canulação.

**FIGURA 4** - Inserção da cânula na artéria femoral e presença de fluxo sanguíneo.

**FIGURA 5** - Desenho esquemático do protocolo experimental realizado com as fêmeas genitoras.

**FIGURA 6** – Desenho esquemático do protocolo experimental realizado com PRH e PRN de ambos os sexos para avaliação do peso corporal e da ingestão de NaCl 0,3 M e água, consumo de ração, volume urinário.

**FIGURA 7** - Peso corporal de ratas 2R1C e sham durante o desenvolvimento da hipertensão renovascular

**FIGURA 8** - Pressão arterial sistólica (PAS) em ratas 2R1C e sham.

**FIGURA 9** - (A) Índice de massa corporal - IMC, (B) Líquido intracelular - LIC, (C) Líquido extracelular - LEC, (D) Quantidade total de água - QTA, (E) Massa livre de gordura - MLG, (F) Massa adiposa – MA em ratas 2R1C e sham, após o período gestacional e de lactação.

**FIGURA 10** - (A) Pressão arterial média – PAM e (B) Frequência cardíaca – FC em ratas Sham e 2R1C.

**FIGURA 11** - Relação renal obtida pelo peso do rim esquerdo/rim direito de ratas 2R1C e sham.

**FIGURA 12** - Peso corporal das proles macho (A) e fêmea (B) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH) após o período de desmame (25 dias de vida).

**FIGURA 13** - Peso corporal diário da prole macho (A) e fêmea (B) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH).

**FIGURA 14** - Consumo diário de ração da prole macho (A) e fêmea (B) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH).

**FIGURA 15** - Ingestão diária de água dos filhotes machos (A) e fêmeas (B) e ingestão diária de sódio dos filhotes machos (C) e fêmeas (D) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH).

**FIGURA 16**- Volume urinário das proles de machos (A) e fêmeas (B) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH).

**FIGURA 17** - Pressão arterial média de filhotes machos (A) e fêmeas (B) e frequência cardíaca dos filhotes machos (C) e fêmeas (D) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH).

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

2R1C	Hipertensão Renovascular 2 rins 1 clipe
ANG I	Angiotensina I
ANG II	Angiotensina II
BHE	Barreira Hematoencefálica
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
DC	Débito Cardíaco
DCVs	Doenças Cardiovasculares
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EPM	Erro Padrão da Média
FC	Frequência Cardíaca
HA	Hipertensão Arterial
HARV	Hipertensão Arterial Renovascular
ICV	Intracerebroventricular
IMC	Índice de Massa Corporal
LEC	Líquido Extracelular
LIC	Líquido Intracelular
MA	Massa Adiposa
MLG	Massa Livre de Gordura
MnPO	Núcleo Pré-óptico mediano
NPBL	Núcleo Parabraquial
OCVs	Órgãos Circunventriculares
OSF	Órgão Subfornical
OVLТ	Órgão Vasculoso da Lâmina Terminal

PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
PAP	Pressão Arterial Pulsátil
PAS	Pressão Arterial Sistólica
RD	Rim Direito
RE	Rim Esquerdo
PRH	Prole de Rata Hipertensa
PRN	Prole de Rata Normotensa
QTA	Quantidade total de água
RE/RD	Relação Peso Rim Esquerdo/Rim Direito
SC	Subcutânea
SHAM	Ratos Normotensos
SRA	Sistema Renina Angiotensina
VL	Ventrículo Lateral
♂	Macho
♀	Fêmea

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Hipertensão arterial sistêmica

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica silenciosa e com origem multifatorial, caracterizada pela sustentação do aumento no nível da pressão arterial (PA), pressão sistólica (PAS) maior ou igual a 140 mmHg e/ou pressão diastólica (PAD) maior ou igual a 90 mmHg (Barroso et al., 2021, capítulo 1). Têm como consequência alterações funcionais e estruturais de órgãos alvo (coração, rins, vasos sanguíneos e encéfalo) e alterações metabólicas, com risco de eventos cardiovasculares. O tratamento e controle da HAS são fundamentais para a redução desses eventos (Barroso et al., 2021, capítulo 1). A HAS tem alta prevalência em todo o mundo e é considerada um dos principais fatores de risco modificável para o desencadeamento de importantes problemas de saúde. A mortalidade por doenças cardiovasculares (DCV) aumenta gradativamente com a elevação da PA, tendo sido demonstrada a associação de eventos cardiovasculares com valores considerados ainda dentro da faixa de normalidade da PA como 115/75 mmHg. As DCV têm sido uma das principais causas de morte no mundo, podendo estar relacionada a acidente vascular encefálico (AVE), doença isquêmica do coração (DIC) ou doença renal terminal. Além disso, as DCV são responsáveis por altas taxas de internações, ocasionando maiores custos socioeconômicos. A HAS afeta milhões de brasileiros, direta ou indiretamente (Barroso et al., 2021, capítulos 1 e 2). Adultos com acréscimo de 2,4 kg/m<sup>2</sup> no índice de massa corporal (IMC) têm maiores riscos de desenvolver hipertensão e o padrão alimentar brasileiro contemporâneo rico em sal, açúcares e gorduras têm sido correlacionadas com a elevação da PA. O consumo médio de sódio superior a 2 g por dia eleva a PAS em 4,5 a 6,0 mmHg e a PAD em 2,3 a 2,5 mmHg comparado a indivíduos com consumo compatível ao recomendado pela Organização Mundial de Saúde (Barroso et al., 2021, capítulo 2).

A hipertensão arterial primária é idiopática, no entanto a forma de hipertensão secundária tem causas identificáveis passíveis de intervenções específicas para controle pressórico, porém com maiores riscos cardiovasculares e renais pelos níveis mais elevados e sustentados da PA. Existem causas detectáveis não endócrinas (doença renal crônica e hipertensão renovascular), endócrinas (hiperaldosteronismo primário, feocromocitoma, hipotireoidismo, hipertireoidismo, hiperparatireoidismo primário, síndrome de Cushing, acromegalia e obesidade) e aquelas ocasionadas por displasias fibromusculares (coarctação da aorta e apneia obstrutiva do sono) ou de origem medicamentosa (hormônios, substâncias exógenas) (Barroso et al., 2020, capítulo 15). Dentre os tipos apresentados, o foco desse

estudo se concentra na hipertensão arterial renovascular (HARV), tipo de causa não endócrina, reversível cirurgicamente (revascularização) em pacientes com menos comorbidades. A HARV ocorre por obstrução/estenose total ou parcial (maior que 70%) da artéria renal, uni ou bilateralmente, com isquemia renal considerável. As manifestações clínicas são heterogêneas, evoluem de forma silenciosa com alterações hemodinâmicas mínimas até níveis críticos de ativação fisiopatológicos hipertensivos e de isquemia renal (Barroso et al., 2020, capítulo 15).

## **1.2 Hipertensão renovascular em modelos animais**

O modelo experimental de hipertensão renovascular (2-rins-1-clipe) ou de Goldblatt simula uma doença silenciosa e grave cujos sintomas podem se manifestar após vários anos e é caracterizado pela ativação do sistema-renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). O desenvolvimento da hipertensão arterial no modelo de Goldblatt começa com a hiperestimulação do sistema renina-angiotensina (RAS) levando a um quadro de hiperreninemia. O rim com estenose parcial aumenta a secreção de renina das células justaglomerulares, e a renina circulante hidrolisa o angiotensinogênio, uma  $\alpha$ 2-globulina, em angiotensina I (ANG I), um decapeptídeo cujos efeitos fisiológicos são menos compreendidos que os da angiotensina II (ANG II). A ANG I perde dois aminoácidos terminais e é convertida em um octapeptídeo fisiologicamente ativo, uma reação catalisada pela enzima conversora de angiotensina (ECA) com consequente aumento dos níveis de ANG II circulante. (Goldblatt et al., 1934; Martinez-Maldonado.,1991; Leenen et al., 1975; Lincevicius et al., 2015; Textor, 2017; Roncari et al., 2018). Estudos clássicos demonstraram a natriofilia (preferência por sódio) e polidipsia (aumento da sede), surgidas logo após a 1<sup>o</sup> semana, em ratos submetidos ao procedimento experimental de oclusão parcial da aorta abdominal entre as artérias renais, com redução do fluxo sanguíneo ao rim esquerdo (COSTALES; FITZSIMONS; VIJANDE, 1984). A indução cirúrgica de estenose parcial da artéria renal esquerda, modelo experimental conhecido por hipertensão renovascular 2-rins-1-clipe ou 2R1C (GOLDBLATT et al., 1934), promove a ativação do SRAA, caliurese, retenção de sódio, hipervolemia e aumento da ingestão de NaCl isotônico (MOHRING et al.,1975; MOHRING; PETRI; MOHRING, 1975).

Por outro lado, uma redução tardia na preferência por sódio em ratos 2R1C precedida por aproximadamente duas semanas de natriofilia foi observada por Forman e Falk (FORMAN; FALK, 1979). Neste estudo o comportamento ingestivo foi avaliado durante quatro semanas após a estenose renal, o que sugere a ocorrência de alterações no padrão do comportamento ingestivo ao longo do desenvolvimento da hipertensão renovascular.

Recentemente, demonstramos que ratos 2R1C apresentam uma fase inicial natriofílica, com início na 2<sup>o</sup> semana após a estenose renal, persistindo até a 5<sup>o</sup> semana (RONCARI et al., 2018). Após este, período, a ingestão espontânea de NaCl hipertônico e de água é reduzida aos níveis dos animais normotensos, embora a atividade de renina plasmática esteja triplicada na 6<sup>o</sup> semana pós-cirúrgica. Ainda, estes animais apresentaram maior resposta natriorexigênica em resposta à ANG II intracerebroventricular ou a hipovolemia (RONCARI et al, 2018). Estes resultados sugerem que o SRAA permanece ativado, ao menos durante as seis primeiras semanas após a indução da estenose parcial da artéria renal esquerda e que os animais são mais responsivos, ou sensibilizados, aos estímulos natriorexigênicos. A redução da ingestão espontânea de sódio após a fase natriofílica pode decorrer de um aumento do tônus inibitório exercido por neurônios romboencefálicos de vias antinatriorexigênicas, porém esta hipótese ainda carece de comprovação experimental.

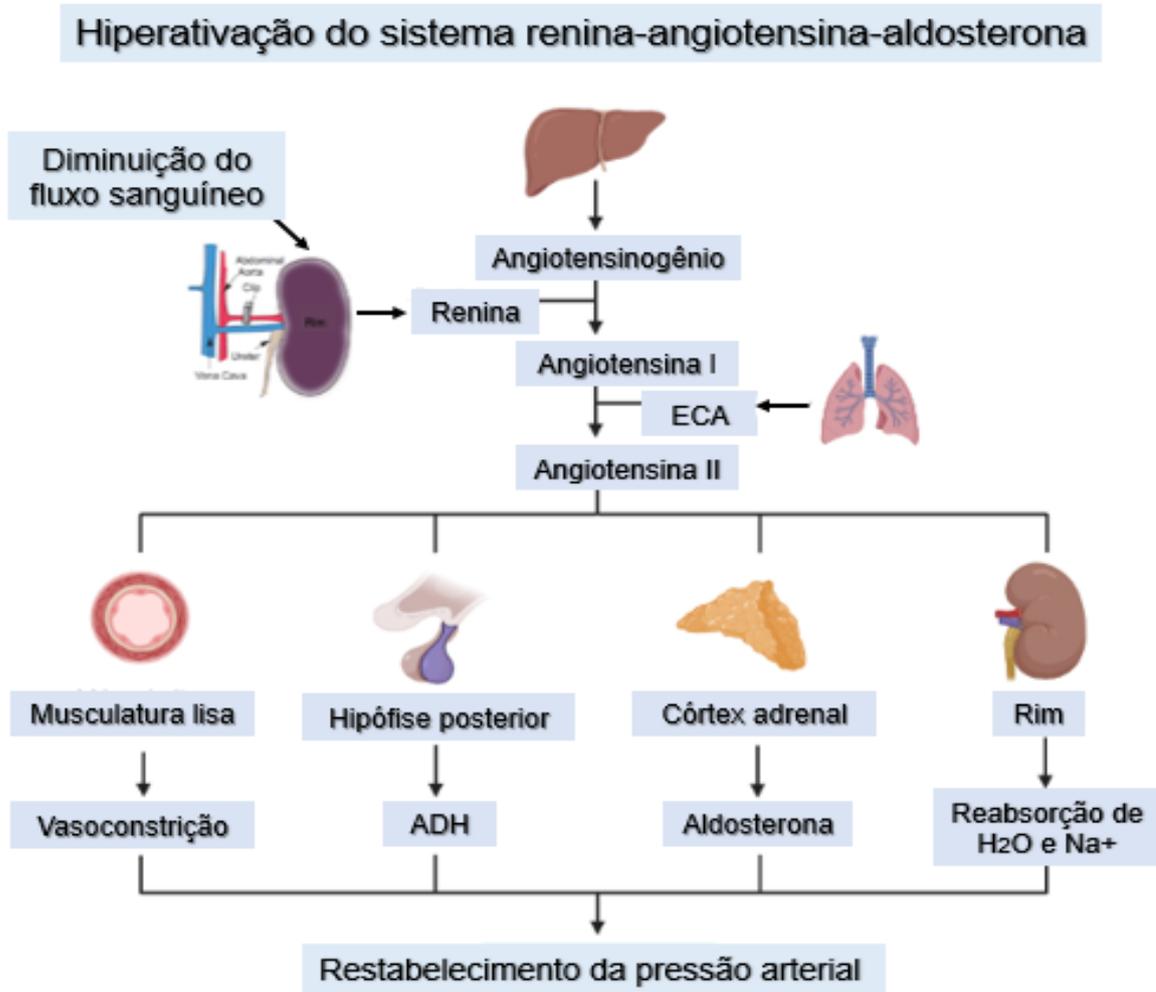


Figura 1 – Ilustração representativa da hiperativação do sistema-renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) após a diminuição do fluxo sanguíneo renal. Fonte: acervo pessoal da pesquisadora.

### 1.3 Efeito do estímulo natriorexigênico durante a gestação sobre a prole

A programação fetal durante o período gestacional pode causar mudanças permanentes na regulação homeostática no longo prazo, o que favorece o desenvolvimento de disfunções fisiológicas tardias na vida adulta. (BARKER, 1990; FOWDEN; GIUSSANI; FORHEAD, 2006). Como exemplo, a restrição a uma dieta proteica é associada ao aumento da PA na prole via mecanismos dependente de ANG II (LANGLEY-EVANS; JACKSON, 1995).

Ratas que foram submetidas a estímulos pressores crônicos durante o período gestacional dão origem a animais sensibilizados ao efeito pressor da ANG II (XUE et al., 2017). O início do desenvolvimento dos mecanismos dipsogênicos ocorre durante o início do desenvolvimento embrionário e pode ser suscetível a mudanças intraútero (ROSS; NIJLAND,

1998). A velocidade com que os fetos de ovinos começam a deglutição após receber ANG II é similar à velocidade com que os animais adultos começam a ingerir água. (XU et al., 2001).

Para que os órgãos e tecidos possam executar suas funções adequadamente, o volume adequado dos compartimentos intracelular e extracelular deve ser mantido, considerando-se a constante perda de água e sódio nos vertebrados pelo suor, saliva, excreção urinária e pela própria respiração. A regulação da volemia depende de ajustes no conteúdo hídrico plasmático e da natremia efetuados, ao menos em mamíferos, via mecanismos renais, neuroendócrinos e comportamentais (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004; JOHNSON, 2007; JOHNSON; THUNHORST, 1997).

Alterações de funcionamento no sistema de controle hidroeletrolítico podem ser observadas, em ratos, após o nascimento. Filhotes com 6 dias de idade, nascidos de ratas hipertensas, apresentam maior ativação de áreas encefálicas envolvidas no controle hidroeletrolítico e pressórico, como órgão subfornical (SFO), OVLT, o MnPO e o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), em comparação à prole de ratas normotensas após administração de isoproterenol (agonista de receptores beta adrenérgicos), indutor da secreção de renina (ARGUELLES et al., 2017). Em ratos adultos a ingestão de solução salina, induzida por sete dias de restrição de sódio alimentar, é maior na prole de ratas hipertensas por estenose da aorta abdominal em comparação à prole de ratas normotensas (VIJANDE et al., 1996).

## **2 OBJETIVO**

O objetivo geral desse trabalho foi verificar as alterações da pressão arterial e o comportamento ingestivo de filhotes machos e fêmeas nascidos de ratas com hipertensão renovascular 2R1C estabelecida previamente à gestação.

Objetivos específicos:

- Acompanhar o desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C nas ratas genitoras;
- Caracterizar a composição corporal das ratas hipertensas 2R1C após desmame da prole;
- Determinar o efeito da hipertensão renovascular 2R1C materna sobre o peso corporal e pressão arterial da prole;
- Investigar se há alteração no comportamento ingestivo e excreção urinária na prole de ratas hipertensas 2R1C.

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos e ratas da linhagem Wistar (150 - 180 g) totalizando 4 machos e 14 fêmeas com idade entre 3-4 meses (120 dias), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará - UFC, bem como a prole oriunda do acasalamento desses animais (76 filhotes: 46 machos e 30 fêmeas), para a execução do presente estudo. Os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Neurofisiologia e Comportamento Ingestivo (LANCI-UFC) em caixas coletivas com cama de maravalha e/ou gaiolas metabólicas de aço inoxidável, com livre acesso a ração Nuvillab CR-1 irradiada (Quimtia, Colombo, Brasil) e bebedouros contendo água e NaCl 0,3 M e permaneceram em ambiente climatizado (temperatura e umidade controlados), com ciclo claro-escuro de doze horas (luzes acesas às 7 h). Para acasalamento, as ratas foram transferidas para o Biotério Setorial do Porangabuçu “Prof. Eduardo Torres”, após a confirmação da prenhez, as mesmas foram separadas em caixas individuais onde permaneceram até o desmame da prole. Os protocolos realizados foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais da UFC (CEUA-UFC) sob o número de protocolo 2106281021.

#### **3.2 Cirurgia para desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C nas ratas**

As ratas foram anestesiadas com injeção intraperitoneal (ip) de cetamina (80 mg/kg; Dechra Brasil, Londrina, PR, Brasil) combinada com xilazina (5 mg/kg; Syntec do Brasil Ltda., Santana de Parnaíba, SP, Brasil), posicionadas em uma mesa cirúrgica, onde foi realizada uma laparotomia para exposição do rim esquerdo. A artéria renal esquerda foi cuidadosamente isolada para a colocação de um clipe de prata (espessura de 0,25 mm e diâmetro interno de 0,2 mm) que ocluiu parcialmente a artéria.

Nas ratas com cirurgia fictícia (ratas sham normotensas - RSN), o mesmo procedimento cirúrgico foi realizado, exceto a inserção do clipe de prata. A incisão foi suturada e, imediatamente após a cirurgia, as ratas receberam uma injeção intramuscular (im) de antibiótico (penicilinas – 24.000 UIs e estreptomicina/diidroestreptomicina – 10 mg; Pentabiótico veterinário – Zoetis, Campinas, SP, Brasil) e uma injeção subcutânea (sc) de analgésico/anti-inflamatório (cetoprofeno – 5 mg/kg; Agener União Saúde Animal, Embu-Guaçu, SP, Brasil).

### **3.3 Pletismografia de cauda para registro indireto da pressão arterial sistólica (PAS)**

Após a recuperação da anestesia da cirurgia para desenvolvimento da hipertensão 2R1C ou cirurgia fictícia (sham), as ratas foram alojadas em caixas coletivas (3 ratas/caixa) com água e ração ad libitum até a 6ª semana pós-cirúrgica, período de desenvolvimento da hipertensão renovascular. Entre 2ª e 6ª semana após a cirurgia 2R1C, a PAS foi mensurada semanalmente através do método de pletismografia de cauda, utilizando o MRBP System (IITC Life Science). Para treinamento e adaptação ao procedimento de medida indireta da pressão arterial sistólica pelo método de pletismografia de cauda, três dias antes de iniciar os registros, uma vez ao dia, as ratas foram colocadas nos contensores por aproximadamente 15 minutos. Nos dias de aferição, as ratas foram colocadas em uma caixa térmica a 37°C durante dez minutos para aquecimento corporal. Após o aquecimento, a região proximal da cauda dos animais foi envolvida por um manguito de borracha acoplado a um esfigmomanômetro programado para inflar e desinflar automaticamente em intervalos de aproximadamente 50 segundos. Próximo ao manguito, foi acoplado um transdutor de pulso conectado a um sistema de registro, onde o primeiro sinal de pulso durante a desinflação foi considerado a PAS. O procedimento foi realizado durante quatro vezes em cada animal e a média dos quatro registros definiram os valores finais da PAS para cada animal.

### **3.4 Acasalamento e obtenção da prole**

Após as semanas de acompanhamento da pressão arterial por pletismografia as ratas foram alojadas com os machos para acasalamento (2 fêmeas e 1 macho por caixa). Após a confirmação da prenhez foram alocadas em caixas individuais onde permaneceram ao longo do período gestacional (21 dias) e de lactação (21 dias).

Dessa forma, foram obtidos uma prole total com 76 animais sendo, desses filhotes: 16 machos e 14 fêmeas de mães hipertensas e 28 machos e 18 fêmeas de mães sham normotensas, sendo denominados de ratos PRH (prole de rata hipertensa) e PRN (prole de rata normotensa), respectivamente.

Ao término do período de amamentação, os ratos PRH e PRN foram separados da fêmea genitora e realizada a sexagem dos animais. Para isso, realizou-se a observação da papila genital e da distância anogenital, sendo que no macho essa medida é maior em relação às fêmeas. No desmame e na vida adulta é possível ver a bolsa escrotal e pelos entre o ânus e a região do pênis. Já as fêmeas possuem uma região sem pelos entre a vulva e o ânus, sendo a distância mais curta nesta área. Após a sexagem, a prole foi levada para o Laboratório de

Neurofisiologia e Comportamento Ingestivo (LANCI-UFC) e mantidos em caixas coletivas separadas por sexo com água e ração *ad libitum* até o início dos experimentos que se deu a partir do peso entre 230-250 gramas (3-4 meses de vida). As ratas genitoras foram submetidas a avaliação da composição corporal por impedância bioelétrica (ver descrição abaixo) e a medida direta da pressão arterial para confirmação da hipertensão renovascular a partir da cirurgia de canulação de artéria femoral e posteriormente eutanasiadas (ver descrição abaixo).

### 3.5 Determinação da composição corporal por impedância elétrica

As ratas foram anestesiadas com cetamina (80 mg/kg; Dechra Brasil, Londrina, PR, Brasil) combinada com xilazina (5 mg/kg; Syntec do Brasil Ltda., Santana de Parnaíba, SP, Brasil), e colocadas em decúbito dorsal sobre superfície plana para inserção de quatro eletrodos (dois na cabeça e dois na cauda) por meio de agulhas hipodérmicas. Os eletrodos foram então conectados ao dispositivo BIS (ImpediMed, Inc., Carlsbad, CA) onde um corrente bioelétrica foi propagada pelo corpo do animal com objetivo de determinar os seguintes parâmetros: índice de massa corporal (IMC;  $\text{g}/\text{cm}^2$ ), líquido intracelular (LIC;  $\text{ml}/\text{cm}^2$ ), líquido extracelular (LEC;  $\text{ml}/\text{cm}^2$ ), quantidade total água ( $\text{ml}/\text{cm}^2$ ), massa livre de gordura (MLG;  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) e massa adiposa (MA;  $\text{g}/\text{cm}^2$ ).

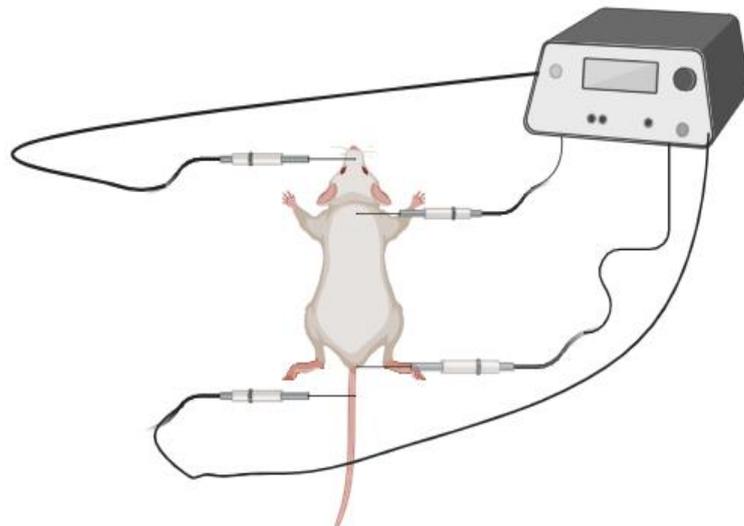


Figura 2 - Desenho demonstrativo do posicionamento dos eletrodos no animal para avaliação da composição corporal por impedância bioelétrica. Fonte: acervo pessoal da pesquisadora.

### 3.6 Canulação da artéria femoral para medida dos parâmetros cardiovasculares

Os ratos foram anestesiados como descrito acima, para a realização da canulação da artéria femoral para o registro direto da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). A cânula consiste em um tubo de polietileno PE-10 soldado a um tubo de polietileno PE-50. A cânula foi preenchida com solução fisiológica estéril e, ao final da canulação, foi exteriorizada e suturada na pele do dorso do animal. Após a cirurgia, os animais receberam uma injeção subcutânea de analgésico/anti-inflamatório (cetoprofeno 1% - 0,03 ml/rato). No dia seguinte, a cânula inserida na artéria femoral foi conectada a um transdutor de pressão descartável (Stathan Gould) e acoplado através de cabo adaptador a um amplificador (Bridge Amp, ADInstruments) e a um sistema de aquisição de análise de dados (PowerLab ADInstruments). A PAM foi calculada a partir do sinal de pressão arterial pulsátil (PAP). A FC foi calculada como a frequência instantânea do sinal de PAP. As fêmeas foram canuladas em seguida ao registro de impedância bioelétrica e a prole, ao final dos experimentos.



Figura 3 - Reconhecimento e isolamento da artéria femoral para a canulação. Fonte: Acervo pessoal da pesquisadora

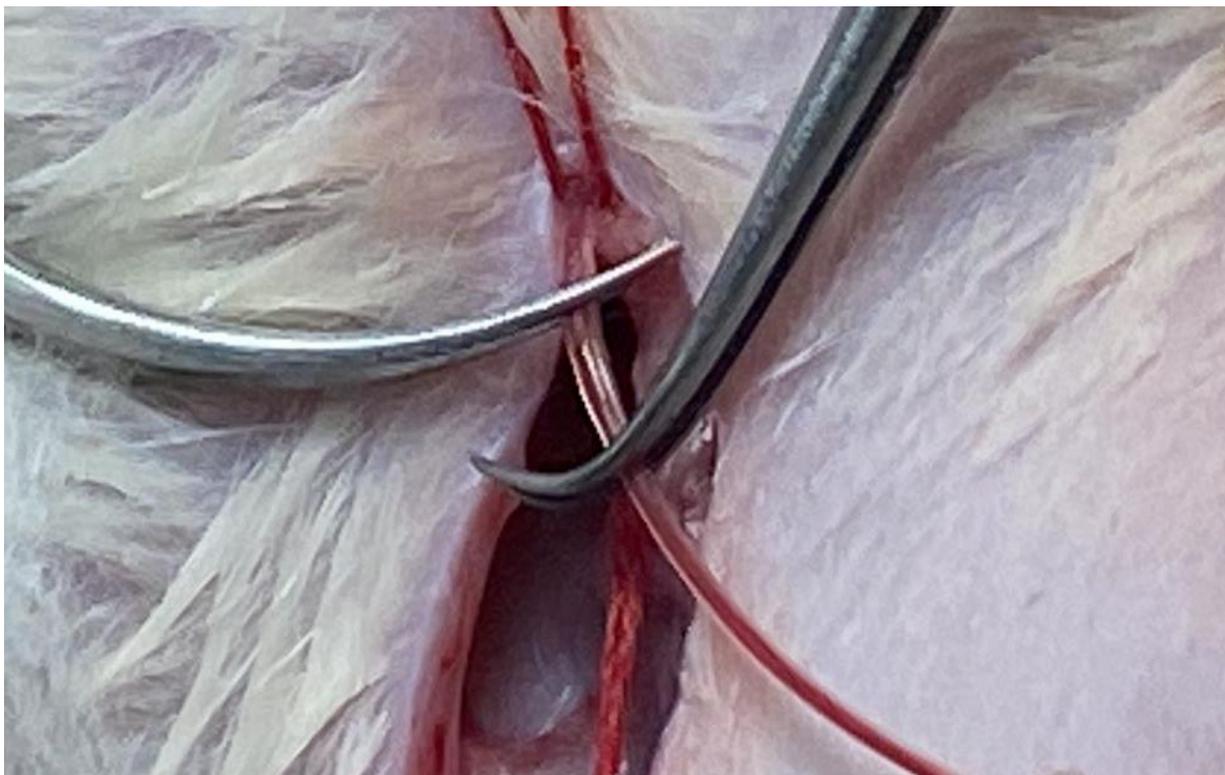


Figura 4 - Inserção da cânula na artéria femoral e presença de fluxo sanguíneo. Fonte: Acervo pessoal da pesquisadora.

### **3.7 Mensuração da ingestão de água, NaCl 0,3 M, ração e volume urinário**

Após atingir o peso, a prole foi alojada em gaiolas metabólicas para adaptação por 3 dias. Em seguida, a ingestão de água, NaCl 0,3 M, consumo de ração e coleta da urina foram mensurados diariamente. A ingestão diária foi calculada utilizando o delta dos valores de volume ou peso obtidos antes e após 24 horas.

$$\Delta = \text{Valor final} - \text{Valor inicial}$$

Os valores de ingestão de água e sódio foram representados como média da ingestão diária.

### **3.8 Eutanásia e análise dos rins**

Terminados os experimentos, os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina como descrito acima e eutanasiados por exsanguinação a partir de um corte atrial. As ratas mães com hipertensão renovascular tiveram os rins removidos para confirmar a atrofia do rim clipado e a hipertrofia do rim contralateral (Smith and Bishop, 1986).

### 3.9 Apresentação dos resultados e análise estatística

Os resultados foram tabelados e foi utilizado o software Prism 8 for Windows, (Graph Pad Software, Inc., San Diego, CA, USA). A normalidade dos dados foi analisada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Os resultados foram apresentados em média e erro padrão da média (EPM) e representados em gráficos e tabelas. A análise de variância (uma ou duas vias), associada ao teste de Student-Newman-Keuls, Mann Whitney, ou o teste t de Student foram utilizados quando apropriado e assumindo-se  $P < 0,05$ .

### 3.10 Representações esquemáticas do desenho experimental

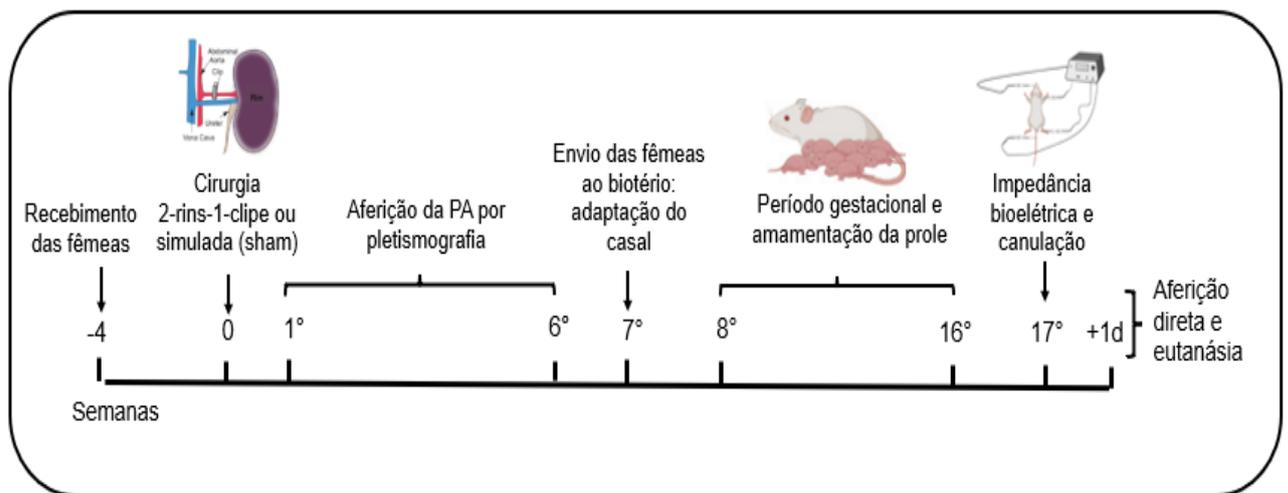


Figura 5 – Desenho esquemático do protocolo experimental realizado com as fêmeas genitoras.

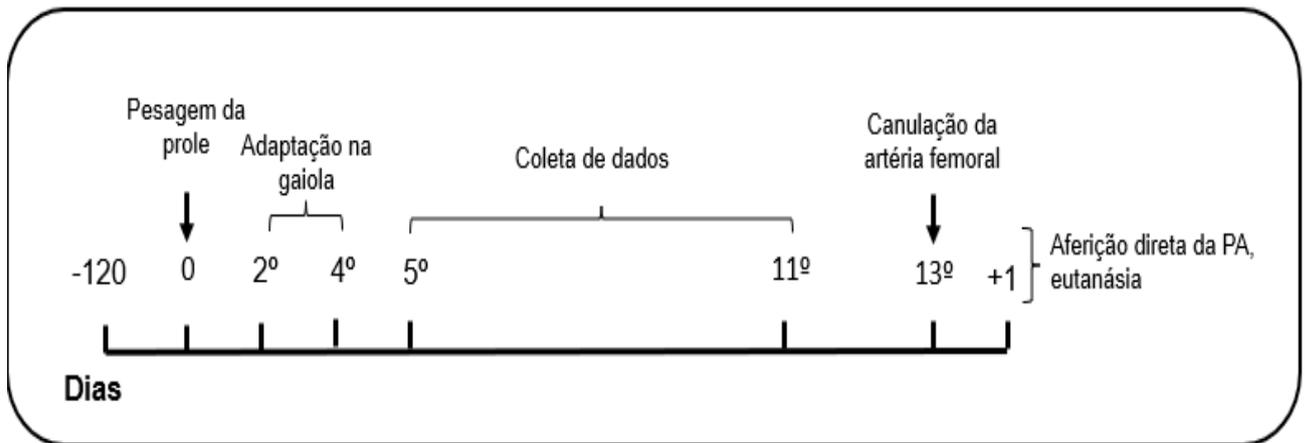


Figura 6 – Desenho esquemático do protocolo experimental realizado com PRH e PRN de ambos os sexos para avaliação do peso corporal e da ingestão de NaCl 0,3 M e água, consumo de ração e volume urinário.

## 4 RESULTADO

### 4.1 Peso corporal de ratas 2R1C e sham durante o período de desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C

Ao longo do período de desenvolvimento de hipertensão renovascular não houve diferença significativa no peso corporal das ratas 2R1C (semana 1:  $192 \pm 6$  g; semana 2:  $226 \pm 7$  g; semana 3:  $248 \pm 9$  g; semana 4:  $261 \pm 8$  g; semana 5:  $266 \pm 7$  g; semana 6:  $276 \pm 7$  g; n = 6) e comparação às ratas sham (semana 1:  $177 \pm 7$  g; semana 2:  $199 \pm 7$  g; semana 3:  $226 \pm 13$  g; semana 4:  $235 \pm 8$  g; semana 5:  $243 \pm 11$  g; semana 6:  $255 \pm 11$  g; n = 5) (Figura 7).

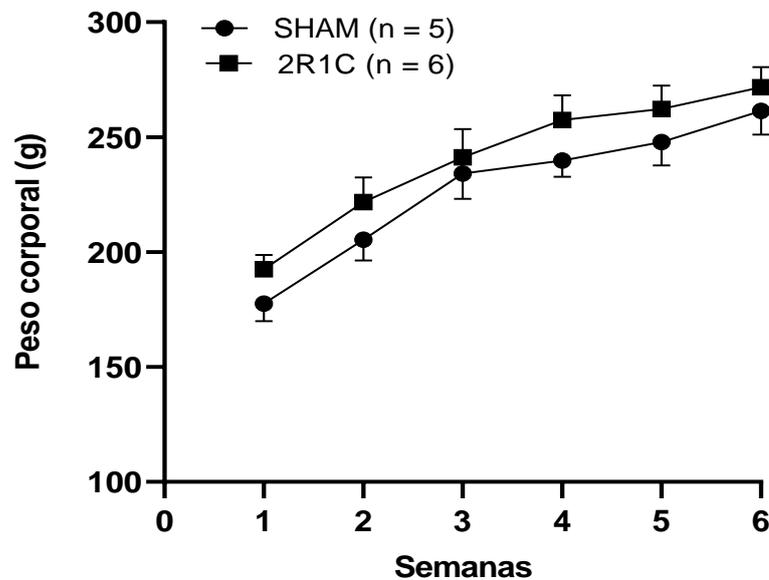


Figura 7 - Peso corporal de ratas 2R1C e sham durante o desenvolvimento da hipertensão renovascular. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; n = número de animais. Análise estatística realizada por ANOVA two-way com pós-teste de Student-Newman-Keuls.

#### 4.2 Pressão arterial sistólica (PAS) de ratas 2R1C e sham durante o período de desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C

A PAS estava significativamente aumentada em todos os registros semanais do grupo 2R1C (semana 1:  $153 \pm 9$  mmHg; semana 2:  $168 \pm 8$  mmHg; semana 3:  $195 \pm 5$  mmHg; semana 4:  $196 \pm 9$  mmHg; semana 5:  $213 \pm 13$  mmHg; semana 6:  $206 \pm 14$  mmHg;  $n = 6$ ) em comparação ao grupo sham (semana 1:  $113 \pm 4,8$  mmHg; semana 2:  $116 \pm 4$  mmHg; semana 3:  $115 \pm 3$  mmHg; semana 4:  $119 \pm 1$  mmHg; semana 5:  $116 \pm 4$  mmHg; semana 6:  $122 \pm 2$  mmHg;  $n = 5$ ;  $P < 0,05$ ) (Figura 8).

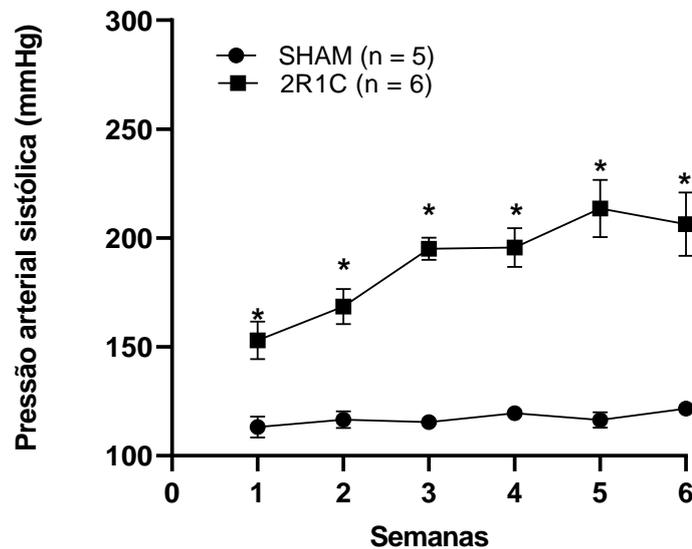


Figura 8 - Pressão arterial sistólica (PAS) em ratas 2R1C e sham. Valores são representados como média  $\pm$  EPM;  $n$  = número de animais. Análise estatística realizada pelo teste t-Student.

### 4.3 Composição corporal das ratas 2R1C e sham

Não houve diferença significativa entre os grupos 2R1C e sham para índice de massa corporal (2R1C:  $13.2 \pm 0.6$  g/ cm<sup>2</sup>, vs. sham:  $(13.0 \pm 0.2$  g/ cm<sup>2</sup>;  $P > 0,05$ ) (Figura 9A), o líquido intracelular (2R1C:  $84.5 \pm 7$  g/ cm<sup>2</sup>, vs. sham:  $88.3 \pm 9$  g/cm<sup>2</sup>;  $P > 0,05$ ) (Figura 9B). Em relação ao líquido extracelular, houve um aumento significativo no grupo 2R1C ( $71 \pm 2$  ml/cm<sup>2</sup>) em comparação ao grupo sham ( $50 \pm 10$  ml/cm<sup>2</sup>;  $P < 0,05$ ) (Figura 9C). A quantidade total de água também não apresentou diferença significativa entre os grupos 2R1C ( $161 \pm 4$  ml/ cm<sup>2</sup>) e sham ( $163 \pm 11$  ml/ cm<sup>2</sup>;  $P > 0,05$ ;  $t = 0,976$ ) (Figura 9D). Ainda houve diferença na massa livre de gordura entre os grupos 2R1C ( $159 \pm 24$  g/cm<sup>2</sup>) e sham ( $258 \pm 17$  g/cm<sup>2</sup>;  $P < 0,05$ ) (Figura 9E) e na massa adiposa (2R1C:  $208 \pm 15$  g/cm<sup>2</sup>, vs. sham:  $76 \pm 13$  g/cm<sup>2</sup>;  $P < 0,05$ ) (Figura 9F).

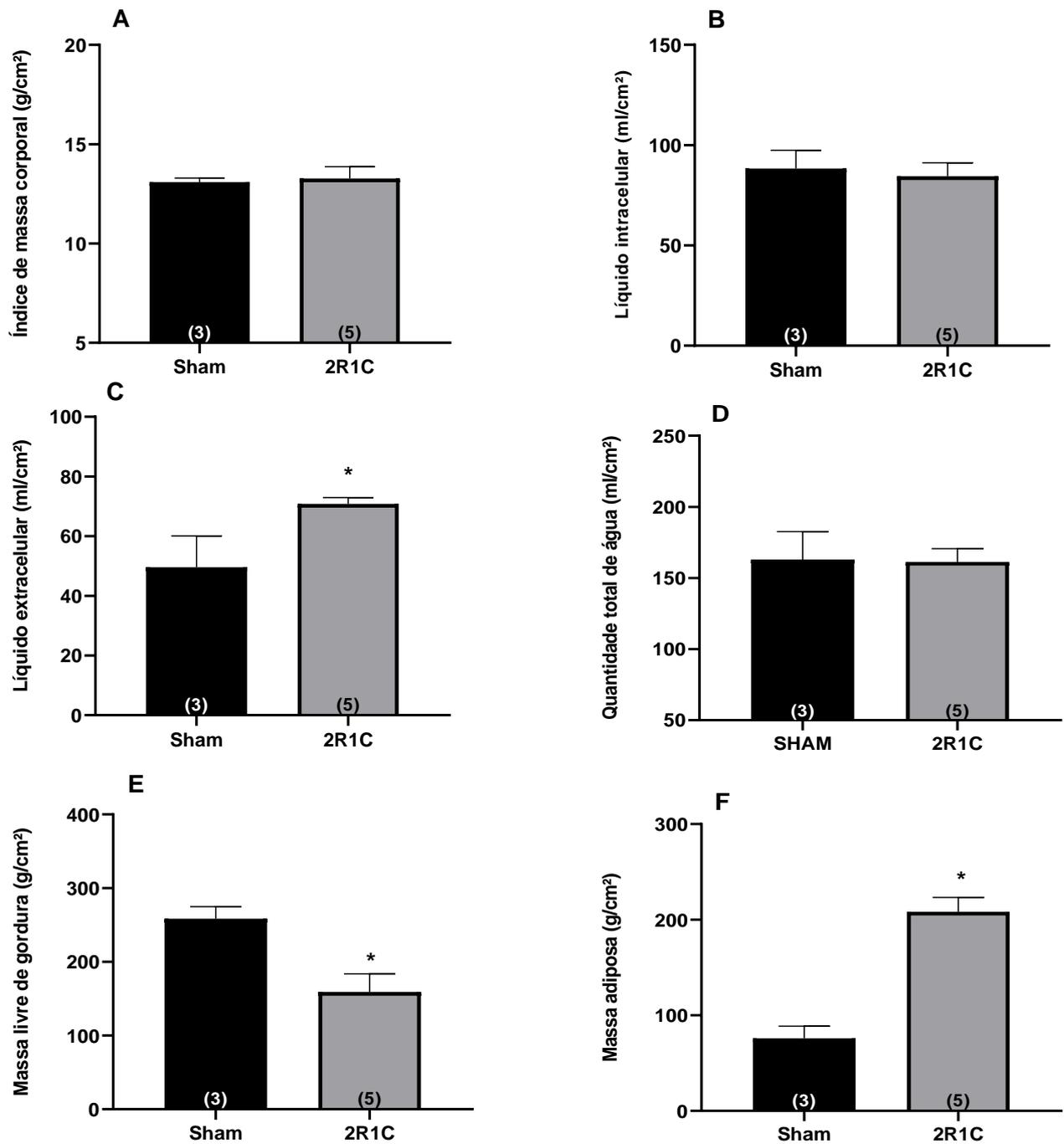


Figura 9 - (A) Índice de massa corporal - IMC, (B) Líquido intracelular - LIC, (C) Líquido extracelular - LEC, (D) Quantidade total de água - QTA, (E) Massa livre de gordura - MLG, (F) Massa adiposa – MA em ratas 2R1C e sham, após o período gestacional e de lactação. Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste t-Student.

#### 4.4 Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) de ratas 2R1C e sham

A pressão arterial média estava significativamente aumentada nas ratas 2R1C ( $172 \pm 12$  mmHg;  $n=5$ ) em comparação às sham ( $108 \pm 4$  mmHg;  $P < 0,05$ ;  $t = 2,737$ ) (Figura 10A), bem como a frequência cardíaca (2R1C:  $444 \pm 25$  bpm, vs. sham:  $365 \pm 34$  bpm;  $P < 0,05$ ) (Figura 10B).

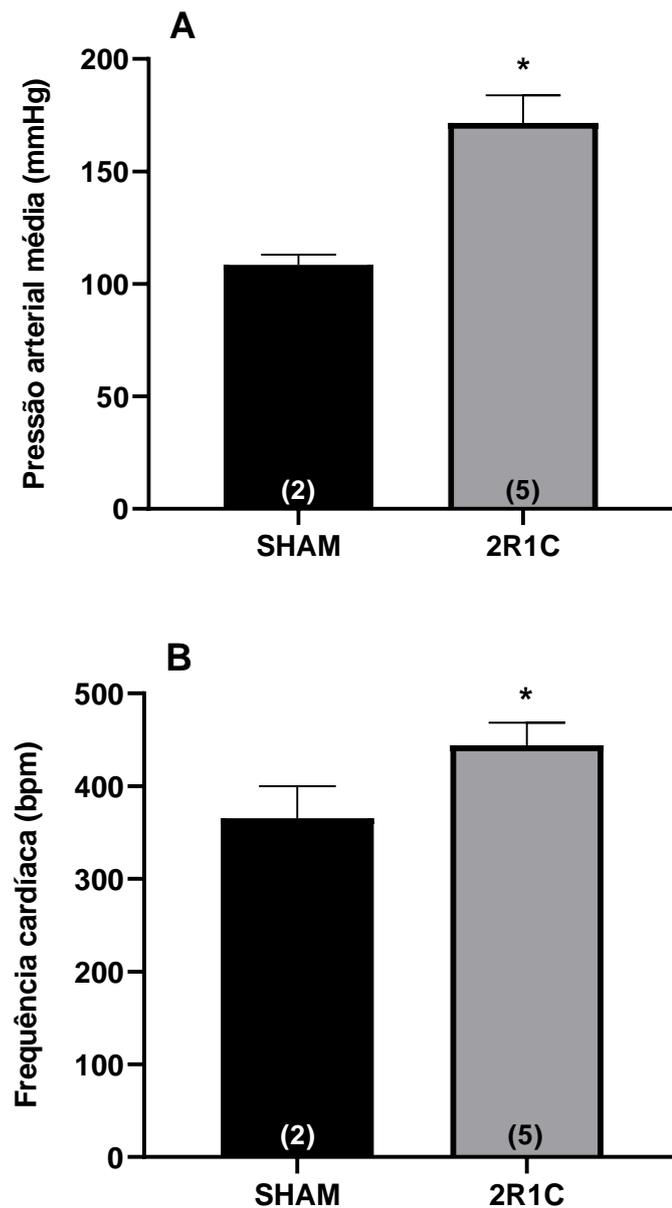


Figura 10 - (A) Pressão arterial média – PAM e (B) frequência cardíaca – FC em ratas 2R1C sham. Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste t-Student.

#### 4.5 Relação peso rim esquerdo/rim direito em ratas 2R1C e sham

Para a avaliação da hipertensão renovascular, foi calculada a relação renal obtida pela divisão do peso do rim esquerdo pelo peso do rim direito. Como esperado, houve redução significativa na relação renal de ratas 2R1C ( $0,50 \pm 0,1$ ) em comparação às ratas sham ( $0,90 \pm 0,3$ ;  $P < 0,05$ ) (Figura 10A).

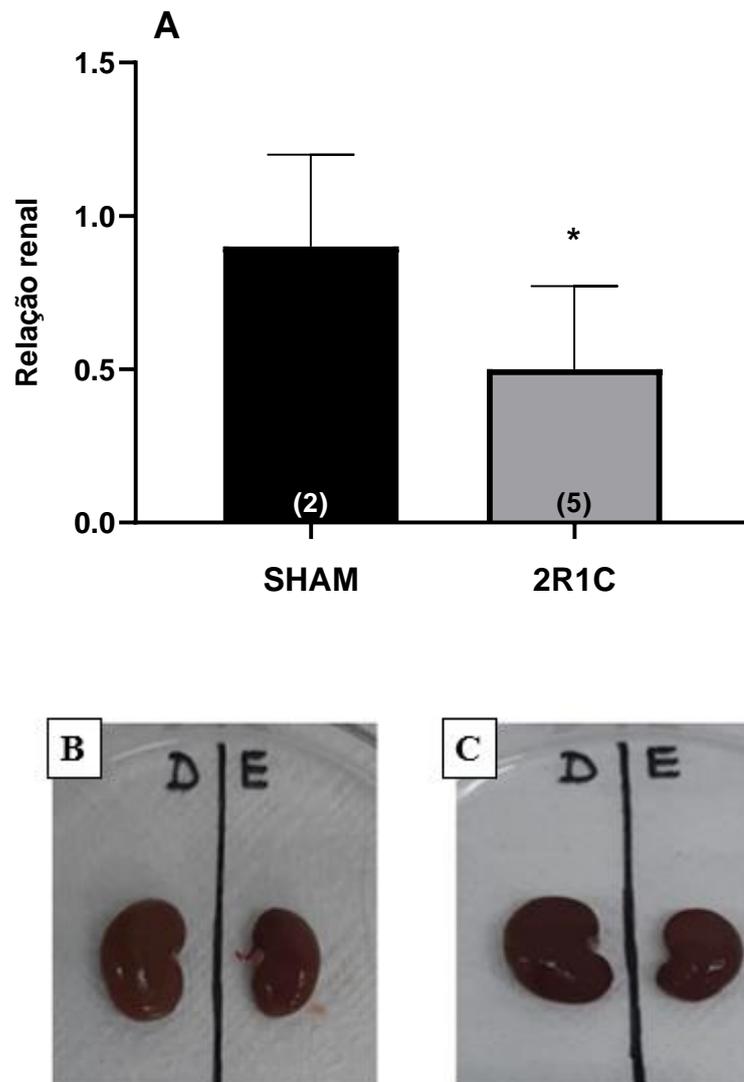


Figura 10 – (A) Relação renal obtida pelo peso do rim esquerdo/rim direito de ratas 2R1C e sham e fotografias representativas dos rins direito e esquerdo de ratas (B) sham e (C) 2R1C. Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste t-Student.

#### 4.6 Peso corporal dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀), após o desmame (25 dias de vida)

O grupo PRH ♂ ( $43 \pm 0.8$  g) apresenta um peso corporal significativamente maior em relação ao grupo PRN ♂ ( $36 \pm 1$  g;  $P < 0,05$ ) (Figura 11A). Aumento semelhante do peso corporal também foi observado no grupo PRH ♀ ( $39 \pm 2$  g) em relação ao grupo PRN ♀ ( $27 \pm 1$  g;  $P < 0,05$ ) (Figura 11B).

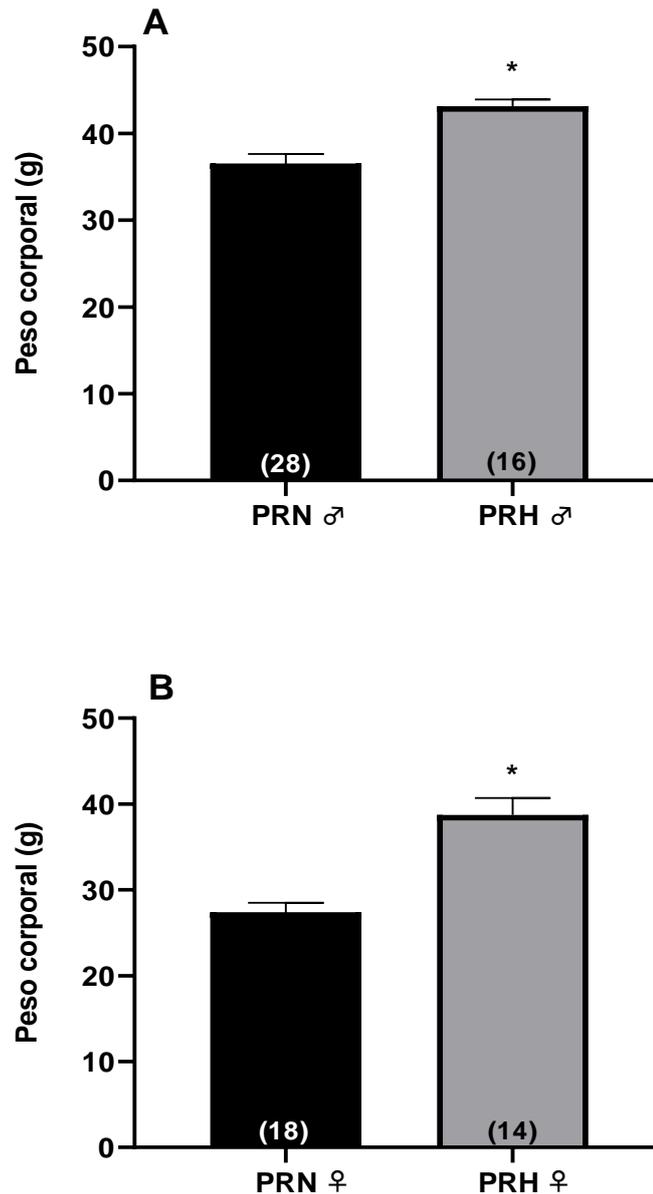


Figura 11 - Peso corporal dos filhotes machos (A) e fêmeas (B) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH) após o período de desmame (25 dias de vida). Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste t-Student.

#### 4.7 Peso corporal diário dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀)

O grupo PRH ♂ (dia 1:  $345 \pm 9$  g/24 h; dia 2:  $346 \pm 8$  g/24 h; dia 3:  $351 \pm 8$  g/24 h; dia 4:  $356 \pm 8$  g/24 h; dia 5:  $361 \pm 7$  g/24 h; dia 6:  $366 \pm 7$  g/24 h; dia 7:  $368 \pm 7$  g/24 h) apresentou um peso corporal significativamente maior em comparação ao grupo PRN ♂ (dia 1:  $299 \pm 5$  g/24 h; dia 2:  $305 \pm 6$  g/24 h; dia 3:  $310 \pm 5$  g/24 h; dia 4:  $318 \pm 5$  g/24 h; dia 5:  $322 \pm 5$  g/24 h; dia 6:  $327 \pm 5$  g/24 h; dia 7:  $335 \pm 5$  g/24 h;  $P < 0,05$ ). (Figura 12A). De maneira semelhante, também houve aumento significativo do peso corporal no grupo PRH ♀ (dia 1:  $271 \pm 7$  g/24 h; dia 2:  $271 \pm 7$  g/24 h; dia 3:  $274 \pm 7$  g/24 h; dia 4:  $281 \pm 10$  g/24 h; dia 5:  $275 \pm 7$  g/24 h; dia 6:  $277 \pm 7$  g/24 h; dia 7:  $278 \pm 7$  g/24 h) em comparação ao grupo PRN ♀ (dia 1:  $238 \pm 3$  g/24 h; dia 2:  $246 \pm 6$  g/24 h; dia 3:  $243 \pm 3$  g/24 h; dia 4:  $245 \pm 3$  g/24 h; dia 5:  $246 \pm 3$  g/24 h; dia 6:  $247 \pm 3$  g/24 h; dia 7:  $250 \pm 4$  g/24 h;  $P < 0,05$ ) (Figura 12B).

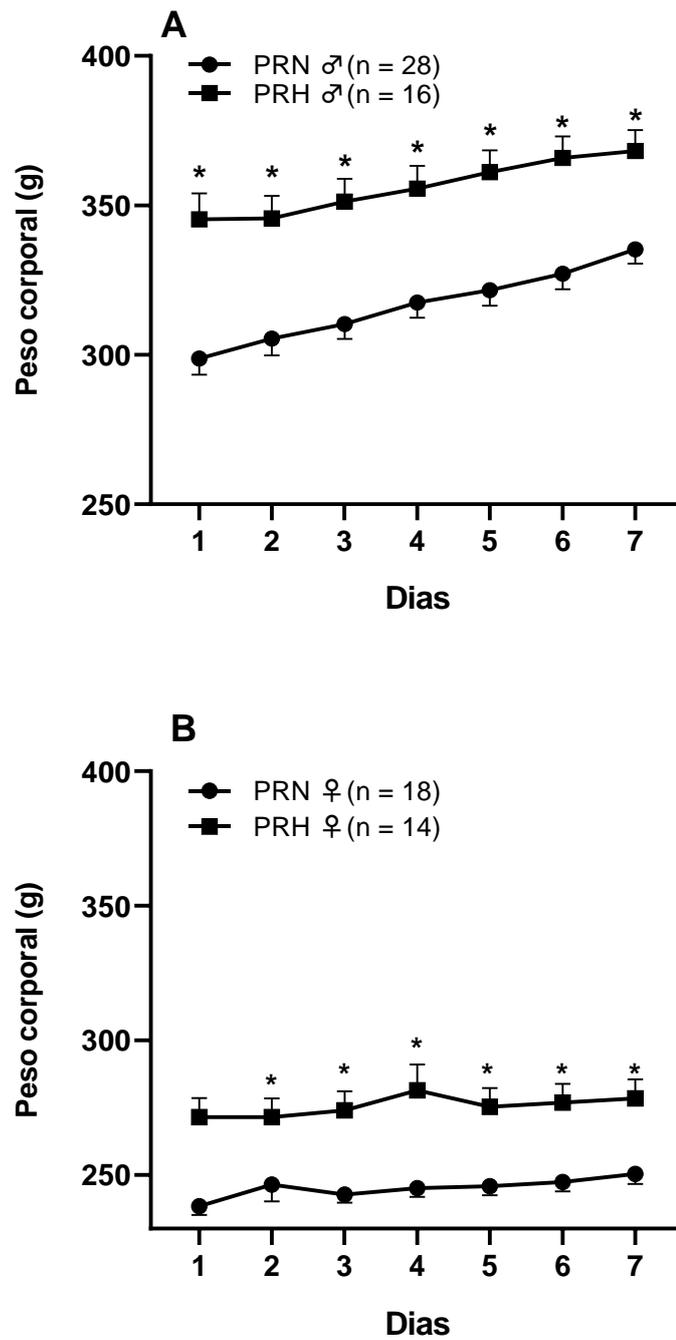


Figura 12 - Peso corporal diário dos filhotes machos (A) e fêmeas (B) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH). Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste t-Student.

#### 4.8 Consumo diário de ração dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀)

O consumo de ração durante sete dias consecutivos do grupo PRH ♂ (dia 1:  $29 \pm 3$  g/24 h; dia 2:  $31 \pm 0,1$  g/24 h; dia 3:  $32 \pm 1$  g/24 h; dia 4:  $34 \pm 1$  g/24 h; dia 5:  $34 \pm 1$  g/24 h; dia 6:  $34 \pm 2$  g/24 h; dia 7:  $35 \pm 2$  g/24 h;) não teve diferença significativa em comparação ao grupo PRN ♂ (dia 1:  $36 \pm 2$  g/24 h; dia 2:  $32 \pm 1$  g/24 h; dia 3:  $35 \pm 0,8$  g/24 h; dia 4:  $34 \pm 2$  g/24 h; dia 5:  $32 \pm 2$  g/24 h; dia 6:  $36 \pm 1$  g/24 h; dia 7:  $34 \pm 1$  g/24 h;  $P > 0,05$ ) (Figura 13A). O grupo PRH ♀ (dia 1:  $21 \pm 1$  g/24 h; dia 2:  $21 \pm 2$  g/24 h; dia 3:  $24 \pm 1$  g/24 h; dia 4:  $22 \pm 1$  g/24 h; dia 5:  $22 \pm 1$  g/24 h; dia 6:  $25 \pm 2$  g/24 h; dia 7:  $21 \pm 1$  g/24 h) apresentou consumo diário de ração significativamente menor em comparação ao grupo PRN ♀ apenas no 7º dia de registro (dia 1:  $25 \pm 1$  g/24 h; dia 2:  $26 \pm 3$  g/24 h; dia 3:  $27 \pm 1$  g/24 h; dia 4:  $25 \pm 1$  g/24 h; dia 5:  $27 \pm 0,7$  g/24 h; dia 6:  $26 \pm 1$  g/24h; dia 7:  $32 \pm 2$  g/24 h;  $P < 0,05$ ) (Figura 13B).

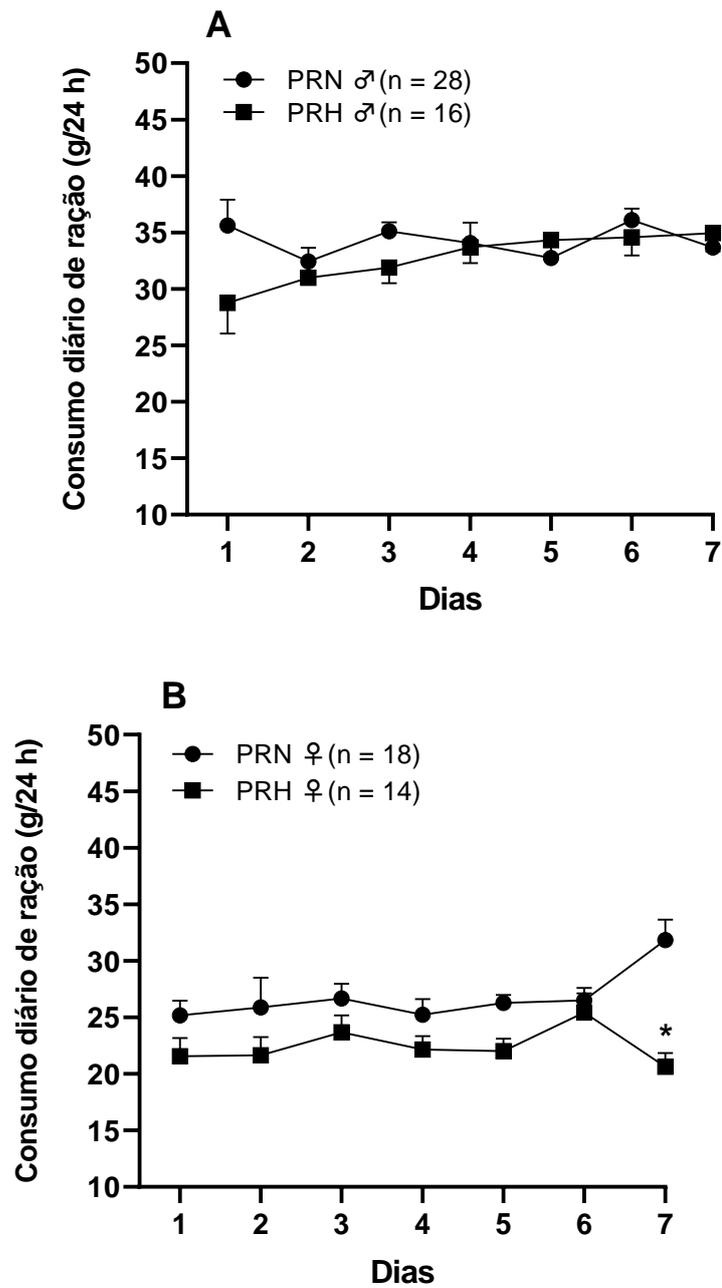


Figura 13 - Consumo diário de ração pelos filhotes machos (A) e fêmeas (B) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH). Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste de Mann-Whitney.

#### 4.9 Ingestão diária de água e sódio dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀)

A ingestão de água do grupo PRH ♂ (dia 1:  $48 \pm 3$  ml/24 h; dia 2:  $50 \pm 3$  ml/24 h; dia 3:  $50 \pm 2$  ml/24 h; dia 4:  $52 \pm 2$  g/24 h; dia 5:  $51 \pm 3$  ml/24 h; dia 6:  $57 \pm 2$  ml/24 h; dia 7:  $57 \pm 2$  ml/24 h) apresentou aumento significativo em comparação ao grupo PRN ♂ (dia 1:  $45 \pm 1$  ml/24 h; dia 2:  $42 \pm 1$  ml/24 h; dia 3:  $43 \pm 1$  ml/24 h; dia 4:  $45 \pm 1$  ml/24 h; dia 5:  $45 \pm 1$  ml/24 h; dia 6:  $49 \pm 2$  ml/24 h; dia 7:  $49 \pm 1$  ml/24 h;  $P < 0,05$ ) (Figura 14A). Por outro lado a ingestão diária de água do grupo PRH ♀ (dia 1:  $43 \pm 3$  ml/24 h; dia 2:  $35 \pm 2$  ml/24 h; dia 3:  $43 \pm 3$  ml/24 h; dia 4:  $39 \pm 3$  ml/24 h; dia 5:  $39 \pm 2$  ml/24 h; dia 6:  $40 \pm 2$  ml/24 h; dia 7:  $41 \pm 3$  ml/24 h) não foi diferente do grupo PRN ♀ (dia 1:  $36 \pm 2$  ml/24 h; dia 2:  $39 \pm 2$  ml/24 h; dia 3:  $39 \pm 2$  ml/24 h; dia 4:  $36 \pm 2$  ml/24 h; dia 5:  $36 \pm 2$  ml/24 h; dia 6:  $38 \pm 2$  ml/24 h; dia 7:  $39 \pm 2$  ml/24 h;  $P > 0,05$ ) (Figura 14B).

A ingestão diária de sódio apresentou aumento significativo no grupo PRH ♂ (dia 1:  $43 \pm 3$  ml/24 h; dia 2:  $35 \pm 2$  ml/24 h; dia 3:  $43 \pm 3$  ml/24 h; dia 4:  $43 \pm 3$  ml/24 h; dia 5:  $39 \pm 3$  ml/24 h; dia 6:  $40 \pm 2$  ml/24 h; dia 7:  $41 \pm 3$  ml/24 h;) em comparação ao grupo PRN ♂ (dia 1:  $36 \pm 2$  ml/24 h; dia 2:  $39 \pm 2$  ml/24 h; dia 3:  $39 \pm 2$  ml/24 h; dia 4:  $36 \pm 2$  ml/24 h; dia 5:  $36 \pm 2$  ml/24 h; dia 6:  $38 \pm 2$  ml/24 h; dia 7:  $39 \pm 2$  ml/24 h;  $P < 0,05$ ) (Figura 14C). A ingestão diária de sódio também apresentou aumento significativo no grupo PRH ♀ (dia 1:  $\pm P < 0,05$ ) em comparação ao grupo PRN ♀ (dia 1:  $5 \pm 1$  ml/24 h; dia 2:  $4 \pm 0,9$  ml/24 h; dia 3:  $7 \pm 1$  ml/24 h; dia 4:  $10 \pm 2$  ml/24 h; dia 5:  $7 \pm 2$  ml/24 h; dia 6:  $10 \pm 2$  ml/24 h; dia 7:  $7 \pm 1$  ml/24 h;  $P < 0,05$ ) (Figura 14D).

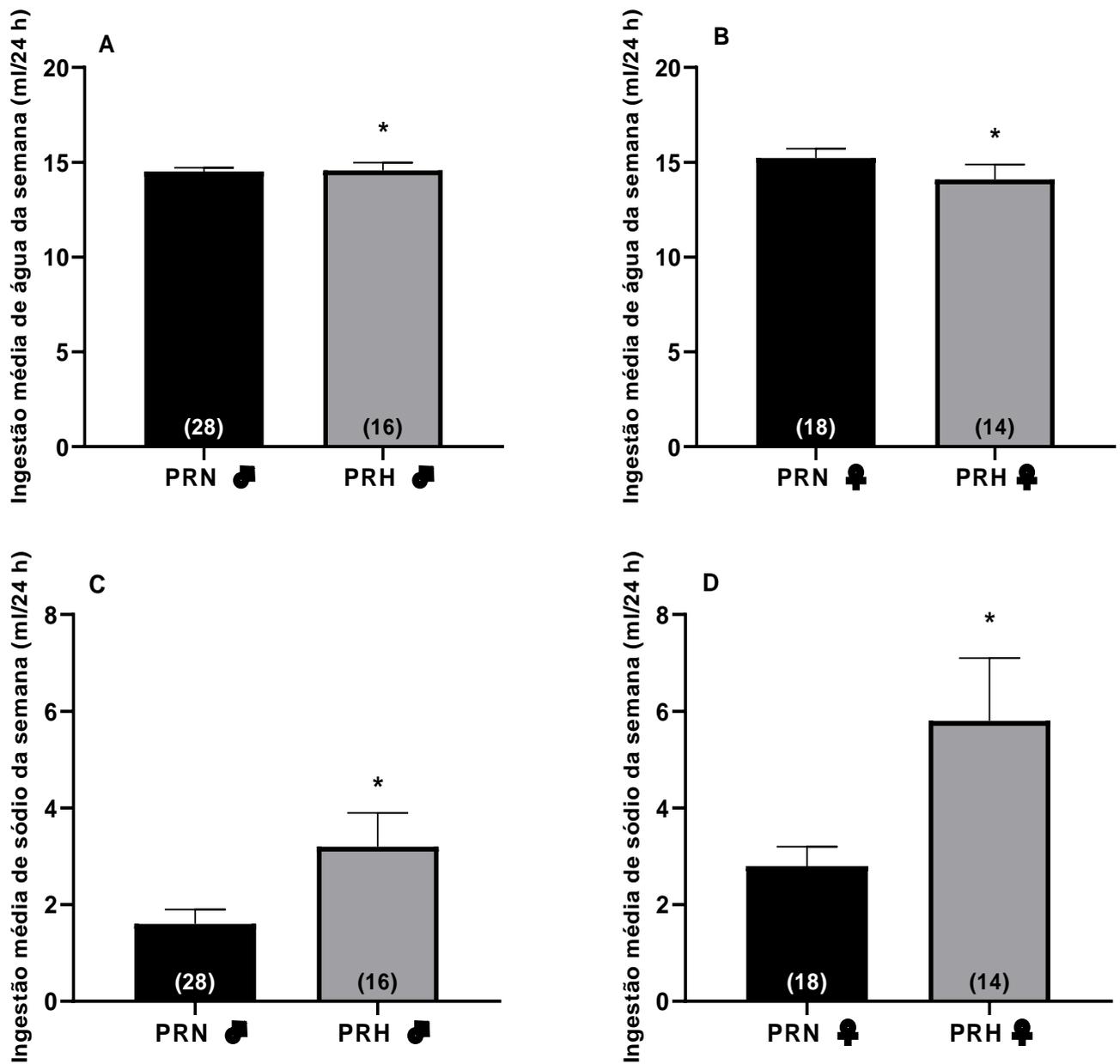


Figura 14 - Ingestão diária de água de filhotes machos (A) e fêmeas (B) e ingestão diária de sódio de filhotes machos (C) e fêmeas (D) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH). Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste de Mann-Whitney.

#### 4.10 Volume urinário dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀)

O volume urinário apresentou aumento significativo no grupo PRH ♂ (dia 1:  $30 \pm 5$  ml/24 h; dia 2:  $24 \pm 2$  ml/24 h; dia 3:  $27 \pm 2$  ml/24 h; dia 4:  $23 \pm 3$  ml/24 h; dia 5:  $25 \pm 2$  ml/24 h; dia 6:  $31 \pm 4$  ml/24 h; dia 7:  $31 \pm 3$  ml/24 h) em comparação com o grupo PRN ♂ (dia 1:  $13 \pm 1$  ml/24 h; dia 2:  $11 \pm 0.8$  ml/24 h; dia 3:  $14 \pm 1$  ml/24 h; dia 4:  $15 \pm 1$  ml/24 h; dia 5:  $15 \pm 1$  ml/24 h; dia 6:  $15 \pm 1$  ml/24 h; dia 7:  $16 \pm 2$  ml/24 h;  $P < 0,05$ ) (Figura 15A). O volume urinário do grupo PRH ♀ (dia 1:  $29 \pm 4$  ml/24 h; dia 2:  $24 \pm 4$  ml/24 h; dia 3:  $33 \pm 4$  ml/24 h; dia 4:  $31 \pm 5$  ml/24 h; dia 5:  $24 \pm 6$  ml/24 h; dia 6:  $31 \pm 4$  ml/24 h; dia 7:  $33 \pm 4$  ml/24 h;) também teve aumento significativo em comparação ao grupo PRN ♀ (dia 1:  $15 \pm 1$  ml/24 h; dia 2:  $14 \pm 2$  ml/24 h; dia 3:  $16 \pm 2$  ml/24 h; dia 4:  $14 \pm 1$  ml/24 h; dia 5:  $14 \pm 1$  ml/24 h; dia 6:  $15 \pm 2$  ml/24 h; dia 7:  $17 \pm 2$  ml/24h;  $P < 0,05$ ) (Figura 15B).

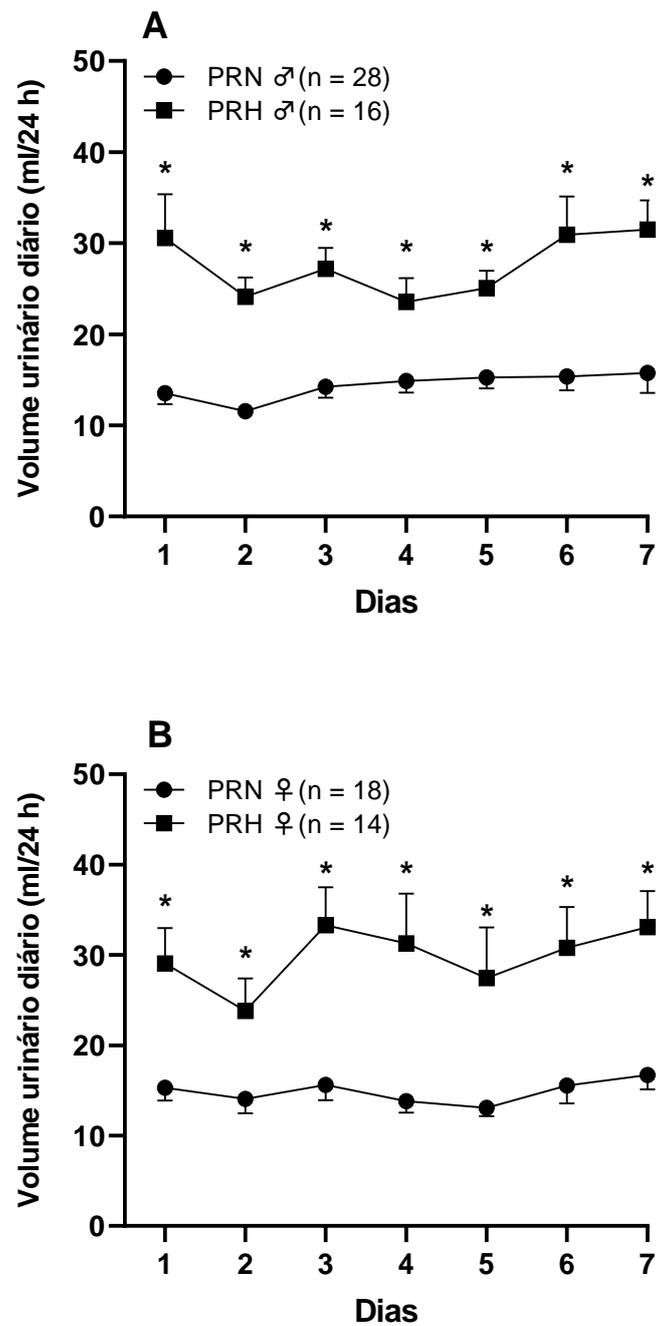


Figura 15 – Volume urinário diário de filhotes machos (A) e fêmeas (B) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH). Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste de Mann-Whitney.

#### 4.11 Pressão arterial média (PAM) e Frequência cardíaca (FC) dos grupos PRH (♂ e ♀) e PRN (♂ e ♀)

A PAM do grupo PRH ♂ ( $93 \pm 2$  mmHg) foi significativamente menor em comparação com o grupo PRN ♂ ( $106 \pm 1$  mmHg;  $P < 0,05$ ) (Figura 16A). A pressão arterial média do grupo PRH ♀ ( $105 \pm 4$  mmHg) também apresentou redução significativa em comparação com o grupo PRN ♀ ( $117 \pm 2$  mmHg;  $P < 0,05$ ) (Figura 16B).

A frequência cardíaca do grupo PRH ♂ ( $372 \pm 15$  mmHg;  $n = 16$ ) não apresentou diferença significativa em comparação com o grupo PRN ♂ ( $371 \pm 6$  mmHg;  $n = 25$ ) (Figura 14C). A frequência cardíaca do grupo PRH ♀ ( $407 \pm 11$  mmHg) apresentou aumento significativo em comparação com o grupo PRN ♀ ( $373 \pm 7$  mmHg;  $P < 0,05$ ) (Figura 14D).

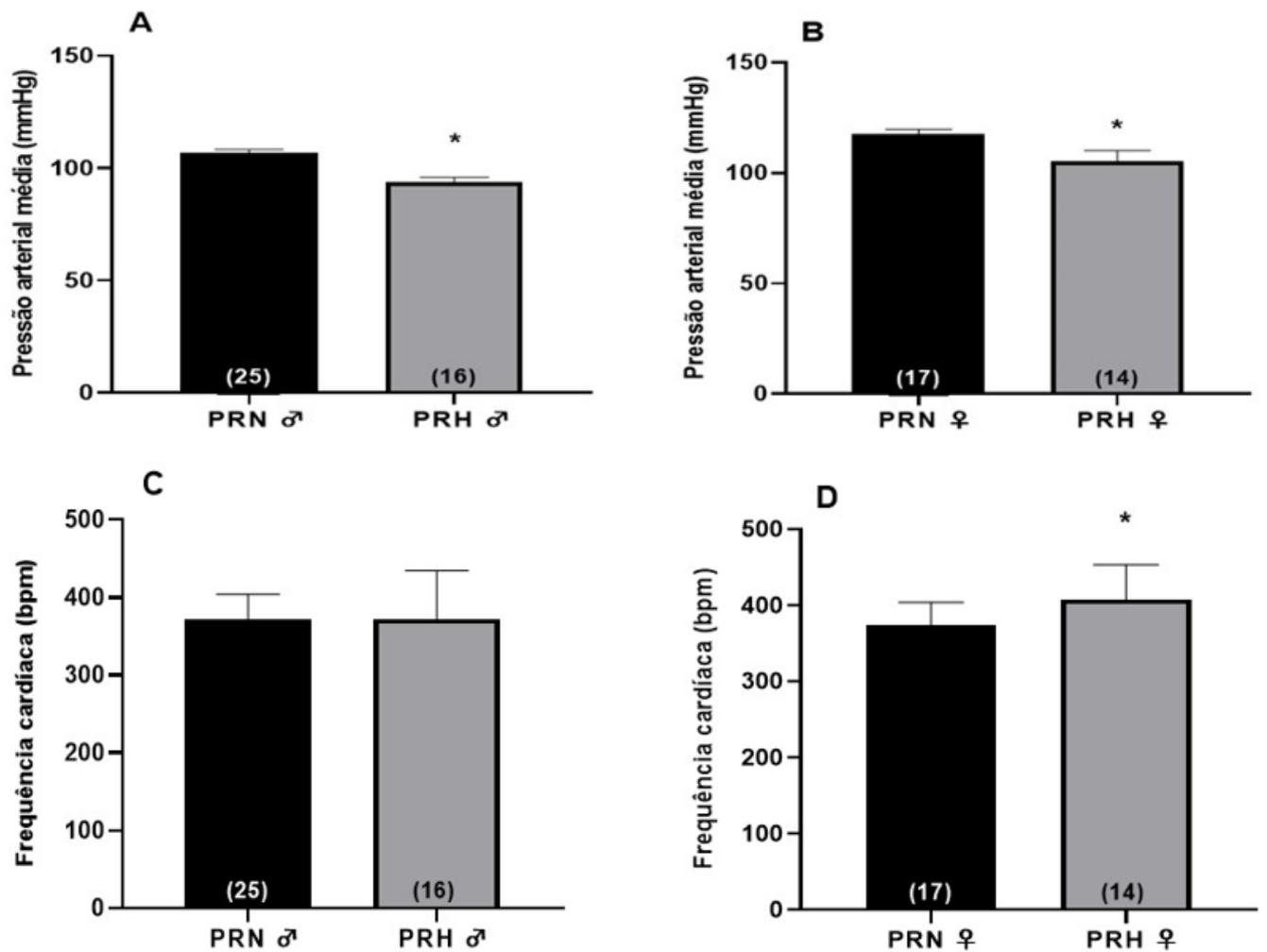


Figura 16 - Pressão arterial média de filhotes machos (A) e fêmeas (B) e frequência cardíaca dos filhotes machos (C) e fêmeas (D) de ratas normotensas (PRN) e hipertensas (PRH). Valores são representados por média  $\pm$  EPM; \*Diferente de sham; número de animais está representado entre parênteses. Análise estatística realizada pelo teste de Mann-Whitney.

## 5 DISCUSSÃO

Os presentes resultados mostram que o modelo de hipertensão renovascular 2R1C induz aumento da PAS, PAM e FC em ratas. Ainda, demonstramos que, após gestação e lactação, há alteração da composição corporal das ratas com aumento do líquido extracelular e da massa adiposa e redução da massa livre de gordura. Na prole das ratas 2R1C, observou-se que os filhotes machos e fêmeas tem maior peso ao desmame e na fase adulta jovem, sem alteração do consumo de ração. Esses animais também ingerem maior volume de solução hipertônica de NaCl, porém, diferente do esperado, apresentam redução da PAM em relação à prole de ratas normotensas.

Diversos estudos anteriores mostraram o efeito da obstrução parcial da artéria renal com o rim contralateral intacto sobre a PA, sendo que, de forma consistente, se observa aumento da PAM, sem alteração da FC em machos (Barbosa et al., 2017; Blanch et al., 2014; De Sousa Lima et al., 2018; Lincevicius et al., 2015; Martinez-Maldonado et al., 1991; Oliveira-Sales et al., 2010; Roncari et al., 2018). No presente estudo realizado em ratas, foi constatado além do aumento da PAM, também observamos um aumento significativo da FC, resultado semelhante ao observado mais recentemente por Lauar e colaboradores (Lauar et al., 2023). A taquicardia em animais com hipertensão renovascular, embora incomum, já havia sido demonstrada previamente (Ribeiro et al., 2013) e agora foi ratificada pelo presente trabalho. É importante esclarecer que, por dificuldades técnicas, não foi possível obter o registro da PA por canulação da artéria femoral de todas as ratas e, portanto, o número de animais foi pequeno, especialmente no grupo sham. Entretanto, apesar do pequeno número amostral, os valores obtidos nos registros foram compatíveis com o esperado para animais normotensos.

O sucesso da cirurgia de desenvolvimento da hipertensão arterial é determinado com base em três variáveis: valores de PAS registrados ao longo das 6 semanas após a cirurgia, valores da PAM obtidos no registro direto por canulação da artéria femoral e determinação da relação renal, obtido pela divisão do peso do rim esquerdo pelo peso do rim direito. Dados prévios da literatura mostram que quando a relação renal está entre 0,5 e 0,8, 100% dos ratos estão hipertensos (Smith et al., 1986). Já para valores de relação acima de 0,8 ou abaixo de 0,5, há uma menor proporção de animais hipertensos. Sendo assim, estabelecemos como critério de classificação como hipertensão renovascular a relação renal entre 0,5 e 0,8 associada a valores de PAS e PAM superiores a 140 mmHg.

De maneira inédita, demonstramos no presente trabalho que, embora não haja redução ou aumento do peso corporal, há alteração na composição corporal de fêmeas 2R1C. A técnica de impedância bioelétrica nos permite determinar o índice de massa corporal, líquido intracelular, líquido extracelular, quantidade total de água, massa livre de gordura e massa adiposa.

Como esperado, visto que não há alteração no peso corporal, não observamos alteração no índice de massa corporal. No entanto, as ratas 2R1C apresentaram aumento da massa adiposa e redução da massa livre de gordura. Sabe-se que a utilização do índice de massa corporal não é adequada porque não faz distinção entre massa adiposa e massa livre de gordura, correspondente à somatória da massa muscular, massa óssea e peso residual. Dessa forma, o recomendado é a comparação direta entre massa adiposa e massa livre de gordura como indicadores da composição corporal.

Obesidade e sobrepeso são comumente associados ao maior risco de doenças crônicas, como a hipertensão (Malachias et al., 2016). Em 2016, 53,8% e 16,9% da população brasileira era considerada com sobrepeso ou obesa, respectivamente (Brasil, 2017). Sabe-se que a alta ingestão calórica está relacionada com um aumento no peso corporal e, portanto, ao risco de obesidade. Essa associação foi confirmada por um estudo que encontrou correlação positiva significativa entre ingestão de sacarose medida por biomarcadores urinários e índice de massa corporal (Kuhnle et al., 2015). Diversos estudos mostram como os sinais da adiposidade excessiva pode se correlacionar com as alterações nas vias de sinalização do sistema nervoso central que levam a hipertensão induzida por obesidade (Do Carmo et al., 2016). No presente estudo, as ratas foram distribuídas aleatoriamente entre os grupos 2R1C e sham, o que nos permite sugerir que a alteração na composição corporal foi posterior à instalação da hipertensão, o que seria um dado inédito na literatura. Futuros experimentos poderão confirmar esse achado e determinar se essa alteração foi prévia ou posterior aos períodos de gestação e lactação.

Estudos envolvendo a prole de ratas com alguma patologia sempre se preocupam com o peso dos filhotes logo após o nascimento, correlacionado à possibilidade de restrição intrauterina de crescimento, e com o tamanho da ninhada. No presente estudo, não observamos alteração no tamanho da ninhada (dado não mostrado) entre os grupos 2R1C e sham. Já o peso corporal estava aumentado na prole de ratas 2R1C, tanto dos filhotes machos e fêmeas. Esse achado se manteve quando registramos o peso corporal da prole na fase adulta jovem e, uma vez que a ingestão de ração não foi diferente entre os grupos, podemos sugerir que não foi secundário a uma maior ingestão calórica no período pós-desmame. Esse

resultado está de acordo com o esperado visto que estudos prévios da literatura já haviam demonstrado que a obesidade materna está correlacionada com maior peso dos descendentes, tanto em animais (Da Silva et al., 2022) quanto em humanos (Kankowski et al., 2022). Sabe-se que a redução do tamanho da ninhada pode impactar no peso e comportamento da prole, sendo que a redução da prole para apenas 4 filhotes (2 machos e 2 fêmeas) resulta em maior ganho de peso e redução do tempo de interação social entre os filhotes (Da Cunha Nones et al., 2024). No presente estudo, optamos por não reduzir o tamanho da ninhada durante o período de lactação e, portanto, o maior peso corporal da prole de ratas 2R1C não resultou de um viés na metodologia empregada.

Outro achado interessante foi a sensibilização da ingestão de sódio observada na prole de ratas 2R1C. Logo nos primeiros dias de registro diário do consumo de NaCl 0,3 M, tantos os filhotes machos quanto fêmeas ingeriram um maior volume dessa solução. Esse efeito não pode ser atribuído à novidade do acesso à solução de NaCl porque os animais passaram por um período de adaptação na gaiola metabólica previamente ao início dos registros diários de ingestão e excreção. A maior atividade do SRAA durante o período gestacional pode ser responsável por essa alteração na ingestão de sódio na prole. Porém, esse efeito muito provavelmente não seja por ação direta da ANG II nos fetos já que a barreira placentária não é permeável à ANG II, mas pela ação da ANG II nos receptores angiotensinérgicos AT1 expressos pela placenta (Williams et al., 2010). Por outro lado, devemos considerar que a vasculatura uteroplacentária é menos sensível que a circulação sistêmica aos efeitos vasoconstritores da ANG II (Rosenfeld et al., 2001). Estudos de DIAS et al. 1999, demonstraram que fêmeas hipertensas 1- rim – 1- clipe apresentavam PAS normais durante o período de prenhez em comparação ao grupo controle não operado, pois alterações hemodinâmicas como dilatação do leito vascular e aumento da circulação uteroplacentária ocorriam para a adequação das necessidades volêmicas e nutricionais da prole como sugerida por Ahokas et al.

Nos registros diários, observou-se ainda um aumento do volume urinário e, nos filhotes machos, uma maior ingestão de água. Embora não possamos excluir outras possibilidades, é possível que essas respostas sejam secundárias à maior ingestão de NaCl que poderia induzir aumento da osmolaridade plasmática e, conseqüentemente, causar sede nos animais; a maior ingestão líquida, por sua vez, levaria a uma maior excreção urinária de água e sódio. Futuros experimentos poderão determinar o mecanismo responsável pela maior ingestão de sódio na prole de ratas 2R1C, bem como investigar se a sede e excreção urinária resultam direta ou indiretamente das alterações gestacionais observadas nos filhotes.

Curiosamente, no presente estudo observou-se que os filhotes de ratas 2R1C apresentaram uma redução da PA em relação à prole de ratas normotensas. Esse resultado foi inesperado porque diversos estudos mostram uma maior predisposição à hipertensão na prole de ratas hipertensas (Da Silva et al., 2022; Xue et al., 2017; Xue et al., 2021; Xue et al., 2022). Sabe-se que a maior atividade do SRAA tem impacto sobre o desenvolvimento dos nervos simpáticos renais, contribuindo para o desenvolvimento da hipertensão na fase adulta (Maduwegedera et al., 2007). Dessa forma, é preciso avaliar se a redução da PA observada na prole das ratas 2R1C utilizadas no presente estudo é consistente e se ocorreria em um novo grupo experimental, bem como se haveria alguma alteração conforme o envelhecimento dos filhotes.

Por fim, é importante ressaltar que, seguindo as recomendações atuais, utilizamos a prole de ambos os sexos no presente estudo (Clayton et al., 2016; Ukri, 2022; Usselman et al., 2024). Até o presente momento, optamos por analisar os dados obtidos de machos e fêmeas separadamente. Ainda, optamos por não discriminar as fases do ciclo estral ou realizar a castração seguida de reposição hormonal visto que a secreção de hormônios reprodutivos é cíclica e não é reproduzida de forma adequada pelos protocolos de reposição atualmente disponíveis. O próximo passo é refazer as análises utilizando o sexo como uma das variáveis estatísticas e, caso não seja identificada qualquer diferença entre os sexos, os resultados serão agrupados e representados conjuntamente.

## **6 CONCLUSÃO**

O presente estudo mostra que a estenose parcial de uma das artérias renais de ratas promoveu aumento da PAS, PAM e FC. Além disso, ratas 2R1C aumento do líquido extracelular e da massa adiposa e redução da massa livre de gordura em comparação às ratas sham. Na prole de ratas 2R1C, observou-se aumento do peso corporal, ingestão de NaCl 0,3 M e volume urinário, porém redução da PAM. Dessa forma, os presentes resultados sugerem que a hipertensão renovascular materna tem efeitos sobre a pressão arterial e comportamento ingestivo da prole.

## REFERÊNCIAS

ALLEN, A. M. et al. Angiotensin receptors in the nervous system. **Brain Research Bulletin**, v. 47, n. 1, p. 17–28, 1998.

ALLEN, A. M. et al. Ontogeny of a novel peptide, neuropeptide Y (NPY) in rat brain. **Brain Research Bulletin**. v. 303, p. 197–200. 10.1016/0006-8993(84)90230-0, 1984.

AHOKAS, R. A. et al. Uteroplacental blood flow in the hypertensive, term pregnant, spontaneously hypertensive rat. **Am J Obstet Gynecol**, v. 156 p. 1010-5, 1987.

ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiological Reviews**, v. 84, p. 169–208, 2004.

ARGUELLES, J. et al. The effects of experimental gestational hypertension on maternal blood pressure and fluid intake and pre-weanling hypothalamic neuronal activity. **Appetite**, v. 116, p. 65–74, 1 set. 2017.

BARKER, D. J. The fetal and infant origins of adult disease. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 301, n. 6761, p. 1111–1111, 17 nov. 1990.

BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial–2020. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 116, p. 516–658, 2021.

BRASIL. Vigitel Brasil 2016: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **Brasil: Ministério da Saúde**, 2017.

CHESSLER, S. D.; FUJIMOTO, W. et al. Increased plasma leptin levels are associated with fat accumulation in Japanese. **Americans. Diabetes**, v. 47, p. 239–243, 1998.

CHOBANIAN, A. V. The Hypertension Paradox — More Uncontrolled Disease despite Improved Therapy. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 9, p. 878–887, 2009.

CLAYTON, J. A. Studying both sexes: a guiding principle for biomedicine. **The FASEB Journal**, v. 30, n. 2, p. 519–524, 1 fev. 2016.

COLOMBARI, D. S. A.; MENANI, J. V.; JOHNSON, A. K. Forebrain angiotensin type 1 receptors and parabrachial serotonin in the control of NaCl and water intake. **The American journal of physiology**, v. 271, n. 6 Pt 2, p. R1470–R1476, 1996.

COSTALES, M.; FITZSIMONS, J. T.; VIJANDE, M. Increased sodium appetite and polydipsia induced by partial aortic occlusion in the rat. **The Journal of Physiology**, v. 352, n. 1, p. 467–481, 1984.

DAVID, R. B.; MENANI, J. V.; DE LUCA JR., L. A. Central angiotensin II induces sodium bicarbonate intake in the rat. **Appetite**, v. 51, n. 1, p. 82–89, 2008.

DA CUNHA NONES, D. C. et al. Litter reduction-induced obesity promotes early depressive-like behavior and elevated prefrontal cortex GFAP expression in male offspring. **Behavioural Brain Research**, v. 461, p. 114839, 2024.

DA SILVA, A. A. et al. Parental obesity alters offspring blood pressure regulation and cardiovascular responses to stress: role of P2X7R and sex differences. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 322, n. 5, p. 421–433, 2022.

DE LUCA JR., L. A. et al. The anteroventral wall of the third ventricle and the angiotensinergic component of need-induced sodium intake in the rat. **Brain Research Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 73–87 1992.

DE WARDENER. H. E. The Primary Role of the Kidney and Salt Intake in the Aetiology of Essential Hypertension: Part I. **Clinical Science**, v. 79, n. 3, p. 193–200, 1990.

DIAS. R, et al. Hipertensão Arterial Experimental e Prenhez em Ratas: Uso do Modelo Goldblatt I (1 rim - 1 clipe) **RBGO**, v. 21 n. 4, p. 209-214, 1999.

DO CARMO, J. M. et al. Obesity-Induced Hypertension: Brain Signaling Pathways. **Curr Hypertens Rep**, v. 18, n. 7, p. 58, jul. 2016.

EPSTEIN, A. N.; ADLER, N. T. Prospectus: thirst and salt appetite. In: **Neurobiology of Food and Fluid Intake**. [s.l: s.n.]. v. 10, p. 489–512, 2007.

FAZAN, F. S. et al. Despite increasing aldosterone, elevated potassium is not necessary for activating aldosterone-sensitive HSD2 neurons or sodium appetite. **Physiol Rep**, v. 9, n. 2, p. e14714, 2021.

FINDLAY, A. L.; EPSTEIN, A. N. Increased sodium intake is somehow induced in rats by intravenous angiotensin II. **Horm.Behav.**, v. 14, n. 1, p. 86–92, 1980.

FITTS, D. A.; MASSON, D. B. Forebrain sites of action for drinking and salt appetite to angiotensin or captopril. **Behavioral Neuroscience**, v. 103, n. 4, p. 865–872, 1989.

FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 3, p. 583–686, 1998.

FLUHARTY, S. J.; EPSTEIN, A. N. Sodium appetite elicited by intracerebroventricular infusion of angiotensin II in the rat: II. Synergistic interaction with systemic mineralocorticoids. **Behavioral Neuroscience**, v. 97, n. 5, p. 746–758, 1983.

FORMAN, S.; FALK, J. L. NaCl solution ingestion in genetic (SHR) and aortic-liga hypertension. **Physiology & Behavior**, v. 22, n. 2, p. 371–377, 1979.

FOWDEN, A. L.; GIUSSANI, D. A.; FORHEAD, A. J. Intrauterine Programming of Physiological Systems: Causes and Consequences. **Physiology**, v. 21, n. 1, p. 29–37, 1 fev. 2006.

GEERLING, J. C. et al. Aldosterone target neurons in the nucleus tractus solitarius drive sodium appetite. **J Neurosci**, v. 26, n. 2, p. 411–417, 2006.

GROVE, K. L.; SMITH, M. S. Ontogeny of the hypothalamic neuropeptide Y system. **Physiology Behavior**, v. 79, p. 47–63, 2003.

GUYTON E HALL. Tratado de fisiologia médica. **Elsevier**; Edição: 13<sup>a</sup>, 2017.

GOLDBLATT, H. et al. Studies on experimental hypertension: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 59, n. 3, p. 347–379, 1934.

GOMEZ-SANCHEZ, E.; GOMEZ-SANCHEZ, C. E. The Multifaceted Mineralocorticoid Receptor. In: **Comprehensive Physiology**. [s.l.] American Cancer Society, 2014. p. 965–994.

HE, F. J.; MACGREGOR, G. A. Salt intake, plasma sodium, and worldwide salt reduction. **Ann Med**, v. 44 Suppl 1, p. S127–37, 2012.

JARVIE, B. C.; PALMITER, R. D. HSD2 neurons in the hindbrain drive sodium appetite. **Nat Neurosci**, v. 20, n. 2, p. 167–169, 2017.

JOHNSON, A. K. The sensory psychobiology of thirst and salt appetite. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 39, n. 8, p. 1388–1400, 2007.

JOHNSON, A. K.; THUNHORST, R. L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 18, n. 3, p. 292–353, 1997.

KAGOTANI, Y. GOTANI, Y. et al. Development of the neuronal system containing neuropeptide Y in the rat hypothalamus. **Int J Development Neuroscience**. v. 7 p. 359–374, 1989.

KANKOWSKI, L. et al. The impact of maternal obesity on offspring cardiovascular health: a systematic literature review. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 868441, 2022.

KUHNLE, G. G. et al. Association between sucrose intake and risk of overweight and obesity in a prospective sub-cohort of the European Prospective Investigation into Cancer in Norfolk (EPIC-Norfolk). **Public Health Nutr**, v. 18, n. 15, p. 2815–24, out. 2015.

LAUR, M. R. et al. Chronic administration of catalase inhibitor attenuates hypertension in renovascular hypertensive rats. **Life Science**, v. 319, p. 1–11, 24 feb. 2023.

LANGLEY-EVANS, S. C. et al. Captopril normalises systolic blood pressure in rats with hypertension induced by fetal exposure to maternal low protein diets. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 110, n. 3, p. 223–228, 1 mar. 1995.

LIM, S. S. et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **The Lancet**, v. 380, n. 9859, p. 2224–2260, 2012.

LINDROSS, A. et al. Familial predisposition for obesity may modify the predictive value of serum leptin concentrations for long-term weight change in obese women. **Am J Clin Nutr.** v. 67, p. 1119–1123, 1998.

LISSNER, L. et al. Birth weight, adulthood BMI, and subsequent weight gain in relation to leptin levels in Swedish women. **Obesity Res,** v. 7, p. 150–154, 1999.

MADUWEGEDERA, M. M et al. Sex differences in postnatal growth and renal development in offspring of rabbit mothers with chronic secondary hypertension. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,** v. 292, n. 2, p. 706 - 714, 2007.

MALACHIAS, M. et al. 7th Brazilian Guideline of Arterial Hypertension: Chapter 1 - Concept, Epidemiology and Primary Prevention. **Arq Bras Cardiol,** v. 107, n. 3 Suppl 3, p. 1–6, set. 2016.

MCCARRON, D. A. et al. Can dietary sodium intake be modified by public policy? **Clinical Journal of the American Society of Nephrology,** v. 4, n. 11, p. 1878–1882, 2009.

MENANI, J. V.; DE LUCA JR., L. A.; JOHNSON, A. K. Role of the lateral parabrachial nucleus in the control of sodium appetite. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,** v. 306, p.R201–R210, 2014.

MENANI, J. V.; THUNHORST, R. L.; JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rats. **The American journal of physiology,** v. 270, n. 1 Pt 2, p. R162–R168, 1996.

MOHRING, J. et al. Salt and water balance and renin activity in renal hypertension of rats. **American Journal of Physiology-Legacy Content,** v. 228, n. 6, p. 1847–1855, 1 jun. 1975.

RICHTER, C. P. Increased salt appetite in adrenalectomized rats. **The American journal of physiology,** v. 115, p. 155–161, 1936.

RICHTER, C. P. Salt appetite of mammals: its dependence on instinct and metabolism. In:

AUTUORI, M. (Ed.). **L'Instinct dans le Comportement des Animaux et de l'Homme.** Paris: Masson, 1956. p. 577–632.

RONCARI, C. F. et al. Importance of central AT1 receptors for sodium intake induced GABAergic activation of the lateral parabrachial nucleus. **Neuroscience,** v. 196, n. 0, p. 147–152, 2011.

RONCARI, C. F. et al. Enhanced angiotensin II induced sodium appetite in renovascular hypertensive rats. **Peptides,** v. 101, p. 82–88, 2018.

ROSENFELD, C. R. Mechanisms regulating angiotensin II responsiveness by the uteroplacental circulation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,** v. 281, n. 4, p. R1025–R1040, 2001.

ROSS, M. G.; NIJLAND, M. J. Development of ingestive behavior. **AJP - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 274, n. 4, p. R879–R893, 1998.

OSCAI, L. B.; MCGARR JA.; Evidence that the amount of food consumed in early life fixes appetite in the rat. **AJP – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v. 235, R141–R144, 1978.

SIQUEIRA, A. DE S. E.; DE SIQUEIRA-FILHO, A. G.; LAND, M. G. P. Analysis of the economic impact of cardiovascular diseases in the last five years in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, p. 39–46, 2017.

THUNHORST, R. L.; JOHNSON, A. K. Renin-angiotensin, arterial blood pressure, and salt appetite in rats. **The American journal of physiology**, v. 266, n. 2 Pt 2, p. R458–R465, 1994.

UKRI. **Use of both sexes to be default in laboratory experimental design – UK Research and Innovation**. Disponível em: <<https://www.ukri.org/news/use-of-both-sexes-to-be-default-in-laboratory-experimental-design/>>. Acesso em: 21 jan. 2024.

USSELMAN, C. W. et al. Guidelines on the use of sex and gender in cardiovascular research. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 326, n. 1, p. H238–H255, 2024.

VIJANDE, M. et al. Increased salt preference in adult offspring raised by mother rats consuming excessive amounts of salt and water. **Regulatory Peptides**, v. 66, n. 1–2, p. 105–108, 1996.

WEBER, B. R.; DIETER, R. S. Renal artery stenosis: epidemiology and treatment. **Int J Nephrol Renovasc Dis**, v. 7, p. 169–181, 2014.

WILLIAMS, P. J. et al. Expression of AT1R, AT2R and AT4R and their roles in extravillous trophoblast invasion in the human. **Placenta**, v. 31, n. 5, p. 448–455, 2010.

XU, Z. et al. Central angiotensin induction of fetal brain c-fos expression and swallowing activity. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 280, n. 6, p. R1837–R1843, 1 jun. 2001.

XUE, B. et al. Maternal Gestational Hypertension-Induced Sensitization of Angiotensin Hypertension Is Reversed by Renal Denervation or Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition in Rat Offspring. **Hypertension**, v. 69, n. 4, p. 669–677, 1 abr. 2017.

XUE, B. et al. Maternal Angiotensin II-Induced Hypertension Sensitizes Postweaning High-Fat Diet-Elicited Hypertensive Response Through Increased Brain Reactivity in Rat Offspring. **J Am Heart Assoc**, v. 10, n. 18, p. e022170, 21 set. 2021.

XUE, B.; JOHNSON, A. K. Sensitization of Hypertension: The Impact of Earlier Life Challenges: Excellence Award for Hypertension Research 2021. **Hypertension**, p. 10–1161, 2022.

YANG, T. et al. The gut microbiota and the brain–gut–kidney axis in hypertension and chronic kidney disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 14, n. 7, p. 442–456, 1 jul. 2018.