



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

FRANCISCO MATEUS PEREIRA CUNHA

**COMPORTAMENTO INGESTIVO E ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES EM
RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2 RINS-1 CLIPE TRATADOS COM
INIBIDOR DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA**

FORTALEZA

2023

FRANCISCO MATEUS PEREIRA CUNHA

**COMPORTAMENTO INGESTIVO E ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES EM
RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2 RINS-1 CLIPE TRATADOS COM
INIBIDOR DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA**

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
Coorientador: Prof. Dr. Richard Boarato David

FORTALEZA

2023

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)

- P491c Pereira Cunha, Francisco Mateus.
Comportamento ingestivo e alterações cardiovasculares em ratos com hipertensão renovascular 2 rins-1 clipe tratados com inibidor da enzima conversora de angiotensina / Francisco Mateus Pereira Cunha. – 2023.
56 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Cardiovasculares, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari.
Coorientação: Prof. Dr. Richard Boarato David.
1. Hipertensão. 2. Angiotensina II. 3. Enalapril. 4. Sódio. 5. Cardiomegalia. I. Título.
- CDD 616.1
-

FRANCISCO MATEUS PEREIRA CUNHA

**COMPORTAMENTO INGESTIVO E ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES EM
RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2 RINS-1 CLIPE TRATADOS COM
INIBIDOR DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA**

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

Coorientador: Prof. Dr. Richard Boarato David

Aprovado em 27/03/2023.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marisa Jadna Silva Frederico Canuto
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Thyago Moreira de Queiroz
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari
Universidade Federal do Ceará

Dedico esse trabalho ao amor da minha vida:
Minha mãe, Maria Ivonete,
pelo amor incondicional e por toda a força
que me motiva a não desistir, mas perseverar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe pelo amor, apoio, compreensão e por lutar desde a minha infância pela minha educação, sem a Sra. eu jamais chegaria onde estou e onde chegarei. Todas as minhas conquistas são graças a você, minha guerreira, que me inspira todos os dias com sua força para enfrentar a vida. Sou muito grato por ter vindo ao mundo sendo seu filho e por partilhar momentos tão lindos com a Sra.

Ao meu namorado, Willian Oliveira, pela amizade, apoio, compreensão e por estar comigo durante os anos de mestrado me dando forças e motivação para continuar seguindo em frente.

Aos meus avós, Francisca e José Milton, por me ajudarem sempre que preciso.

Aos amigos que fazem ou já fizeram parte do corpo discente do laboratório de neurofisiologia e comportamento ingestivo por toda ajuda nos experimentos, além das risadas, conversas e estudos: Maxwel Sampaio, Gabriela Freire, Beatriz Cavalcante, Thiago Amorim, Rian Victor, Yure, Allan Vitaliano e Thais Nobre.

Aos orientadores, Dra. Camila Ferreira Roncari e Dr. Richard Boarato David por instruir o desenvolvimento da pesquisa e dissertação. Em especial, à professora Camila Roncari pela receptividade, paciência e dedicação em ensinar detalhadamente e com muita atenção cada procedimento dos experimentos realizados. A forma como ela lida com a singularidade e as necessidades de cada aluno com muito cuidado, empatia e humanidade é algo que me inspira bastante nesse caminho da pesquisa e docência que estou seguindo.

Aos meus amigos mais próximos por deixarem as lutas da vida mais leves.

À todas as pessoas que já passaram pela minha vida até aqui e que me motivaram a ser forte e prosseguir.

À todas as vidas não humanas cuja existência concedeu os conhecimentos obtidos para a produção dessa dissertação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“ Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes. ”*

(Martin Luther King)

RESUMO

A hipertensão arterial é um problema de saúde pública mundial que representa alto risco para outras doenças cardiovasculares e renais, inclusive, cerca de 667.184 óbitos devido a hipertensão arterial foram registrados no Brasil entre 2008 e 2017. Em vista disso, é importante que mais estudos busquem compreender melhor a fisiopatologia e novas metodologias terapêuticas para o tratamento dessa doença. A hipertensão renovascular 2 rins 1 clipe (2R1C) é um modelo experimental caracterizado pelo aumento da atividade do sistema renina angiotensina (SRA), da atividade simpático e da ingestão diária de água e NaCl hipertônico, além de remodelamento/hipertrofia cardíaca. No entanto, o papel da atividade angiotensínica nas alterações do comportamento ingestivo de água e NaCl e na hipertrofia cardíaca nesse modelo ainda não está bem estabelecido. Assim, é possível especular que o bloqueio da enzima conversora de angiotensina seja capaz de modificar o comportamento ingestivo e as alterações cardiovasculares de ratos com hipertensão renovascular 2R1C. O objetivo do presente estudo foi investigar se a inibição dos mecanismos angiotensínicos através do bloqueio da enzima conversora de angiotensina modifica o comportamento ingestivo e as variáveis cardiovasculares de ratos Wistar com hipertensão renovascular 2R1C. Foram utilizados ratos Wistar pesando entre 150 e 180 gramas para indução da hipertensão renovascular 2R1C. O tratamento com enalapril (3 mg/kg/dia; 14 dias) iniciou-se no 15º dia após a cirurgia 2R1C, ou seja, durante a fase de desenvolvimento da hipertensão. Sete dias após o início do tratamento com enalapril, foram realizados os registros diários de ingestão de água e NaCl 0,23 M e, ao final do experimento, o coração foi coletado para avaliação do peso e volume cardíaco. A estenose parcial da artéria renal, com rim contralateral intacto, induziu um aumento da pressão arterial sistólica e, conseqüentemente, da pressão arterial média, sem alteração da frequência cardíaca. Ratos 2R1C tratados com enalapril ingeriram maior volume de NaCl em comparação aos sham, porém houve redução da ingestão de água nesse grupo. Ambos os grupos hipertensos 2R1C tiveram aumento no peso do coração, mas sem alteração no volume cardíaco, em comparação aos animais sham. Dessa forma, os resultados do presente estudo mostram que o bloqueio da enzima conversora de angiotensina com enalapril na dose de 3 mg/kg não foi capaz de reduzir as variáveis cardiovasculares em ratos hipertensos 2R1C, porém induziu um aumento significativo da ingestão de NaCl 0,23 M e reduziu a ingestão de água.

Palavras-chave: Hipertensão; Angiotensina II; Enalapril; Sódio; Cardiomegalia.

ABSTRACT

Hypertension is a worldwide public health problem that represents a high risk for other cardiovascular and renal diseases, including about 667,184 deaths due to hypertension were recorded in Brazil between 2008 and 2017. Considering this, it is important that further studies seek to better understand the pathophysiology and new therapeutic methodologies for the treatment of this disease. The 2 kidneys 1 clip (2R1C) renovascular hypertension is an experimental model characterized by increased activity of the renin angiotensin system (RAS), sympathetic activity and daily water and hypertonic NaCl intake, in addition to cardiac remodeling/hypertrophy. However, the role of angiotensinergic activity in changes in water and NaCl intake behavior and cardiac hypertrophy in this model is not yet well established. Thus, it is possible to speculate that angiotensin-converting enzyme blockade may be able to modify the ingestive behavior and cardiovascular changes in rats with renovascular hypertension 2R1C. The aim of the present study was to investigate whether angiotensin-converting enzyme blockade modifies the ingestive behavior and cardiovascular changes of 2R1C hypertensive rats. Wistar rats weighing between 150 and 180 grams were used for induction of 2R1C renovascular hypertension. Treatment with enalapril (3 mg/kg/day; 14 days) was started at the 15th day after the 2K1C surgery, i.e., during the hypertension development phase. Seven days after the beginning of the treatment with enalapril, daily records of water and 0.23 M NaCl intake were performed and, at the end of the experiment, the heart was collected to determine cardiac weight and volume. Partial stenosis of the renal artery, with an intact contralateral kidney, induced an increase in systolic blood pressure and, consequently, mean arterial pressure, with no change in heart rate. Enalapril-treated 2K1C rats ingested a greater volume of NaCl compared to sham, but there was reduced water intake in this group. Both 2K1C hypertensive groups had increased heart weight, but no change in heart volume, compared to sham animals. Thus, the results of the present study show that angiotensin-converting enzyme blockade with enalapril at a dose of 3 mg/kg was not able to reduce cardiovascular variables in 2K1C hypertensive rats, but induced a significant increase in 0.23 M NaCl intake and reduced water intake.

Keywords: Hypertension; Angiotensin II; Enalapril; Sodium; Cardiomegaly.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho esquemático mostrando a cascata de reação da ativação do SRA no lúmen do endotélio vascular e as ações da ANG II em órgãos alvo.

Figura 2- Desenho esquemático do protocolo experimental realizado em ratos sham ou 2R1C tratados com veículo ou enalapril (3 mg/kg/dia).

Figura 3 - Ingestão diária de (A) água e (B) NaCl 0,23 M por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 4 - Ingestão total de líquidos diária por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 5 - Molaridade diária de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 6 - Ingestão diária de ração por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 7 - Volume urinário diário em ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 8 - Peso corporal de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 9 - (A) Pressão arterial sistólica - PAS e (B) variação da PAS - Δ PAS em ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 10 - (A) Pressão arterial média - PAM e (B) frequência cardíaca - FC em ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 11 - Razão peso rim esquerdo/rim direito de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

Figura 12 - (A) Peso e (B) volume cardíaco de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia).

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

2R1C – hipertensão renovascular 2 rins 1 clipe

5-HT – serotonina

ANG I – angiotensina I

ANG II – angiotensina II

BHE – barreira hematoencefálica

CCK – colecistocinina

CRH - hormônio liberador de corticotrofina

DC – débito cardíaco

DOI – agonista de receptores 5-HT_{2A/2C}

ECA – enzima conversora de angiotensina

EPM – erro padrão da média

EROs – espécies reativas de oxigênio

FC – frequência cardíaca

HA – hipertensão arterial

HARV – hipertensão arterial renovascular

ICV – intracerebroventricular

MnPO – núcleo pré-óptico mediano

NPBL – núcleo parabraquial

O₂[•] – superóxido

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

PH – privação hídrica

PH-RP – privação hídrica seguida de reidratação parcial

RD – rim direito

RE – rim esquerdo

RE/RD - razão peso rim esquerdo/rim direito

SC – subcutânea

SHAM – ratos normotensos

SHRs – ratos espontaneamente hipertensos

SRA – sistema renina angiotensina

VEC – volume do líquido extracelular

VL – ventrículo lateral

Δ PAS – variação da PAS

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Hipertensão arterial.....	14
1.2	Modelo de hipertensão renovascular 2 rins – 1 clipe (2R1C) ou hipertensão de Goldblatt	15
1.3	Sistema renina-angiotensina no modelo de hipertensão renovascular 2R1C	16
1.4	Mecanismos centrais facilitatórios e inibitórios para ingestão de água e NaCl em ratos normotensos.....	17
1.5	Mecanismos centrais facilitatórios (ANG II e hiperosmolaridade) e inibitórios para ingestão de água e NaCl em ratos com hipertensão renovascular 2R1C.....	21
1.6	Hipertrofia cardíaca em ratos com hipertensão renovascular 2R1C	22
2	OBJETIVO.....	24
3	MATERIAL E MÉTODO.....	25
3.1	Animais.....	25
3.2	Cirurgia para desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C.....	25
3.3	Drogas utilizadas	25
3.4	Registro indireto da pressão arterial sistólica (PAS).....	26
3.5	Registro direto da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).....	26
3.6	Medidas diárias de ingestão de água, NaCl 0,23 M e ração, do volume urinário e do peso corporal.....	27
3.7	Eutanásia e análise dos rins e coração	27
3.8	Determinação do volume cardíaco	27
3.9	Apresentação dos resultados e análise estatística	27
3.10	Protocolo experimental realizado	28
3.10.1	Efeitos do tratamento com enalapril no consumo diário de água, NaCl 0,23 M e ração, volume urinário e nas variáveis cardiovasculares em ratos hipertensos 2R1C.....	28
4	RESULTADO	29

4.1	Ingestão diária de água e NaCl 0,23 M por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril	29
4.2	Ingestão diária de ração por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril	33
4.3	Volume urinário diário de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril	34
4.4	Peso corporal de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril	35
4.5	Pressão arterial sistólica (PAS) e variação da PAS (Δ PAS) de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril	36
4.6	Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) de ratos 2R1C tratados com veículo ou enalapril	38
4.7	Razão peso rim esquerdo/rim direito em ratos sham e 2R1C tratados com veículo ou enalapril	40
4.8	Peso do coração e volume cardíaco de ratos sham e 2R1C tratados com veículo ou enalapril	41
5	DISCUSSÃO	43
6	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hipertensão arterial

A Hipertensão arterial (HA) é uma doença cardiovascular cujos níveis pressóricos se encontram permanentemente elevados, maiores ou iguais a 140 por 90 mmHg de sistólica e diastólica, respectivamente. A sua origem é multifatorial, sendo dependente de fatores genéticos, epigenéticos, sociais e ambientais, tais como, obesidade/sobrepeso, etnia, sedentarismo, diabetes, alcoolismo e tabagismo. Possui um início assintomático e durante seu desenvolvimento altera estrutura e funcionalmente os sistemas cardiovascular, nervoso e renal (Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2020).

A HA tem alta prevalência em todo o mundo e é considerada um dos principais fatores de risco modificável para o desenvolvimento de doenças renais e outras doenças cardiovasculares (DCV), como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico e insuficiência cardíaca. No Brasil, entre 2008 e 2017, foram registrados cerca de 667.184 óbitos devido à HA. (Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2020).

Quanto à etiologia, pode-se classificar a HA como primária, quando idiopática e frequentemente multifatorial, ou secundária se decorrer de doenças identificáveis que são passíveis de intervenções para controle pressórico. As principais causas de HA secundária são doença renal crônica, hipertensão renovascular, apneia obstrutiva do sono e alguns distúrbios endócrinos, como hiperaldosteronismo primário, feocromocitoma, hipotireoidismo, hipertireoidismo, síndrome de Cushing, acromegalia e obesidade, entre outros (Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2020).

Os números de casos de HA relatados no país são variados e dependem do método da pesquisa realizada e do grupo avaliado, como demonstrado no estudo realizado por Malta e colaboradores, onde eles investigaram a prevalência da doença em homens e mulheres a partir de alguns critérios diagnósticos e observaram que no critério hipertensão arterial medida, os homens tiveram maior prevalência, enquanto no critério autorreferido o percentual de mulheres prevaleceu. Em todos os critérios, a HAS aumentou com a idade de ambos os sexos e indivíduos acima de 70 anos apresentaram 71,7% de aumento (Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2020; Malta DC et al., 2019).

O presente estudo irá se concentrar na Hipertensão arterial renovascular (HARV), uma HA de etiologia secundária, frequentemente devido a displasia fibromuscular ou aterosclerose,

cujo tratamento envolve abordagens farmacológica e cirúrgica (revascularização). O desenvolvimento da HARV acontece por estenose parcial ou total (acima de 70%) de uma ou ambas as artérias renais. É uma doença silenciosa, grave e suas manifestações clínicas são heterogêneas, com lesões que se iniciam com alterações hemodinâmicas mínimas, mas caso não tratadas, progredem para níveis críticos, com elevada ativação de mecanismos fisiopatológicos hipertensivos e de isquemia renal (Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2020).

1.2 Modelo de hipertensão renovascular 2 rins – 1 clipe (2R1C) ou hipertensão de Goldblatt

Duas teorias foram elaboradas com objetivo de compreender os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na manutenção da HA, a primeira baseada na hipótese de que a HA seria ocasionada por alterações na função renal, ao mesmo tempo que a outra correlacionava a HA às alterações no funcionamento do sistema nervoso central. Em vista disso, diversos modelos experimentais animais foram desenvolvidos para estudar essa patologia (Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial, 2016).

Os diferentes modelos animais foram criados na tentativa de investigar as diversas origens e entender as características fisiopatológicas da hipertensão, cada um contribuindo para construir um amplo conhecimento sobre a doença. Atualmente, o uso de animais de pequeno porte, como os roedores, oferece maior benefício em relação ao custo e a facilidade de manuseio, o rápido período gestacional e o menor espaço físico para alojamento comparado aos animais de grande porte. No entanto, os métodos de aferição da PA são desafiadores, os procedimentos cirúrgicos são difíceis e a quantidade de amostras biológicas como urina e plasma são menores. Todavia, são modelos bem adequados para se estudar os mecanismos fisiopatológicos, pois reproduzem características fenotípicas observadas na hipertensão humana (Lerman LO et al., 2019).

Goldblatt e colaboradores desenvolveram um modelo que envolvia isquemia limitada ao leito renal, sendo capaz de induzir uma hipertensão persistente. O experimento, realizado em cães, consistia na oclusão parcial de ambas as artérias renais e foi observado que a redução da perfusão para os rins levou a um aumento persistente da PA. Posteriormente, o protocolo foi alterado para oclusão parcial da artéria renal de apenas um rim, ao passo que o rim contralateral

permanecia intacto, sendo classificado como hipertensão renovascular 2 rins 1 clipe (2R1C). Atualmente, muitos estudos pré-clínicos em roedores utilizam o modelo de hipertensão renovascular 2R1C (Goldblatt et al., 1934).

Conforme detalhado por Martinez-Maldonado, a hipertensão renovascular 2R1C pode ser dividida em fases. Na primeira fase, equivalente às 4 semanas após clipagem, a pressão arterial aumenta linearmente e está associada ao aumento da atividade de renina plasmática (ARP) e, conseqüentemente, aumento da concentração de angiotensina II (ANG II) circulante. Durante esse período, o pré-tratamento com inibidores da enzima conversora angiotensina (ECA) pode impedir o desenvolvimento ou até mesmo reduzir a hipertensão renovascular. Durante a fase II (5^a a 8^a semana após a clipagem), os níveis de pressão arterial podem ter atingido um platô ou continuar subindo, sendo que o tratamento com o inibidor da ECA ou remoção do clipe podem reduzir a PA. Na fase III (9^a semana em diante), observa-se uma hipertensão persistente e possivelmente de origem central, visto que o tratamento com o inibidor da ECA ou a remoção do clipe não são capazes de reduzir a PA (Martinez-Maldonado., 1991)

1.3 Sistema renina-angiotensina no modelo de hipertensão renovascular 2R1C

O desenvolvimento da hipertensão no modelo de Goldblatt inicia a partir da hiperativação do sistema renina angiotensina (SRA). O rim com estenose parcial aumenta a secreção de renina pelas células justaglomerulares e na circulação a renina hidrolisa o angiotensinogênio, uma α_2 -globulina, em angiotensina I (ANG I), um decapeptídeo com menos ações fisiológicas conhecidas que a ANG II. A ANG I perde dois aminoácidos terminais e é convertida em um octapeptídeo fisiologicamente ativo, sendo esta reação catalisada pela enzima conversora de angiotensina (ECA) (Goldblatt et al., 1934; Martinez-Maldonado.,1991; Leenen et al., 1975; Lincevicius et al., 2015; Textor, 2017; Roncari et al., 2018) (Figura 1).

A ANG II, por sua vez, possui inúmeras ações fisiológicas, como aumento da atividade simpática, atenuação da função barorreflexa, secreção de vasopressina, reabsorção de água, sódio e cloreto. Ainda, estimula a ingestão de água e/ou NaCl, tanto por sua atividade periférica, através do controle da secreção de aldosterona, quanto por sua ação central em algumas áreas encefálicas (Goldblatt et al., 1934; Martinez-Maldonado.,1991; Leenen et al., 1975; Lincevicius et al., 2015; Textor, 2017; Roncari et al., 2018) (Figura 1).

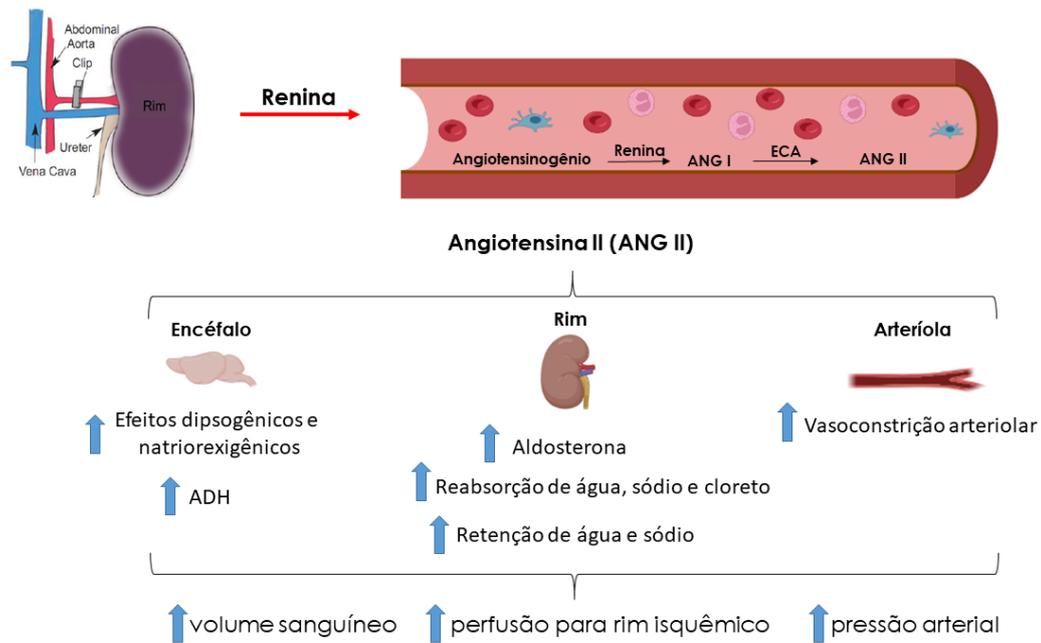


Figura 1: Desenho esquemático mostrando a cascata de reação da ativação do SRA no lúmen do endotélio vascular e as ações da ANG II em alguns órgãos alvo. Fonte: acervo pessoal do autor.

Como mencionado, a ANG II possui atuação central induzindo comportamentos ingestivos, possivelmente para garantir a homeostasia do fluido corporal, e respostas cardiovasculares dependentes de ação simpática e de secreção de vasopressina (Hoffman et al., 1977; Johnson, 1978; Johnson, 1985; Mahon JMet al., 1995; Fitzsimons, 1998). Níveis elevados de ANG II atuando centralmente em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ou espontânea (SHRs) regulam o tônus simpático e outros mecanismos neuro-humorais envolvidos no desenvolvimento e manutenção da hipertensão (NystrOm et al., 2002; Roncari et al., 2018; Ruiz et al., 1990).

1.4 Mecanismos centrais facilitatórios e inibitórios para ingestão de água e NaCl em ratos normotensos

Os efeitos dipsogênicos e natriorexigênicos da ANG II acontecem a partir da sua ligação com os receptores AT_1 que estão, coincidentemente, distribuídos no sistema nervoso central nas diversas áreas prosencefálicas notoriamente envolvidas com o controle da homeostase cardiovascular e do equilíbrio hidroeletrolítico. Estruturas prosencefálicas fenestradas, vascularizadas e livres de barreira hematoencefálica (BHE) estão localizadas estrategicamente ao redor dos ventrículos encefálicos, nomeadas de órgãos circunventriculares (OCVs), como o órgão subfornical (OSF) e o órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT). Os OCVs são áreas com alta densidade de receptores AT_1 e, portanto, na presença de ANG II são ativados

mecanismos que facilitam a ingestão de água e NaCl (Steckelings U et al., 1992; Jöhren O., 1995; De Luca Jr et al., 2005).

A participação dos OCVs na osmorregulação a partir do comportamento ingestivo de água e NaCl é evidenciada por estudos que observaram os efeitos de lesões nessas regiões, as suas conexões neuroanatômicas e a expressão do gene de ativação imediata como marcador de atividade neuronal, c- Fos (Mckinley M J et al., 2004; De Luca Jr., 2005).

A osmolaridade plasmática e o volume do líquido extracelular (VEC) são constantemente monitorados pelo organismo. A concentração plasmática do íon sódio é o parâmetro crucial para avaliação da osmolaridade. O aumento da osmolaridade é monitorado por osmorreceptores especialmente localizados no OSF, OVLT e núcleo pré-óptico mediano (MnPO) e a redução do VEC, por barorreceptores e pelas células justaglomerulares. A presença de neurônios sensíveis aos níveis de sódio e de receptores de ANG II nos OCVs, permite que sejam detectadas as variações na concentração plasmática de sódio e de ANG II. Lesões permanentes ou temporárias, seletivas ou combinadas nos OCVs localizados na lâmina terminal inibem a sede e o apetite ao sódio em animais privados de água ou com depleção de sódio (De Luca Jr et al., 2005).

A depleção de sódio induzida por injeção subcutânea de furosemida ou adrenalectomia bilateral aumenta a concentração plasmática de ANG II e a expressão de c-Fos, um marcador de atividade neuronal, nos neurônios do OSF e OVLT. Em contrapartida, injeção subcutânea de losartan ou valsartan (antagonistas dos receptores AT1) e altas doses do inibidor da ECA impedem consideravelmente essa expressão de c-Fos em ambas as áreas encefálicas (Mckinley M J et al., 2003). Injeção intracerebroventricular (icv) do inibidor da ECA (captopril) ou injeção icv de losartan, diminui a ingestão de NaCl em animais submetidos à depleção de sódio (Moe et al., 1984; Weisinger et al., 1987; Weisinger et al., 1996; Fitzsimons, 1998). Por outro lado, a injeção icv de ANG II aumenta a ingestão de NaCl induzida por hipovolemia (Fitts et al., 1985).

Os neurônios do OSF apresentam osmossensibilidade intrínseca (Sibbald et al., 1988; Bourque et al., 1994; Anderson et al., 2000) e a lesão dessa área reduz a ingestão de água induzida por hiperosmolaridade (Stratford et al., 2000). Também foi demonstrado que a ingestão de água e NaCl induzida por hiperosmolaridade depende da ativação de mecanismos angiotensinérgicos do OSF (Roncari et al., 2017). Além disso, estudos anatômicos mostraram que o OSF possui conexões aferentes e eferentes com diversas regiões encefálicas sabidamente envolvidas na regulação da ingestão de água e NaCl e da PA (Johnson et al., 1993; Johnson et al., 1997).

Estudos demonstram que a ingestão de NaCl de animais submetidos a lesões no OSF é menor em comparação àqueles sem lesões ou com lesões parciais, mesmo o esgotamento de sódio sendo semelhante para todos os grupos. Ainda, a ingestão de NaCl de ratos depletados de sódio, mas sem lesões ou com lesões parciais no OSF é substancialmente reduzida ou eliminada pela ablação do OSF ou por antagonistas do SRA, desse modo os autores sugerem que a ingestão de sódio observada neste experimento é mediada pela ação da ANG II sobre seus receptores (Weisinger et al., 1990).

Animais submetidos à privação hídrica (PH) permanecem com a atividade da renina plasmática elevada mesmo após a reidratação apenas com água (De Luca Jr et al., 2002). Esse resultado é coerente visto que a manutenção da osmolaridade em valores homeostáticos é importante para a correção da hipovolemia. Dessa forma, o SRA permanece ativado estimulando a produção de ANG II que faz o animal desenvolver um apetite específico para o sódio, haja vista que na presença de antagonistas do SRA há a inibição desse apetite mesmo o animal já submetido aos protocolos de PH ou desidratação extracelular. Fenômeno semelhante acontece em humanos reidratados exclusivamente com água que rapidamente buscam soluções salinas mais concentradas. Em vista disso, é notório que a ANG II possui um papel muito importante no controle da sede e do apetite ao sódio (Weisinger et al., 1985; Takamata et al., 1994; De Luca Jr., 2005).

Paralelamente à atuação dos mecanismos que facilitam a ingestão de água e de NaCl a partir da ANG II ou hiperosmolaridade, o organismo também dispõe de mecanismos inibitórios da ingestão de água e de NaCl que atuam limitando a ingestão nas situações em que o equilíbrio está presente, ou seja, esses mecanismos sinalizam para que ocorra a saciedade. Estudos pioneiros mostraram que as lesões eletrolíticas ou químicas e a injeção de lidocaína no núcleo parabraquial lateral (NPBL) aumentam a ingestão de água induzida por injeção central ou periférica de ANG II, bem como por outros estímulos relacionados com a formação de ANG II, sugerindo um papel inibitório do NPBL sobre o controle da ingestão de água (Ohman et al., 1986; Ohman et al., 1989; Edwards et al., 1991; Menani et al., 1995).

Em um estudo subsequente, Menani e colaboradores mostraram que injeções bilaterais no NPBL de metisergida, um antagonista de receptores serotoninérgicos, aumentavam a ingestão de água induzida por injeção icv de ANG II (Menani et al., 1995). Por outro lado, injeções de serotonina (5-HT) ou DOI (agonista de receptores 5-HT_{2A/2C}) no NPBL reduzem a ingestão de água induzida por ANG II injetada no ventrículo lateral (VL) (Menani et al., 1995). Esses resultados corroboram com os resultados anteriores que demonstram o envolvimento do NPBL

com os mecanismos inibitórios da ingestão de água e sugerem que vias serotoninérgicas participam desse efeito.

Além da 5-HT, a colecistocinina (CCK) também tem um papel inibitório na ingestão de água e NaCl (Menani et al., 1998), demonstrando-se, inclusive, uma interdependência e cooperatividade entre 5-HT e CCK no NPBL no controle da ingestão de água e NaCl (De Gobbi et al., 2001). Estudos mais recentes mostraram que paralelamente à 5-HT e CCK, vários outros neurotransmissores e receptores participam do controle da ingestão de NaCl no NPBL. Dentre esses neurotransmissores, o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e o glutamato ativam esse mecanismo inibitório reduzindo ou limitando a ingestão de NaCl, enquanto a ativação de receptores opioidérgicos, adrenérgicos α_2 e purinérgicos no NPBL bloqueiam o mecanismo inibitório permitindo uma intensa ingestão de NaCl por ratos estimulados a ingerir NaCl (Andrade et al., 2004; Callera et al., 2005; De Castro e Silva et al., 2006; De Oliveira et al., 2008; De Gobbi et al., 2009; Menezes et al., 2011; Pavan et al., 2015).

Injeções de antagonistas da 5-HT, CCK, CRH e glutamato, assim como agonistas de receptores adrenérgicos α_2 , purinérgicos ou opioidérgicos no NPBL aumentam a ingestão de NaCl em ratos submetidos a protocolos dipsogênicos e/ou natriorexigênicos (Menani et al., 1996, Menani et al., 1998; Menani et al., 1998; De Gobbi et al., 2000; Andrade et al., 2004; Andrade et al., 2006; De Castro e Silva et al., 2006; De Gobbi et al., 2009; Menezes et al., 2011; Pavan et al., 2015). Porém, em ratos normotensos em condição de normohidratação, esses mesmos tratamentos não produzem nenhum efeito na ingestão de NaCl (Menani et al., 1996; Menani et al., 1998; Andrade et al., 2004; Menezes et al., 2011). Isso levou à hipótese de que a ingestão de NaCl só ocorreria quando, simultaneamente, mecanismos facilitatórios fossem ativados e mecanismos inibitórios fossem desativados.

No entanto, resultados posteriores mostraram que somente injeções bilaterais de agonistas gabaérgicos no NPBL induzem uma intensa ingestão de NaCl em ratos normohidratados (Callera et al., 2005; De Oliveira et al., 2011). Esses estudos demonstraram que injeções bilaterais no NPBL de muscimol (agonista de receptores GABAA) ou baclofen (agonista de receptores GABAB) induzem intensa ingestão de NaCl e água em ratos normohidratados e sem nenhum tratamento prévio (Callera et al., 2005; De Oliveira et al., 2011).

1.5 Mecanismos centrais facilitatórios (ANG II e hiperosmolaridade) e inibitórios para ingestão de água e NaCl em ratos com hipertensão renovascular 2R1C

O modelo de hipertensão renovascular 2R1C se caracteriza fisiopatologicamente com aumento da pressão sanguínea sistêmica e danos a órgãos-alvos. Além disso, sabe-se que a redução da pressão de perfusão para o rim com estenose culmina na ativação do SRA e consequentemente vasoconstrição, aumento na atividade nervosa simpática e uma atenuação barorreflexa, contribuindo para manutenção da hipertensão renovascular (Oliveira-Sales et al., 2009; Blanch et al., 2014; Oliveira-Sales et al., 2014; Barbosa et al., 2017).

Os animais submetidos ao modelo de Goldblatt, tem sua pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial média (PAM) e a pressão arterial diastólica (PAD) aumentadas de forma gradual semana a semana, atingindo um platô na 6^a semana após a cirurgia de indução da hipertensão (Oliveira-Sales et al., 2014).

Além das alterações cardiovasculares, estudos anteriores mostram que ratos submetidos ao procedimento experimental para oclusão parcial da aorta abdominal entre as artérias renais, com redução do fluxo sanguíneo ao rim esquerdo apresentam quadros de natriofilia e aumento da ingestão de água logo na primeira semana após a cirurgia (COSTALES et al., 1984).

Dessa forma, Roncari e colaboradores demonstraram que ratos 2R1C tem uma maior ingestão de NaCl 0,3 M nas 5 semanas após a indução da hipertensão renovascular, mas ao final da 6^a semana a ingestão diária de NaCl hipertônico retorna aos níveis observados em ratos normotensos (Roncari et al., 2018). Apesar disso, os ratos 2R1C permanecem mais responsivos aos efeitos induzidos por protocolos natriorexigênicos, como injeção icv de ANG II e privação hídrica seguida de reidratação parcial (PH-RP), sugerindo que a ingestão espontânea de NaCl hipertônico em ratos 2R1C provavelmente aconteça pela ação da ANG II em áreas encefálicas de controle da ingestão de sódio, como a ativação de receptores AT1 presentes no OSF (Roncari et al., 2018).

O retorno da ingestão diária de NaCl 0,3 M aos níveis basais na 6^a semana de desenvolvimento da hipertensão renovascular observado no estudo e a maior sensibilidade aos protocolos natriorexigênicos, indicam que haja modificação nos mecanismos inibitórios e facilitatórios para a ingestão de NaCl em animais com hipertensão renovascular 2R1C (Roncari et al., 2018).

Resultados recentes não publicados de nosso laboratório mostraram que apenas a inativação dos mecanismos inibitórios do NPBL com injeções de moxonidina (agonista

adrenérgico α_2 /imidazólico) foi capaz de induzir ingestão de NaCl hipertônico em ratos 2R1C, enquanto não se observa essa resposta em animais normotensos. Esse resultado sugere que é possível que um mecanismo inibitório fásico (mecanismos serotoninérgicos, adrenérgicos, glutamatérgicos e purinérgicos) em animais normotensos possa ter sido alterado para um mecanismo inibitório tônico (mecanismos gabaérgicos e opioidérgicos) em ratos 2R1C (David et al., em preparação).

A modificação de inibição fásica para inibição tônica pode explicar o retorno da ingestão de NaCl aos níveis observados em animais normotensos em fases tardias da hipertensão. Dessa forma, é possível que haja uma perturbação no padrão normal de regulação da ingestão de NaCl pelo NPBL, assim como a interação com mecanismos facilitatórios ativados pela ANG II ou hiperosmolaridade plasmática em ratos com hipertensão renovascular (David et al., em preparação).

1.6 Hipertrofia cardíaca em ratos com hipertensão renovascular 2R1C

Ratos 2R1C na fase de hiperatividade do SRA ainda apresentam quadros de inflamação, disfunção endotelial, danos microvasculares e remodelamento cardíaco (Restini et al., 2022). Fisiopatologicamente, na fase em que há aumento da atividade do SRA e consequente alta produção de ANG II, espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas em grande quantidade (Restini et al., 2022). Desse modo, estudos têm demonstrado que as respostas inflamatórias do sistema cardiovascular e a hipertrofia cardíaca frente à hipertensão 2R1C podem estar associadas ao aumento excessivo de EROs durante a alta atividade do SRA, contribuindo para a gênese e progressão das alterações patológicas relacionadas à hipertensão (Restini et al., 2022).

Estudos demonstraram que a ANG II é uma importante molécula estimuladora da produção de superóxido ($O_2^{\bullet-}$) através da ativação da NADH/NADPH oxidase, inclusive a produção de $O_2^{\bullet-}$ pelos cardiomiócitos vasculares em culturas de células aumentou após tratamento com ANG II (Griendling et al., 1994; Rajagopalan et al., 1996). Por esse motivo, pode perceber que o estresse oxidativo desencadeado pelo aumento da atividade do SRA nas fases iniciais do desenvolvimento da hipertensão renovascular provavelmente é o mecanismo fisiopatológico essencial para o desenvolvimento dos fatores de risco cardiovascular e das doenças cardíacas, haja vista que o $O_2^{\bullet-}$ é o agente oxidativo mais presente em animais submetidos a esse modelo de hipertensão (Restini et al., 2022; Ceron CS et al., 2013; Oliveira JC et al., 2012). Estudos recentes demonstraram que o tratamento com resveratrol, um

antioxidante e anti-inflamatório, promoveu uma proteção eficiente contra a remodelação/hipertrofia cardíaca induzida por hipertensão renovascular (Restini et al., 2022).

O aumento da hipertrofia cardíaca possivelmente se dá como uma resposta compensatória à pressão arterial elevada; ou seja, a hipertrofia parece ter o objetivo de manter o débito cardíaco (DC) e a perfusão sistêmica frente ao aumento da pós-carga causado pela hipertensão renovascular (Akbar Nekooeian A et al., 2021). Tais alterações podem ser atribuídas a um elevado nível sérico de ANG II, afinal estudos prévios mostraram que doses diferentes de captopril e losartan, além de reduzir a PAS, foram capazes de reduzir o peso do coração e o volume cardíaco total (Akbar Nekooeian A et al., 2021). Considerando os dados prévios da literatura, seria interessante investigar se o bloqueio da ECA modificaria o comportamento ingestivo e as alterações cardiovasculares de ratos Wistar com hipertensão renovascular 2R1C.

2 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi investigar se o bloqueio dos mecanismos angiotensinérgicos através da inibição da enzima conversora de angiotensina modifica o comportamento ingestivo e as alterações das atividades cardiovasculares de ratos Wistar com hipertensão renovascular 2R1C.

Objetivos específicos:

Os experimentos foram realizados em ratos hipertensos 2R1C tratados com veículo ou enalapril e sham com objetivos específicos de:

- Investigar os efeitos da inibição dos mecanismos angiotensinérgicos com enalapril na ingestão diária de água, NaCl 0,23 M e ração;
- Verificar os efeitos da inibição dos mecanismos angiotensinérgicos com enalapril na excreção urinária diária;
- Avaliar os efeitos da inibição dos mecanismos angiotensinérgicos com enalapril na pressão arterial;
- Analisar os efeitos da inibição dos mecanismos angiotensinérgicos com enalapril na hipertrofia cardíaca.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar jovens provenientes do Biotério Central da UFC e os experimentos foram realizados na sala de manutenção do Laboratório de Neurofisiologia e Comportamento Ingestivo (LANCI). No dia da cirurgia de indução da hipertensão renovascular 2R1C o peso dos animais com cirurgia fictícia (SHAM) era de 187 ± 8 g, 2R1C tratado com veículo 176 ± 3 g e 2R1C tratado com enalapril 171 ± 3 g. Os animais foram mantidos em caixas coletivas, com livre acesso a ração Nuvilab CR-1 irradiada (Quintia, Colombo, Brasil) e dois bebedouros contendo água e NaCl 0,23 M e permaneceram em ambiente climatizado com temperatura (24 °C) e umidade ($60 \pm 10\%$) controlados, com ciclo claro-escuro de doze horas (luzes acesas às 7 h). Na 3ª semana após a cirurgia, os animais foram transferidos para gaiolas metabólicas de aço inoxidável, onde permaneceram até o final dos experimentos. Os protocolos propostos foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais da UFC (CEUA-UFC) sob o protocolo nº 7872290120.

3.2 Cirurgia para desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal 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), posicionados em uma mesa cirúrgica e feito uma laparotomia para exposição do rim esquerdo. A artéria renal esquerda foi cuidadosamente isolada para a colocação de um clipe de prata que ocluiu parcialmente a artéria (diâmetro interno de 0,2 mm). Nos ratos com cirurgia fictícia (ratos sham), o mesmo procedimento foi realizado, exceto a inserção do clipe de prata. A incisão foi suturada e, imediatamente após a cirurgia, os ratos receberam injeção intramuscular de antibiótico (penicilinas - 24.000 UI e estreptomicina/diidroestreptomicina - 10 mg; Pentabiótico veterinário - Zoetis, Campinas, SP, Brasil) e injeção subcutânea de analgésico/anti-inflamatório (cetoprofeno - 5 mg/kg; Agener União, Embu-Guaçu, SP, Brasil).

3.3 Drogas utilizadas

Enalapril, inibidor da enzima conversora de angiotensina, foi dissolvido em veículo (salina isotônica estéril) e administrado por via oral (gavagem) na dose de 3 mg/kg/dia.

3.4 Registro indireto da pressão arterial sistólica (PAS)

Entre a 2^a e 5^a semana após a cirurgia 2R1C, a PAS foi mensurada, semanalmente, através do método de pletismografia de cauda, utilizando o MRBP System (IITC Life Sciences). Três dias antes de iniciar os registros, uma vez ao dia, os ratos foram adaptados a entrarem e permanecerem dentro de contensores por aproximadamente 15 minutos, com o objetivo de reduzir o estresse e, conseqüentemente, obter uma maior imobilização dos animais no período de experimentação.

Nos dias de aferição, os ratos foram colocados em uma caixa térmica a 37°C durante dez minutos para aquecimento corporal. Após o aquecimento, a região proximal da cauda dos animais foi encaixada em 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.

3.5 Registro direto da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC)

Os animais foram anestesiados novamente como descrito acima e foi realizada a canulação da artéria femoral para o registro direto da PAM e frequência cardíaca (FC). A cânula consistiu em um tubo de polietileno PE-10 soldado a um tubo de polietileno PE-50. No final da canulação, a cânula foi exteriorizada e suturada na pele do dorso do animal. A cânula foi preenchida com solução fisiológica estéril. Após a cirurgia, os ratos receberam uma injeção sc 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 (Stathan Gould) e acoplado a um amplificador (ETH-200, CB SCIENCES INC) 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), enquanto o cálculo para obtenção da FC se deu a partir da frequência instantânea do sinal de PAP.

3.6 Medidas diárias de ingestão de água, NaCl 0,23 M e ração, do volume urinário e do peso corporal

Após a 3ª semana de desenvolvimento da hipertensão 2R1C, os animais foram alocados individualmente em gaiolas metabólicas. A ingestão de água e NaCl 0,23 M, consumo de ração e volume urinário foram medidos diariamente por 7 dias. Após avaliação da ingestão diária de água, ração e NaCl e coleta da urina, os animais foram pesados. Para avaliar a ingestão diária total de líquidos, foram somados os valores individuais de ingestão de água e NaCl 0,23 M para cada animal. Com base no volume total de líquidos ingeridos, foi calculada a molaridade da solução ingerida diariamente.

3.7 Eutanásia e análise dos rins e coração

Ao final dos experimentos, os animais foram profundamente anestesiados com cetamina (80 mg/kg) e xilazina (5 mg/kg). Os rins foram retirados e pesados para confirmar a atrofia do rim esquerdo clipado e a hipertrofia do rim direito contralateral. (Smith e Bishop 1986). O coração foi retirado e pesado.

3.8 Determinação do volume cardíaco

Após a pesagem, o coração foi colocado em um béquer de 100 ml contendo um volume conhecido de água e o volume cardíaco foi determinado pelo método de imersão. Dessa forma, o volume cardíaco foi calculado como a diferença entre o volume final após imersão do coração e o volume inicial de água contida no béquer.

3.9 Apresentação dos resultados e análise estatística

Os resultados foram tabelados. A média e o erro padrão da média (EPM) foram representados em gráficos ou tabelas. A análise de variância (ANOVA) e o pós-teste de Newman Keuls foram utilizados para as comparações entre diferentes tratamentos. ANOVA de um fator foi utilizada para comparar a razão do peso RE/RD, PAM, FC, peso do coração e volume cardíaco (fator grupo). ANOVA de dois fatores foi utilizada para comparar as ingestões de ração, água e NaCl, volume urinário e PAS (fatores grupo e tempo). As diferenças foram consideradas significativas para $P < 0,05$.

3.10 Protocolo experimental realizado

3.10.1 Efeitos do tratamento com enalapril no consumo diário de água, NaCl 0,23 M e ração, volume urinário e nas variáveis cardiovasculares em ratos hipertensos 2R1C

Ratos 2R1C e sham (ratos normotensos) foram tratados com veículo ou enalapril (3 mg/kg) por via oral (gavagem) por 14 dias a partir do 15º dia após a cirurgia de indução da hipertensão ou cirurgia fictícia. No 19º dia, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas para adaptação; após esse período, as avaliações diárias foram registradas por 7 dias consecutivos (Figura 2).

No 28º dia pós-cirúrgica foi realizado o último registro da PAS de cada rato e no dia seguinte, os animais foram novamente anestesiados e a artéria femoral canulada para registro da PAM e FC. No dia do registro, a cânula arterial foi conectada ao sistema de registro de PA e a PAM e FC foram registradas por 30 minutos. Ao final, os ratos foram profundamente anestesiados e eutanasiados por exsanguinação, o coração e rins foram coletados, o primeiro para pesagem e avaliação do volume cardíaco, enquanto o segundo para a realização da razão peso RE/RD como um dos parâmetros de confirmação da hipertensão renovascular. Para a realização do protocolo foram utilizados três grupos experimentais: 1) sham tratado com veículo (Sham); 2) 2R1C tratado com veículo (2R1C veículo); 3) 2R1C tratado com enalapril (2R1C enalapril) (3 mg/kg) (Figura 2).

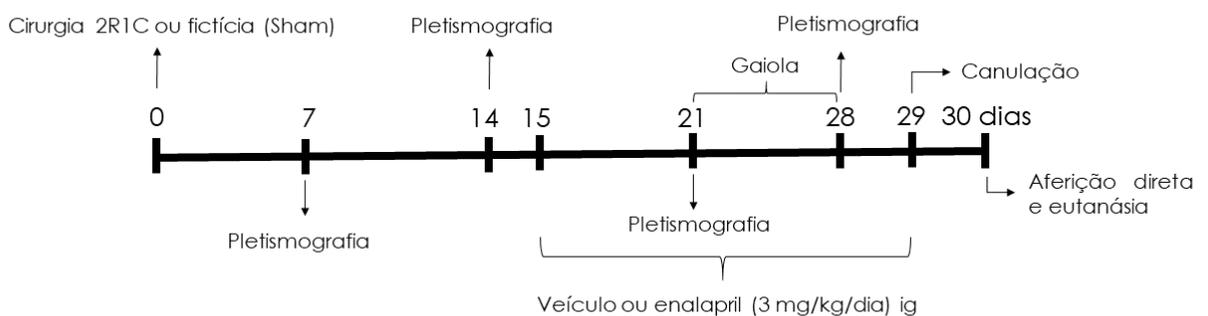


Figura 2: Desenho esquemático do protocolo experimental realizado em ratos sham ou 2R1C tratados com veículo ou enalapril (3 mg/kg/dia).

4 RESULTADO

4.1 Ingestão diária de água e NaCl 0,23 M por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril

A ingestão diária de água do grupo 2R1C veículo (dia 1: 59 ± 13 ml; dia 2: 58 ± 13 ml; dia 3: 51 ± 12 ml; dia 4: 60 ± 11 ml; dia 5: 49 ± 8 ml; dia 6: 50 ± 6 ml e dia 7: 50 ± 8 ml/24 h; n = 8) aumentou significativamente em relação aos grupos sham (dia 1: 38 ± 2 ml; dia 2: 38 ± 4 ml; dia 3: 43 ± 4 ml; dia 4: 44 ± 4 ml; dia 5: 44 ± 4 ml; dia 6: 48 ± 5 ml e dia 7: 48 ± 4 ml/24 h; n = 7) e 2R1C enalapril (dia 1: 50 ± 6 ml; dia 2: 43 ± 3 ml; dia 3: 43 ± 4 ml; dia 4: 49 ± 6 ml; dia 5: 47 ± 4 ml; dia 6: 45 ± 4 ml e dia 7: 44 ± 4 ml/24 h; n = 8) [F (2,140) = 3,70; P < 0,05]. Embora a análise estatística tenha indicado diferença entre os grupos, o pós-teste (Newman Keuls - ANOVA de dois fatores) não identificou os dias exatos em que o consumo foi diferente entre os grupos. Ainda, não houve diferença entre o grupo enalapril e sham (Figura 3A).

A ingestão diária de NaCl 0,23 M do grupo 2R1C veículo (dia 1: 51 ± 16 ml; dia 2: 44 ± 13 ml; dia 3: 46 ± 9 ml; dia 4: 43 ± 11 ml; dia 5: 45 ± 11 ml; dia 6: 39 ± 9 ml e dia 7: 46 ± 13 ml/24 h; n = 8) não teve diferença significativa em comparação ao grupo sham (dia 1: 24 ± 4 ml; dia 2: 32 ± 7 ml; dia 3: 32 ± 9 ml; dia 4: 35 ± 11 ml; dia 5: 43 ± 10 ml; dia 6: 47 ± 8 ml e dia 7: 47 ± 9 ml/24 h; n = 7). No entanto, a ingestão de NaCl 0,23 M do grupo 2R1C enalapril (dia 1: 61 ± 15 ml; dia 2: 55 ± 12 ml; dia 3: 46 ± 9 ml; dia 4: 52 ± 11 ml; dia 5: 65 ± 17 ml; dia 6: 56 ± 13 ml e dia 7: 58 ± 9 ml/24 h; n = 8) foi significativamente maior do que o grupo sham [F (2,140) = 4,76; P < 0,05] (Figura 3B).

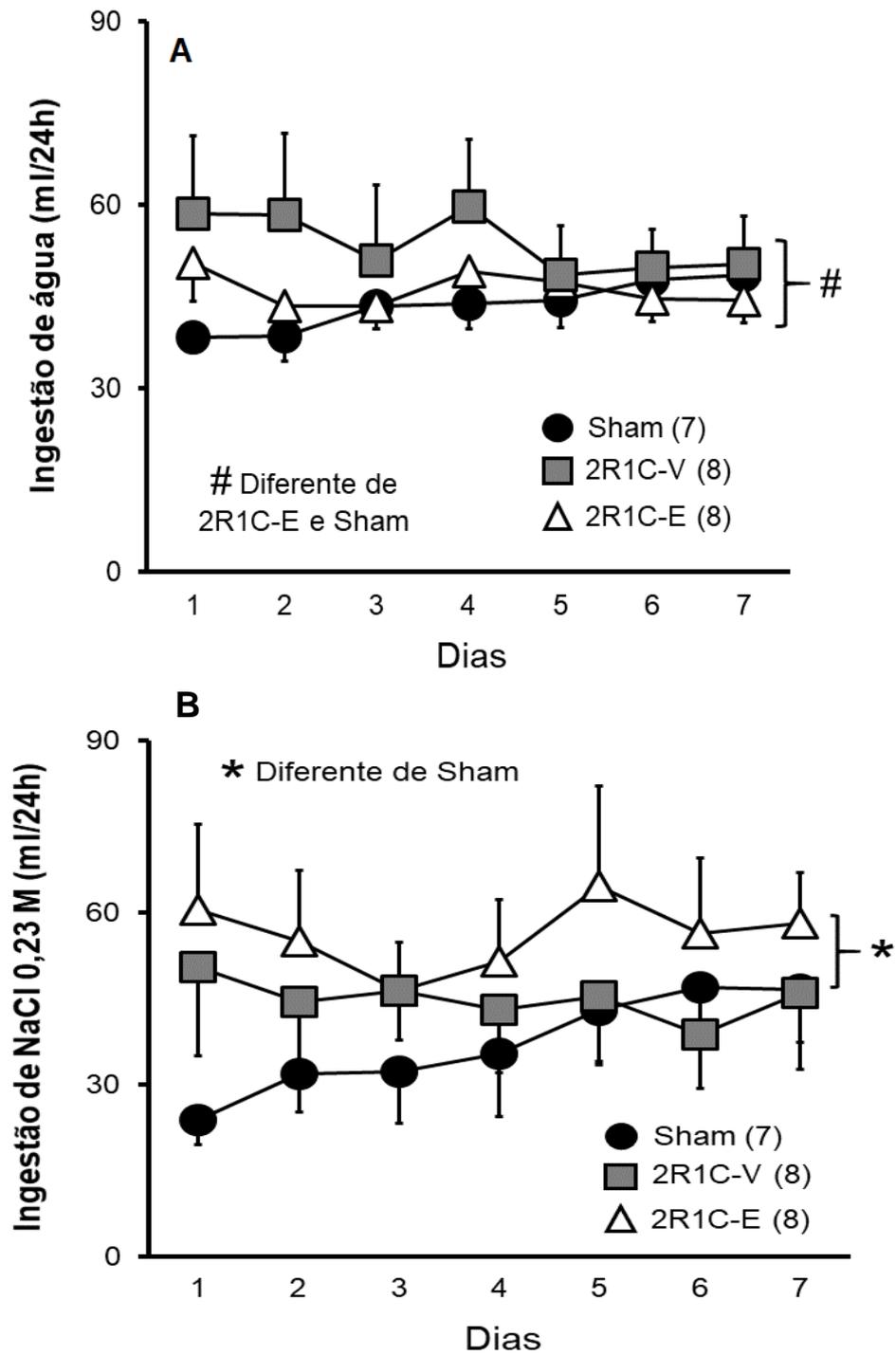


Figura 3 - Ingestão diária de (A) água e (B) NaCl 0,23 M por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

A avaliação da ingestão diária total de líquidos mostrou que os animais do grupo 2R1C veículo (dia 1: 109 ± 24 ml/24 h; dia 2: 103 ± 23 ml/24 h; dia 3: 93 ± 24 ml/24 h; dia 4: 103 ± 19 ml/24 h; dia 5: 94 ± 16 ml/24 h; dia 6: 88 ± 14 ml/24 h e dia 7: 96 ± 18 ml/24 h; n = 8) e 2R1C enalapril (dia 1: 111 ± 17 ml/24 h; dia 2: 98 ± 12 ml/24 h; dia 3: 90 ± 9 ml/24 h; dia 4: 101 ± 14 ml/24 h; dia 5: 112 ± 21 ml/24 h; dia 6: 101 ± 15 ml/24 h e dia 7: 102 ± 10 ml/24 h; n = 8) ingeriram significativamente maior volume em comparação ao grupo sham (dia 1: 62 ± 5 ml/24 h; dia 2: 70 ± 6 ml/24 h; dia 3: 76 ± 9 ml/24 h; dia 4: 79 ± 11 ml/24 h; dia 5: 87 ± 10 ml/24 h; dia 6: 95 ± 11 ml/24 h e dia 7: 95 ± 11 ml/24 h; n = 8) [F (2,140) = 3,79; P < 0,05]. Não houve diferença na ingestão total de fluidos entre ambos os grupos 2R1C (Figura 4).

Ratos 2R1C veículo mesmo com aumento da ingestão diária total de fluidos não apresentou aumento significativo na molaridade diária. Entretanto, a molaridade da solução final ingerida diariamente foi significativamente maior em ratos 2R1C enalapril (dia 1: $0,12 \pm 0,02$ M; dia 2: $0,12 \pm 0,01$ M; dia 3: $0,11 \pm 0,01$ M; dia 4: $0,11 \pm 0,01$ M; dia 5: $0,12 \pm 0,01$ M; dia 6: $0,12 \pm 0,01$ M e dia 7: $0,13 \pm 0,01$ M; n = 8) em comparação aos ratos 2R1C veículo (dia 1: $0,09 \pm 0,02$ M; dia 2: $0,09 \pm 0,02$ M; dia 3: $0,09 \pm 0,02$ M; dia 4: $0,09 \pm 0,02$ M; dia 5: $0,10 \pm 0,02$ M; dia 6: $0,09 \pm 0,01$ M e dia 7: $0,09 \pm 0,02$ M; n = 8) e, também, sham (dia 1: $0,08 \pm 0,01$ M; dia 2: $0,10 \pm 0,02$ M; dia 3: $0,09 \pm 0,02$ M; dia 4: $0,09 \pm 0,02$ M; dia 5: $0,11 \pm 0,02$ M; dia 6: $0,11 \pm 0,01$ M e dia 7: $0,11 \pm 0,01$ M; n = 8) (Figura 5).

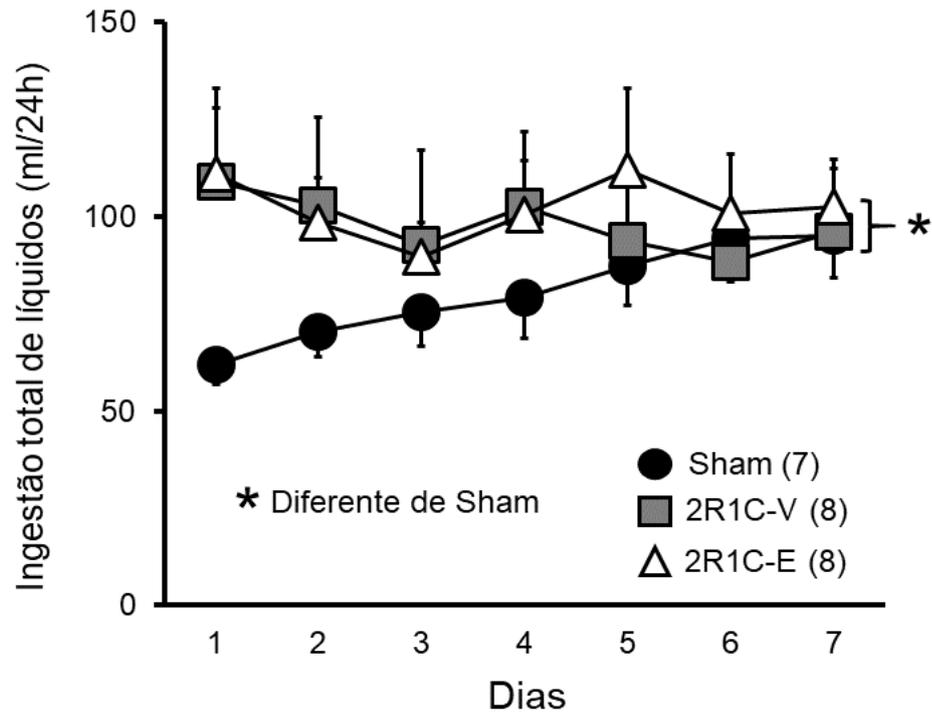


Figura 4 – Ingestão diária total de líquidos por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

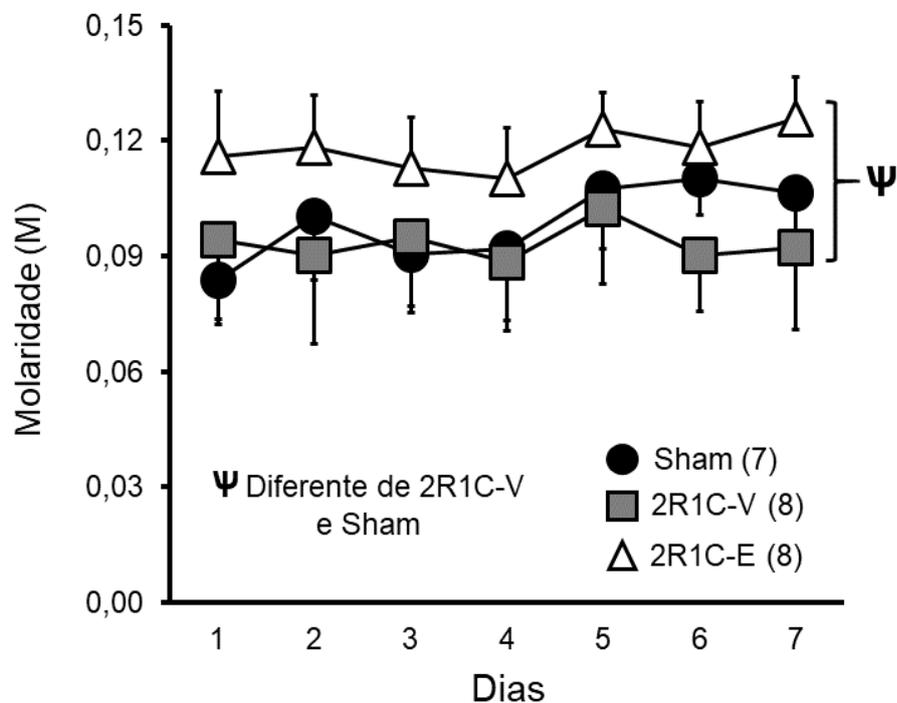


Figura 5 – Molaridade da solução final ingerida diariamente por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

4.2 Ingestão diária de ração por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril

O consumo de ração por sete dias consecutivos do grupo 2R1C veículo (dia 1: 33 ± 2 g/24 h; dia 2: 30 ± 3 g/24 h; dia 3: 31 ± 5 g/24 h; dia 4: 37 ± 5 g/24 h; dia 5: 34 ± 3 g/24 h; dia 6: 35 ± 4 g/24 h e dia 7: 38 ± 4 g/24 h; n = 8) não teve diferença significativa em comparação ao grupo sham (dia 1: 29 ± 2 g/24 h; dia 2: 35 ± 1 g/24 h; dia 3: 33 ± 1 g/24 h; dia 4: 31 ± 1 g/24 h; dia 5: 33 ± 1 g/24 h; dia 6: 32 ± 1 g/24 h e dia 7: 31 ± 1 g/24 h; n = 8). Em contrapartida, a ingestão diária de ração do grupo 2R1C enalapril foi significativamente menor em comparação com o grupo 2R1C veículo (dia 1: 26 ± 4 g/24 h; dia 2: 29 ± 3 g/24 h; dia 3: 31 ± 1 g/24 h; dia 4: 29 ± 4 g/24 h; dia 5: 32 ± 1 g/24 h; dia 6: 32 ± 1 g/24 h e dia 7: 32 ± 1 g/24 h; n = 8), mas não teve diferença em relação ao grupo sham (Figura 6).

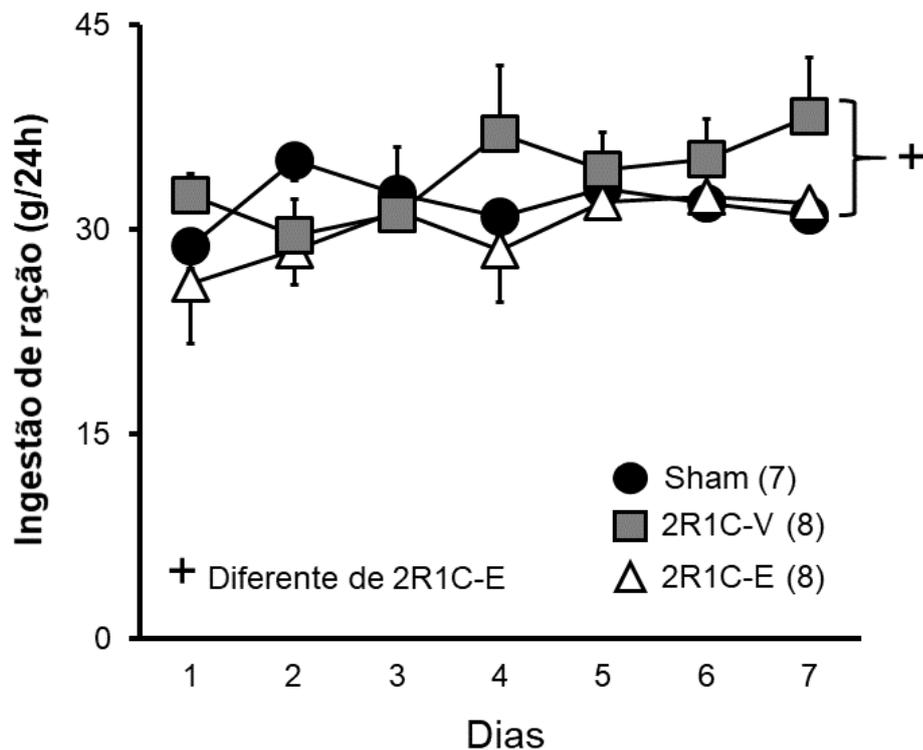


Figura 6 - Ingestão diária de ração por ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

4.3 Volume urinário diário de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril.

O volume urinário do grupo 2R1C veículo (dia 1: 63 ± 22 ml; dia 2: 62 ± 21 ml; dia 3: 58 ± 21 ml; dia 4: 59 ± 20 ml; dia 5: 55 ± 18 ml; dia 6: 48 ± 14 ml e dia 7: 55 ± 18 ml/24 h; n = 8) não teve diferença significativa em comparação ao grupo sham e 2R1C enalapril. Porém, nos ratos 2R1C enalapril (dia 1: 79 ± 20 ml; dia 2: 62 ± 12 ml; dia 3: 53 ± 8 ml; dia 4: 70 ± 18 ml; dia 5: 74 ± 21 ml; dia 6: 65 ± 16 ml e dia 7: 66 ± 10 ml/24 h; n = 8) o volume urinário aumentou significativamente em comparação ao grupo sham (dia 1: 30 ± 3 ml; dia 2: 34 ± 6 ml; dia 3: 38 ± 8 ml; dia 4: 44 ± 10 ml; dia 5: 48 ± 9 ml; dia 6: 55 ± 9 ml e dia 7: 56 ± 10 ml/24 h; n = 7) [F (2,140) = 3,71; P < 0,05]. (Figura 7).

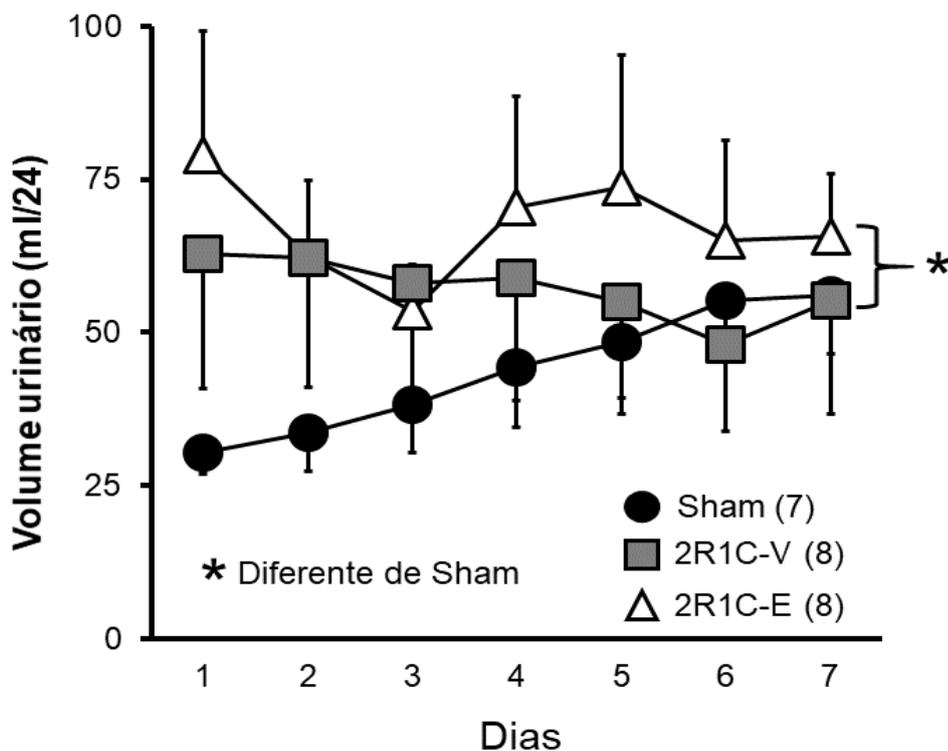


Figura 7 - Volume urinário diário em ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

4.4 Peso corporal de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril

Os grupos 2R1C veículo (dia 7: 321 ± 20 g; n = 8) e enalapril (dia 7: 323 ± 11 g; n = 8) apresentaram peso corporal significativamente menor em comparação ao grupo sham (dia 7: 362 ± 9 g; n = 7) [F (2,140) = 22,47; P < 0,05]. Não houve diferença significativa entre os grupos 2R1C veículo e enalapril (Figura 8).

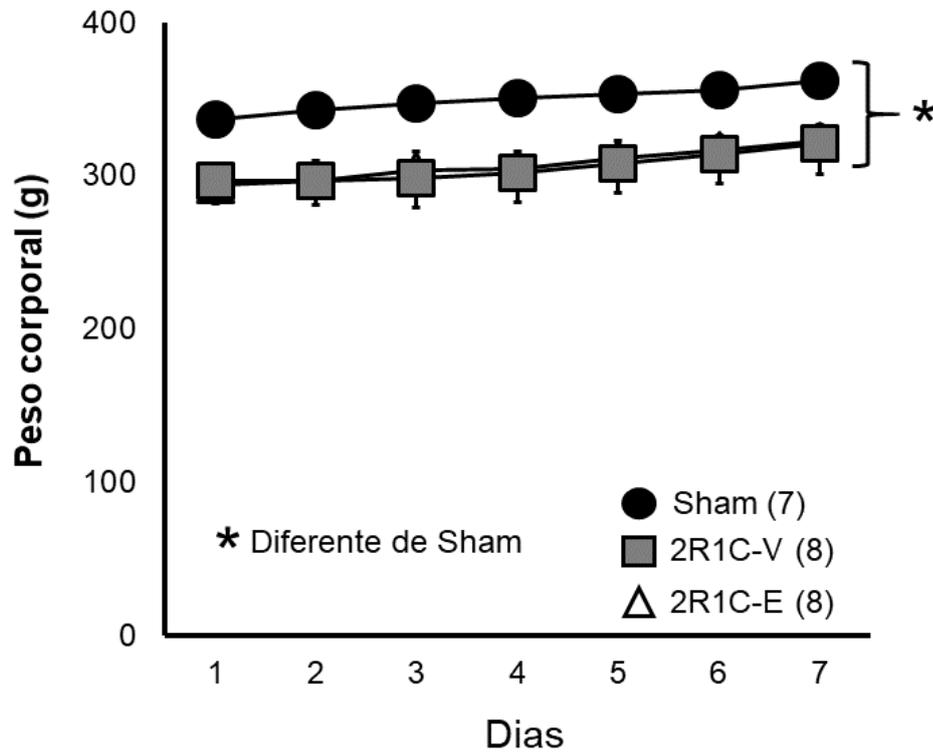


Figura 8 - Peso corporal de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

4.5 Pressão arterial sistólica (PAS) e variação da PAS (Δ PAS) de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril

A pressão arterial sistólica aumentou significativamente em todos os registros semanais nos grupos 2R1C veículo (semana 2: 151 ± 7 mmHg; semana 3: 181 ± 8 mmHg; semana 4: 205 ± 7 mmHg e semana 5: 198 ± 7 mmHg; $n = 8$) e enalapril (semana 2: 148 ± 6 mmHg; semana 3: 179 ± 7 mmHg; semana 4: 188 ± 7 mmHg e semana 5: 187 ± 8 mmHg; $n = 8$) em comparação ao grupo sham (semana 2: 125 ± 3 mmHg; semana 3: 129 ± 3 mmHg; semana 4: 132 ± 1 mmHg e semana 5: 140 ± 3 mmHg; $n = 7$) [$F(2,80) = 76,09$; $P < 0,05$], demonstrando êxito no desenvolvimento da hipertensão renovascular (Figura 9A).

Para avaliar os efeitos da inibição dos mecanismos angiotensinérgicos sobre a PAS, foi realizada a análise estatística da variação da PAS (Δ PAS) a partir da média das diferenças entre os registros da 3^a e 5^a semana após a cirurgia 2R1C de cada animal. Dessa forma, não houve diferença significativa entre os grupos sham (11 ± 2 mmHg; $n = 7$), 2R1C veículo (16 ± 5 mmHg; $n = 7$) e 2R1C enalapril (8 ± 9 mmHg; $n = 7$) [$F(2,20) = 0,50$; $P > 0,05$] (Figura 9B).

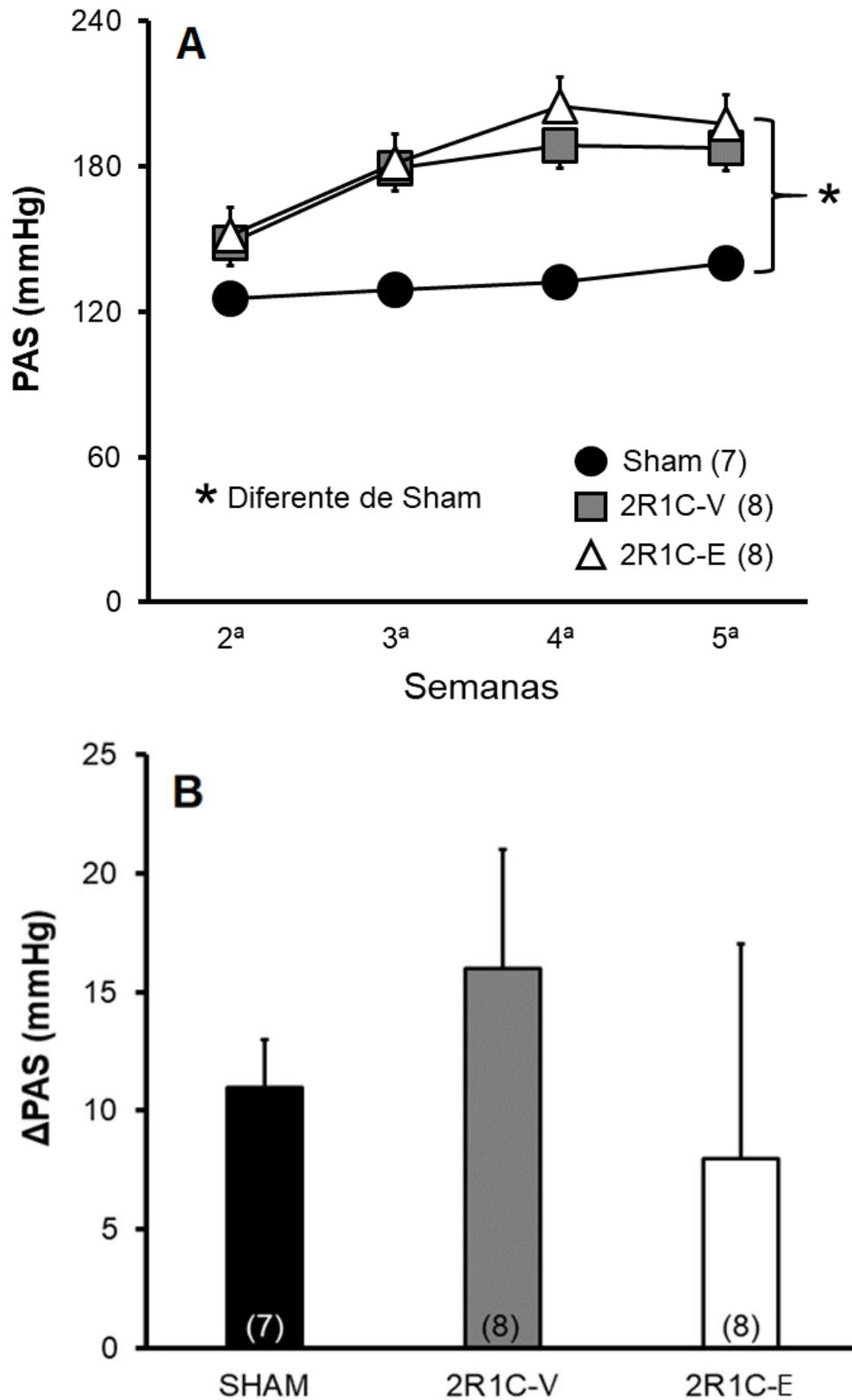


Figura 9 – (A) Pressão arterial sistólica - PAS e (B) variação da PAS - Δ PAS em ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

4.6 Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) de ratos 2R1C tratados com veículo ou enalapril

Não houve diferença significativa na PAM entre os grupos 2R1C veículo ($146,4 \pm 1,58$ mmHg; $n = 4$) e 2R1C enalapril ($140,9 \pm 8,9$ mmHg; $n = 7$) [$F(1,9) = 0,20$; $P < 0,05$] (Figura 10A). Também não houve diferença significativa na FC entre os grupos 2R1C veículo (398 ± 19 bpm; $n = 4$) e enalapril (390 ± 22 mmHg; $n = 7$) [$F(1,9) = 0,06$; $P < 0,05$] (Figura 10B).

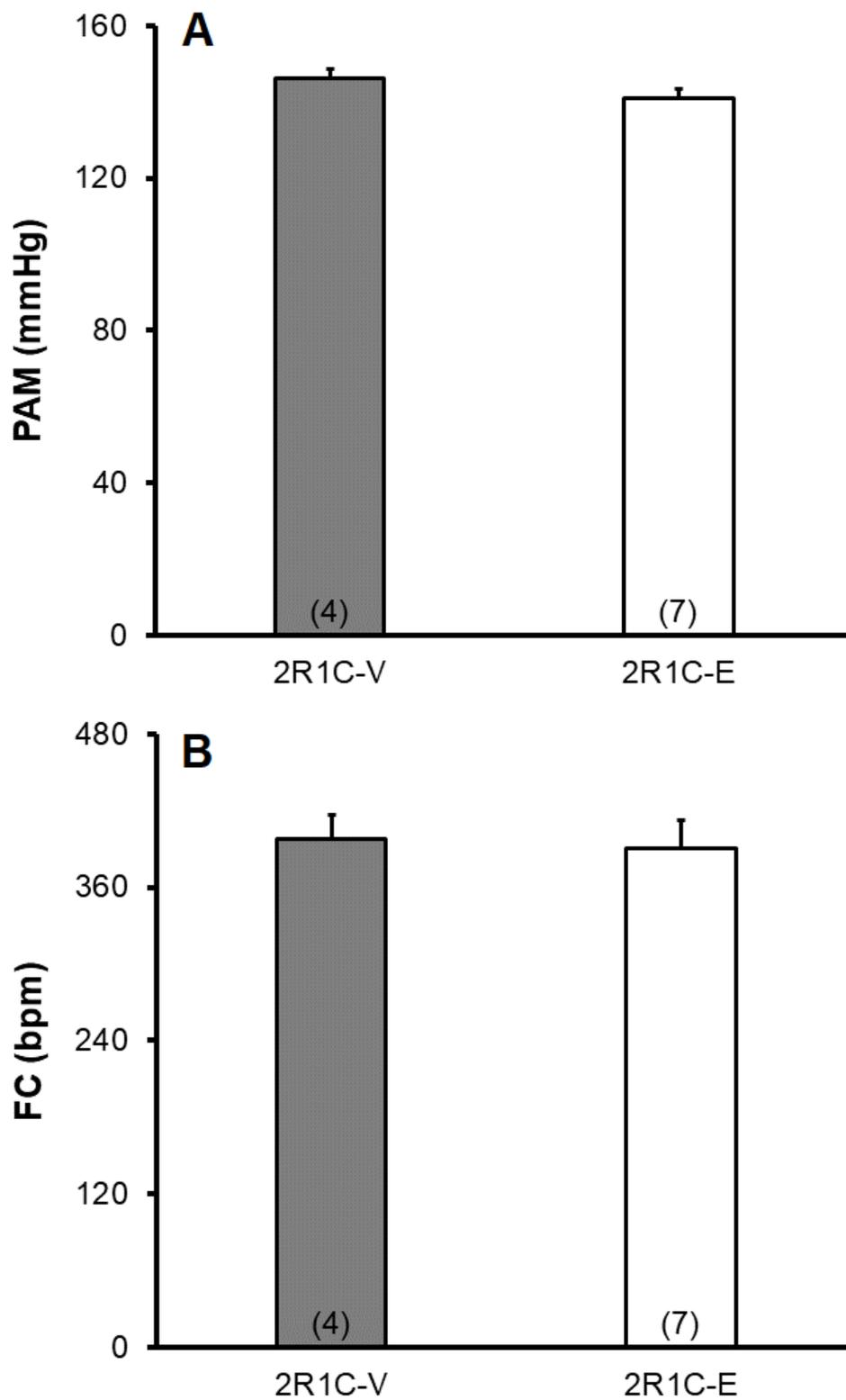


Figura 10 – (A) Pressão arterial média - PAM e (B) frequência cardíaca - FC em ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

4.7 Razão peso rim esquerdo/rim direito em ratos sham e 2R1C tratados com veículo ou enalapril

Para avaliar a atrofia do rim com perfusão reduzida pela clipagem da artéria renal, foi realizada a relação entre o peso dos rins esquerdo (RE) e direito (RD). Os grupos 2R1C veículo ($0,77 \pm 0,06$ g; $n = 8$) e 2R1C enalapril ($0,60 \pm 0,06$ g; $n = 8$) tiveram uma razão RE/RD significativamente reduzida em comparação ao grupo sham ($0,97 \pm 0,02$ g; $n = 7$) [F (2,20) = 14,36; $P < 0,05$]. Entre os grupos 2R1C, os animais tratados com enalapril apresentaram uma razão RE/RD significativamente menor em relação aos animais tratados com veículo (Figura 11).

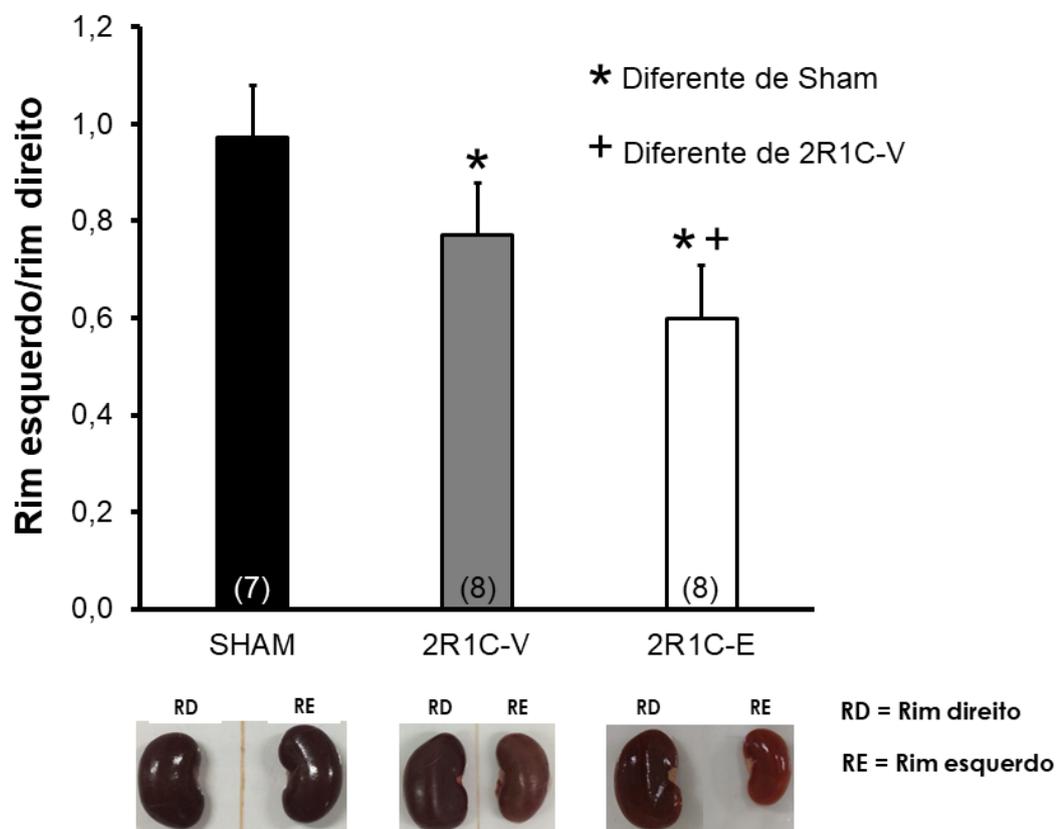


Figura 11 – Razão peso rim esquerdo/rim direito de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média ± EPM; número de animais está representado entre parênteses.

4.8 Peso do coração e volume cardíaco de ratos sham e 2R1C tratados com veículo ou enalapril

A análise da hipertrofia cardíaca a partir da pesagem do coração demonstrou que o peso do coração dos animais dos grupos 2R1C veículo ($1,44 \pm 0,05$ g; $n = 8$) e 2R1C enalapril ($1,46 \pm 0,06$ g; $n = 8$) estava significativamente aumentada em relação aos animais do grupo sham ($1,15 \pm 0,03$ g; $n = 7$) [$F(2,20) = 12,81$; $P < 0,05$] (Figura 15A e figura 16). Não houve diferença significativa entre os dois grupos de ratos hipertensos 2R1C (Figura 12A).

Em relação ao volume cardíaco, não houve diferença significativa entre os grupos 2R1C veículo ($1,63 \pm 0,18$ g; $n = 8$) e 2R1C enalapril ($2,13 \pm 0,13$ g; $n = 8$) em comparação ao grupo sham ($1,71 \pm 0,18$ g; $n = 7$) [$F(2,20) = 2,69$; $P < 0,05$]. Ademais, não houve diferença entre os dois grupos de animais hipertensos 2R1C (Figura 12B).

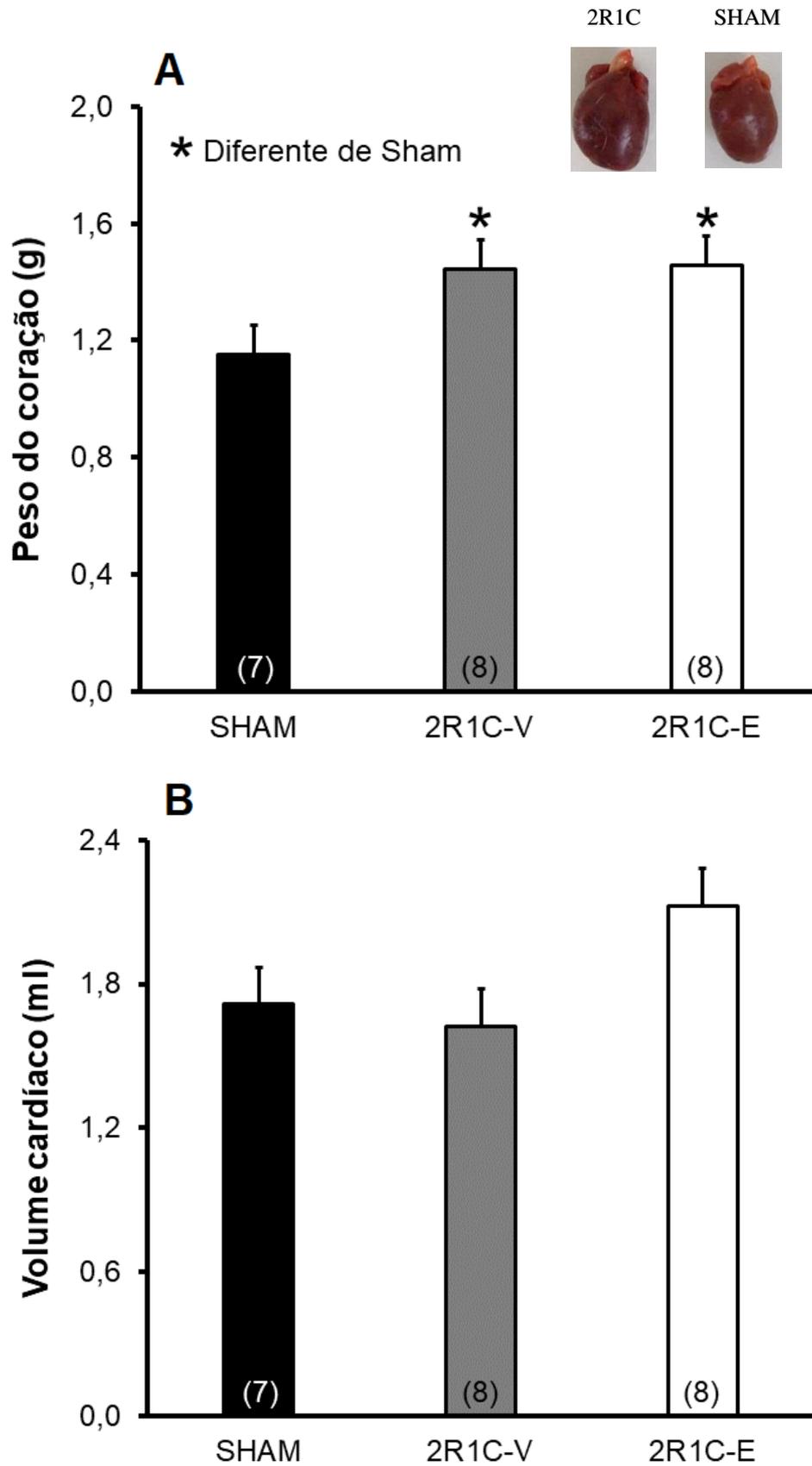


Figura 12 – (A) Peso e (B) volume cardíaco de ratos 2R1C e sham tratados com veículo ou enalapril (3,0 mg/kg/dia). Valores são representados como média \pm EPM; número de animais está representado entre parênteses.

5 DISCUSSÃO

Semelhante a estudos anteriores, os presentes resultados mostram que o modelo de hipertensão renovascular de Goldblatt, a partir da obstrução parcial da artéria renal com o rim contralateral intacto, aumenta a PAS e a PAM (Lucera et al., 2021; Roncari et al., 2018; Barbosa 2017; Lincevicius et al., 2015; Blanch et al., 2014; Oliveira-Sales et al., 2009; Martinez-Maldonado, 1991; Goldblatt, 1958). Como esperado, os animais hipertensos 2R1C também apresentam aumento da ingestão diária de água e hipertrofia cardíaca (Mohring J et al., 1975; Schomig A et al., 1980; Roncari CF et al., 2018; Natalin HM et al., 2016; Restini CB et al., 2022; Nekooeian AA et al., 2021). Ainda, o presente estudo mostra que o tratamento dos animais 2R1C com enalapril (3 mg/kg) aumentou a ingestão diária de NaCl 0,23 M e o volume urinário, porém não alterou a PAS ou PAM.

Estudos prévios demonstraram que ratos 2R1C tem uma alta atividade do SRA, levando a aumento na PA (Sen et al., 1969; Leenen et al., de 1973; Leenen et al., 1974; Leenen et al., 1975; Ploth., 1983). O tratamento oral com captopril reduz a PA durante a fase inicial e até mesmo semanas após a cirurgia 2R1C (Laffan et al., 1978; Rubin et al., 1978; Antonaccio et al., 1980). Os resultados do presente estudo mostraram que houve um aumento significativo da PAS nos grupos hipertensos 2R1C. Entretanto, não foi observada diferença significativa na PAS, PAM e FC após o tratamento com enalapril (3 mg/kg). É possível que a dose testada de enalapril não tenha sido eficaz em impedir o aumento da PA no modelo de hipertensão renovascular 2R1C e futuros experimentos deverão testar doses maiores. Essa possibilidade é reforçada pela análise da variação da PAS nos animais tratados com enalapril. Como descrito anteriormente, não houve alteração significativa da variação da PAS após os diferentes tratamentos; porém, observou-se uma grande variabilidade do parâmetro e doses maiores de enalapril poderiam ser efetivas em reduzir a variação da PAS.

Referente à razão entre peso dos rins esquerdo e direito (RE/RD) e a hipertensão, estudos demonstraram que 100% dos ratos com razão RE/RD de 0,5 a 0,8 são hipertensos (Smith et al., 1986). Quando a razão está entre 0,4 a 0,49 ou 0,8 a 0,89, 75% dos animais estão hipertensos; já para valores abaixo de 0,4 e acima 0,9, apenas 50% dos animais estão hipertensos (Smith et al., 1986). Em vista disso, no presente estudo foram utilizados ratos 2R1C com relação renal entre 0,4 e 0,89 correlacionada com os valores da PAS e PAM. Como esperado, os ratos hipertensos apresentaram uma razão RE/RD menor que os ratos normotensos devido à atrofia do rim com estenose parcial. No presente estudo, também foi demonstrado que a razão RE/RD de ratos 2R1C tratados com enalapril foi significativamente menor em relação aos valores obtidos em animais hipertensos tratados com veículo. Assim, os resultados mostram

que o tratamento com enalapril na dose de 3 mg/kg/dia não foi capaz de reverter a alteração estrutural do rim estenótico. Futuros experimentos com doses maiores do inibidor poderão investigar melhor os mecanismos envolvidos nessa resposta.

Similar aos efeitos dos protocolos de desidratação extracelular que utilizam inibidores da enzima conversora de angiotensina, como o captopril, para ativar mecanismos centrais facilitatórios para a ingestão de água e NaCl (Thunhorst RL et al., 1994), os resultados atuais mostraram que o tratamento diário com enalapril (3 mg/kg) aumenta a ingestão diária de NaCl 0,23 M em ratos com hipertensão renovascular. É possível que a inibição da conversão de ANG I em II pelo enalapril, na dose utilizada no presente estudo, tenha acontecido apenas em tecidos periféricos e, conseqüentemente, aumentado os níveis sanguíneos de ANG I que, por sua vez, foi convertida em ANG II no encéfalo, induzindo a maior resposta natriorexigênica observada no presente experimento. Ainda, é possível que a maior ingestão de NaCl 0,23 M tenha levado ao aumento significativo do volume urinário nos animais 2R1C tratados com enalapril.

Estudos anteriores mostraram que ratos Holtzman com hipertensão 2R1C ingerem diariamente maior volume de NaCl hipertônico da 2^a à 5^a semana após a cirurgia de indução à hipertensão, uma resposta provavelmente estimulada pelo aumento da atividade do SRA (Roncari et al., 2018). No entanto, no presente experimento, a ingestão diária de NaCl 0,23 M em ratos Wistar 2R1C tratados com veículo não foi diferente da ingestão por animais sham normotensos na 4^a semana após a cirurgia renal para indução da hipertensão. Não é possível excluir outras possibilidades, mas estudos recentes do nosso laboratório sugerem que os animais da linhagem Wistar da colônia do Biotério Central da UFC são menos ávidos por soluções hipertônicas de NaCl. Por outro lado, semelhante ao aumento da ingestão de água observado em ratos Holtzman hipertensos na 3^a a 6^a semana após a cirurgia 2R1C (Roncari et al., 2018), os ratos 2R1C tratados com veículo ingeriram maior volume de água em comparação aos grupos sham e 2R1C tratado com enalapril. Esse aumento pode ser devido à alta atividade angiotensinérgica, haja vista que na 4^a semana após a cirurgia 2R1C o rim com perfusão reduzida secreta maiores quantidades de renina e, conseqüentemente, há uma maior produção de ANG II (Roncari CF et al., 2018; Oliveira-Sales., 2014; Martinez-Maldonado., 1991).

A análise da molaridade da solução final, ou seja, a mistura de água e NaCl 0,23 M ingerida diariamente pelos animais, mostrou que o grupo 2R1C enalapril ingeriu diariamente uma solução com maior osmolaridade em relação aos grupos 2R1C veículo e sham. Assim, os resultados mostram que, embora não tenha sido capaz de alterar a PAS ou PAM nos animais 2R1C, a dose utilizada de enalapril (3 mg/kg) foi suficiente para aumentar o consumo diário de sódio. Dessa forma, em animais hipertensos 2R1C, os mecanismos angiotensinérgicos centrais

relacionados ao controle de ingestão de sódio parecem ser mais sensíveis do que aqueles relacionados ao controle da PA. Esse descompasso entre o comportamento ingestivo e a regulação da pressão arterial poderia comprometer a qualidade de vida e o tratamento de um paciente hipertenso que recebe constantemente orientações médicas para reduzir a ingestão de NaCl, mas apresenta maior avidez por NaCl por alteração dos mecanismos centrais de controle do comportamento ingestivo. É possível ainda especular que a maior ingestão de NaCl 0,23 M possa ter sido responsável por impedir que o tratamento com enalapril reduzisse a PA. Portanto, a pouca eficácia do tratamento farmacológico de um paciente hipertenso poderia estar relacionada ao comportamento ingestivo do indivíduo.

A ingestão de ração por ratos 2R1C tratados com veículo também foi maior que o tratamento com enalapril, provavelmente a atividade sistêmica da ANG II influenciou no apetite, fazendo os animais buscarem mais ração. No entanto, alguns interferentes podem, também, ter influenciado nessa avaliação, como o esfarelamento da ração pelos animais. Além disso, é importante destacar que, em ratos, o consumo de ração eleva a osmolaridade plasmática em até 2,5% (Starbuck et al., 2001), possivelmente o aumento da ingestão de ração ativou mecanismos homeostáticos para o controle hidromineral do animal, como os sinais osmóticos a partir de osmorreceptores, justificando, em conjunto com a atividade angiotensinérgica, o aumento da ingestão de água. Mesmo com as hipóteses formuladas a partir dos resultados obtidos, não é possível determinar os mecanismos responsáveis por esse aumento do consumo de ração e estudos futuros poderão avaliar se esse padrão de maior ingestão irá se repetir ou se foi observado, de forma pontual, apenas neste grupo.

De acordo com estudos recentes, o modelo de hipertensão renovascular também se caracteriza por hipertrofia cardíaca, redução do número de miócitos e células de Purkinje, fibrose e espessamento aórtico (Natalin HM et al., 2016; Restini CB et al., 2022; Nekoeian AA et al., 2021). Ratos hipertensos 2R1C tem maior volume do miocárdio, endocárdio e de grandes vasos miocárdicos, sendo que o tratamento com captopril ou losartan (via oral por 4 semanas) reduz a PA e os parâmetros relacionados a hipertrofia cardíaca (Nekoeian AA et al., 2021). Desse modo, a hipertrofia cardíaca observada nesse modelo de hipertensão renovascular 2R1C pode ser uma resposta compensatória ao aumento da PA e da pós-carga (Nekoeian AA et al., 2021). No presente estudo, também observamos aumento significativo do peso do coração de animais 2R1C em comparação aos animais sham normotensos e o tratamento com enalapril não foi capaz de reduzir ou prevenir a hipertrofia cardíaca, possivelmente por não ter sido eficaz em reduzir a PA e, conseqüentemente, a pós-carga.

Além disso, estudos anteriores mostram que a hipertensão renovascular 2R1C leva a danos oxidativos cardíacos que são responsáveis pela hipertrofia e fibrose do ventrículo esquerdo, diminuição dos cardiomiócitos e consequente remodelamento cardíaco (Restini et al., 2022; Ceron CS et al., 2013; Oliveira JC et al., 2012). Os presentes resultados mostram que houve um aumento significativo da PAS e PAM e do peso cardíaco de animais 2R1C; no entanto, o volume cardíaco não apresentou nenhuma diferença significativa, indicando uma provável hipertrofia cardíaca excêntrica sem alteração no volume das câmaras cardíacas. Nesse contexto, também é sugerido que mais métodos de avaliação da estereologia do coração de ratos hipertensos possam ser realizados concomitantemente ao tratamento com outras doses maiores de enalapril para uma maior compreensão dos efeitos da hiperatividade do SRA e do aumento da pressão arterial sobre a hipertrofia do coração e o volume cardíaco.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que a estenose parcial de uma das artérias renais de ratos promoveu o aumento da PAS e da PAM. Além disso, ratos 2R1C veículo aumentaram a ingestão de água e o consumo de ração, provavelmente mediados pela hiperatividade do SRA. Ainda, ratos 2R1C veículo e 2R1C enalapril apresentaram aumento no peso do coração em comparação aos ratos normotensos, mas sem alteração no volume cardíaco. Ademais, o bloqueio da enzima conversora de angiotensina com enalapril na dose de 3 mg/kg não foi capaz de reduzir as alterações cardiovasculares observadas nos ratos hipertensos 2R1C e induziu um aumento significativo da ingestão de NaCl 0,23 M e volume urinário com redução da ingestão de água.

REFERÊNCIAS

- AIRES, Margarida de Mello. *Fisiologia*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019, 1376 p.
- AKBAR NEKOOEIAN, A. et al. Effects of Captopril and Losartan on Cardiac Stereology in Rats with Renovascular Hypertension. **Iranian journal of medical sciences**, v. 46, n. 3, p. 169–179, 2021.
- ANDERSON, J. W.; WASHBURN, D. L.; FERGUSON, A. V. Intrinsic osmosensitivity of subfornical organ neurons. **Neuroscience**, v. 100, n. 3, p. 539–547, 2000.
- ANDRADE C. A. F.; BARBOSA S. P.; DE LUCA J. L. A.; MENANI J. V. Activation of α_2 -adrenergic receptors into the lateral parabrachial nucleus enhances NaCl intake in rats. **Neuroscience**, v. 129, n. 1, p. 25–34, 2004.
- ANDRADE C. A. F.; DE LUCA JR. L. A.; COLOMBARI D. S. A.; MENANI J. V. α_2 -adrenergic activation in the lateral parabrachial nucleus induces NaCl intake under conditions of systemic hyperosmolarity. **Neuroscience**, v. 142, n. 1, p. 21–28, 2006.
- ANTONACCIO, M. J. et al. Sympathoadrenal and renin-angiotensin systems in the development of two-kidney, one clip renal hypertension in rats. **Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)**, v. 2, n. 6, p. 723–781, 1980.
- BARBOSA, R. M. et al. Increased Expression of Macrophage Migration Inhibitory Factor in the Nucleus of the Solitary Tract Attenuates Renovascular Hypertension in Rats. **American journal of hypertension**, v. 30, n. 4, p. 435–443, 2017.
- BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516–658, 2021.
- BLANCH, G. T. et al. Increased expression of angiotensin II type 2 receptors in the solitary-vagal complex blunts renovascular hypertension. **Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)**, v. 64, n. 4, p. 777–783, 2014.
- BOURQUE, C. W.; OLIET, S. H.; RICHARD, D. Osmoreceptors, osmoreception, and osmoregulation. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 15, n. 3, p. 231–274, 1994.
- CALLERA, J. C. et al. GABAA receptor activation in the lateral parabrachial nucleus induces water and hypertonic NaCl intake. **Neuroscience**, v. 134, p. 725–735, 2005.
- CASTRO E SILVA, D.; FREGONEZE, E.; JOHNSON, J. B. Corticotropin-releasing hormone in the lateral parabrachial nucleus inhibits sodium appetite in rats. **American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 290, p. R1136–1141, 2006.
- CERON, C. S. et al. Nebivolol attenuates prooxidant and profibrotic mechanisms involving TGF- β and MMPs, and decreases vascular remodeling in renovascular hypertension. **Free radical biology & medicine**, v. 65, p. 47–56, 2013.
- 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.

DE GOBBI, J. et al. Interaction of serotonin and cholecystokinin in the lateral parabrachial nucleus to control sodium intake. **American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 280, p. R1301-1307, 2001.

DE GOBBI, J. I. F. et al. Non-NMDA receptors in the lateral parabrachial nucleus modulate sodium appetite. **Brain research**, v. 1301, p. 44–51, 2009.

DE GOBBI, J. I.; DE LUCA, L. A., Jr; MENANI, J. V. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on DOCA-induced sodium intake. **Brain research**, v. 880, n. 1–2, p. 131–138, 2000.

DE LUCA, L. A., Jr et al. Water deprivation-induced sodium appetite: humoral and cardiovascular mediators and immediate early genes. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 282, n. 2, p. R552-559, 2002.

DE LUCA, L. A., Jr; BARBOSA, S. P.; MENANI, J. V. Brain serotonin blockade and paradoxical salt intake in rats. **Neuroscience**, v. 121, n. 4, p. 1055–1061, 2003.

EDWARDS, G. L.; JOHNSON, A. K. Enhanced drinking after excitotoxic lesions of the parabrachial nucleus in the rat. **The American journal of physiology**, v. 261, n. 4 Pt 2, p. R1039-1044, 1991.

FITTS, D. A.; THUNHORST, R. L.; SIMPSON, J. B. Modulation of salt appetite by lateral ventricular infusions of angiotensin II and carbachol during sodium depletion. **Brain research**, v. 346, n. 2, p. 273–280, 1985.

FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst, and Sodium Appetite. **Physiological reviews**, v. 78, n. 3, p. 583–686, 1998.

GOLDBLATT, H. et al. Studies on experimental hypertension, I: the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. **J Exp Med**, v. 59, p. 347–379, 1934.

GOLDBLATT, H. Experimental hypertension induced by renal ischemia: Harvey lecture, may 19, 1938. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, v. 14, n. 9, p. 523–553, 1938.

GOLDBLATT, H. Experimental renal hypertension; mechanism of production and maintenance: Mechanism of production and maintenance. **Circulation**, v. 17, n. 4, Part 2, p. 642–647, 1958.

GOLDBLATT, H. Studies on experimental hypertension : Vii. The production of the malignant phase of hypertension. **The journal of experimental medicine**, v. 67, n. 5, p. 809–826, 1938b.

GRIENDLING, K. K. et al. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. **Circulation research**, v. 74, n. 6, p. 1141–1148, 1994.

HE, F. J.; MACGREGOR, G. A. A comprehensive review on salt and health and current experience of worldwide salt reduction programmes. **Journal of human hypertension**, v. 23, n. 6, p. 363–384, 2009.

HOFFMAN, W. E. et al. Antidiuretic hormone release and the pressor response to central angiotensin II and cholinergic stimulation. **Neuropharmacology**, v. 16, n. 7–8, p. 463–472, 1977.

JOHNSON, A. K. The periventricular anteroventral third ventricle (AV3V): its relationship with the subfornical organ and neural systems involved in maintaining body fluid homeostasis. **Brain research bulletin**, v. 15, n. 6, p. 595–601, 1985.

JOHNSON, A. K.; GROSS, P. M. Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 7, n. 8, p. 678–686, 1993.

JOHNSON, A. K.; HOFFMAN, W. E.; BUGGY, J. Attenuated pressor responses to intracranially injected stimuli and altered antidiuretic activity following preoptic-hypothalamic periventricular ablation. **Brain research**, v. 157, n. 1, p. 161–166, 1978.

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.

JOHREN, O.; INAGAMI, T.; SAAVEDRA, J. M. AT1A, AT1B, and AT2 angiotensin II receptor subtype gene expression in rat brain. **Neuroreport**, v. 6, n. 18, p. 2549–2552, 1995.

KARIYA, K. et al. Increased monoamine turnover in the subfornical organ area following body fluid depletion. **Neuroreport**, v. 3, n. 10, p. 901–904, 1992.

LAFFAN, R. J. et al. Antihypertensive activity in rats for SQ 14,225, an orally active inhibitor of angiotensin I-converting enzyme. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 204, n. 2, p. 281–288, 1978.

LEENEN, F. H. et al. Changes in the renin-angiotensin-aldosterone system and in sodium and potassium balance during development of renal hypertension in rats. **Clinical science and molecular medicine**, v. 48, n. 1, p. 17–26, 1975.

LEENEN, F. H. H.; MCDONALD, R. H., Jr. Effect of isoproterenol on blood pressure, plasma renin activity, and water intake in rats. **European journal of pharmacology**, v. 26, n. 2, p. 129–135, 1974.

LEENEN, F. H.; DE JONG, W.; DE WIED, D. Renal venous and peripheral plasma renin activity in renal hypertension in the rat. **The American journal of physiology**, v. 225, n. 6, p. 1513–1518, 1973.

LENKEI, Z. et al. Expression of angiotensin type-1 (AT1) and type-2 (AT2) receptor mRNAs in the adult rat brain: a functional neuroanatomical review. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 18, n. 4, p. 383–439, 1997.

LENKEI, Z.; CORVOL, P.; LLORENS-CORTES, C. The angiotensin receptor subtype AT1A predominates in rat forebrain areas involved in blood pressure, body fluid homeostasis and neuroendocrine control. **Brain research. Molecular brain research**, v. 30, n. 1, p. 53–60, 1995.

LINCEVICIUS, G. S. et al. Aldosterone contributes to sympathoexcitation in renovascular hypertension. **American journal of hypertension**, v. 28, n. 9, p. 1083–1090, 2015.

LIND, R. W. Bi-directional, chemically specified neural connections between the subfornical organ and the midbrain raphe system. **Brain research**, v. 384, n. 2, p. 250-261, 1986.

LUCERA, G. M. et al. ANG II and aldosterone acting centrally participate in the enhanced sodium intake in water-deprived renovascular hypertensive rats. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, p. 679985, 2021.

MAHON, J. M. et al. The association of thirst, sodium appetite and vasopressin release with c-fos expression in the forebrain of the rat after intracerebroventricular injection of angiotensin II, angiotensin-(1-7) or carbachol. **Neuroscience**, v. 69, n. 1, p. 199–208, 1995.

MALACHIAS, M. et al. 7th Brazilian Guideline of Arterial Hypertension: Chapter 1 - Concept, Epidemiology and Primary Prevention. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 107, p. 1–6, 2016.

MALTA, D. C. et al. Trends in smoking prevalence in all Brazilian capitals between 2006 and 2017. **Jornal brasileiro de pneumologia: publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia**, v. 45, n. 5, p. e20180384, 2019.

MANGIAPANE, M. L.; SIMPSON, J. B. Subfornical organ: forebrain site of pressor and dipsogenic action of angiotensin II. **The American journal of physiology**, v. 239, n. 5, p. R382-389, 1980.

MARTINEZ-MALDONADO, M. Pathophysiology of renovascular hypertension. **Hypertension**, v. 17, n. 5, p. 707–719, 1991.

MCKINLEY, M. J. et al. The sensory circumventricular organs of the mammalian brain. **Advances in anatomy, embryology, and cell biology**, v. 172, p. III–XII, 1–122, back cover, 2003.

MENANI, J. V. et al. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus and cholinergic-induced sodium appetite. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 282, n. 3, p. R837-41, 2002.

MENANI, J. V.; BELTZ, T. G.; JOHNSON, A. K. Effects of lidocaine injections into the lateral parabrachial nucleus on dipsogenic and pressor responses to central angiotensin II in rats. **Brain research**, v. 695, n. 2, p. 250–252, 1995.

MENANI, J. V.; DE LUCA, L. A., Jr; JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms and salt appetite induced by sodium depletion. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 274, n. 2, p. R555–R560, 1998.

MENANI, J. V.; JOHNSON, A. K. Cholecystokinin actions in the parabrachial nucleus: effects on thirst and salt appetite. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 275, n. 5, p. R1431–R1437, 1998.

MENANI, J. V.; JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial serotonergic mechanisms: angiotensin-induced pressor and drinking responses. **The American journal of physiology**, v. 269, n. 5 Pt 2, p. R1044-1049, 1995.

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. R162-168, 1996.

MENEZES, M. F. et al. Purinergic mechanisms of lateral parabrachial nucleus facilitate sodium depletion-induced NaCl intake. **Brain research**, v. 1372, p. 49–58, 2011.

MOE, K. E.; WEISS, M. L.; EPSTEIN, A. N. Sodium appetite during captopril blockade of endogenous angiotensin II formation. **The American journal of physiology**, v. 247, n. 2 Pt 2, p. R356-365, 1984.

MÖHRING, J. et al. Salt and water balance and renin activity in renal hypertension of rats. **The American journal of physiology**, v. 228, n. 6, p. 1847–1855, 1975.

NATALIN, H. M. et al. Resveratrol improves vasoprotective effects of captopril on aortic remodeling and fibrosis triggered by renovascular hypertension. **Cardiovascular pathology: the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology**, v. 25, n. 2, p. 116–119, 2016.

NYSTROM, H. C. et al. Neurohormonal influences on maintenance and reversal of two-kidney one-clip renal hypertension. **Acta Physiol Scand**, v. 175, p. 245–251, 2002.

OHMAN, L. E.; JOHNSON, A. K. Brain stem mechanisms and the inhibition of angiotensin-induced drinking. **The American journal of physiology**, v. 256, n. 1 Pt 2, p. R264-269, 1989.

OHMAN, L. E.; JOHNSON, A. K. Lesions in lateral parabrachial nucleus enhance drinking to angiotensin II and isoproterenol. **The American journal of physiology**, v. 251, n. 3 Pt 2, p. R504-509, 1986.

OLIVEIRA, D. et al. Baclofen into the lateral parabrachial nucleus induces hypertonic sodium chloride and sucrose intake in rats. **Neuroscience**, v. 183, p. 160–170, 2011.

OLIVEIRA, D.; LUCA, D.; MENANI, J. V. Opioid activation in the lateral parabrachial nucleus induces hypertonic sodium intake. **Neuroscience**, v. 155, p. 350–358, 2008.

OLIVEIRA, J. C. et al. Antioxidant protective effects of the resveratrol on the cardiac and vascular tissues from renal hypertensive rats. **Open journal of medicinal chemistry**, v. 02, n. 03, p. 61–71, 2012.

OLIVEIRA-SALES, E. B. et al. Oxidative stress in the sympathetic premotor neurons contributes to sympathetic activation in renovascular hypertension. **American journal of hypertension**, v. 22, n. 5, p. 484–492, 2009.

OLIVEIRA-SALES, E. B. et al. Revealing the role of the autonomic nervous system in the development and maintenance of Goldblatt hypertension in rats. **Autonomic neuroscience: basic & clinical**, v. 183, p. 23–29, 2014.

- PAVAN, C. G. et al. Activation of μ opioid receptors in the LPBN facilitates sodium intake in rats. **Behavioural brain research**, v. 288, p. 20–25, 2015.
- PEREIRA, D. T. B. et al. Isotonic NaCl intake by cell-dehydrated rats. **Physiology & behavior**, v. 76, n. 4–5, p. 501–505, 2002.
- PHILLIPS, M. I.; SUMNERS, C. Angiotensin II in central nervous system physiology. **Regulatory peptides**, v. 78, n. 1–3, p. 1–11, 1998.
- PLOTH, D. W. Angiotensin-dependent renal mechanisms in two-kidney, one-clip renal vascular hypertension. **The American journal of physiology**, v. 245, n. 2, p. F131-141, 1983.
- RAJAGOPALAN, S. et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. **The journal of clinical investigation**, v. 97, n. 8, p. 1916–1923, 1996.
- RESTINI, C. B. A. et al. Resveratrol supplants captopril's protective effect on cardiac remodeling in a hypertension model elicited by renal artery stenosis. **The Yale journal of biology and medicine**, v. 95, n. 1, p. 57–69, 2022.
- RONCARI, C. F. et al. Angiotensinergic and cholinergic receptors of the subfornical organ mediate sodium intake induced by GABAergic activation of the lateral parabrachial nucleus. **Neuroscience**, v. 262, p. 1–8, 2014.
- RONCARI, C. F. et al. Enhanced angiotensin II induced sodium appetite in renovascular hypertensive rats. **Peptides**, v. 101, p. 82–88, 2018.
- RONCARI, C. F. et al. Importance of central AT₁ receptors for sodium intake induced by GABAergic activation of the lateral parabrachial nucleus. **Neuroscience**, v. 196, p. 147–152, 2011.
- RONCARI, C. F. et al. The lateral parabrachial nucleus and central angiotensinergic mechanisms in the control of sodium intake induced by different stimuli. **Behavioural brain research**, v. 333, p. 17–26, 2017.
- RUBIN, B. et al. Chronic antihypertensive effects of captopril (SQ 14,225), an orally active angiotensin I-converting enzyme inhibitor, in conscious 2-kidney renal hypertensive rats. **European journal of pharmacology**, v. 51, n. 4, p. 377–388, 1978.
- RUIZ, P. et al. The reninangiotensin system in different stages of spontaneous hypertension in the rat (SHR). **Clin Exp Hypertens Part A Theory Pract**, v. 12, p. 63–81, 1990.
- SAPER, C. B.; LOEWY, A. D. Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. **Brain research**, v. 197, n. 2, p. 291–317, 1980.
- SCHÖMIG, A. et al. Fluid and salt intake during the development of renal hypertension in rats. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 7, n. 2, p. 169–182, 1980.
- SEN, S.; SMEBY, R. R.; BUMPUS, F. M. Plasma renin activity in hypertensive rats after treatment with renin preinhibitor. **The American journal of physiology**, v. 216, n. 3, p. 499–503, 1969.

SIBBALD, J. R.; HUBBARD, J. I.; SIRETT, N. E. Responses from osmosensitive neurons of the rat subfornical organ in vitro. **Brain research**, v. 461, n. 2, p. 205–214, 1988.

SIMPSON, J. B.; EPSTEIN, A. N.; CAMARDO, J. S. Localization of receptors for the dipsogenic action of angiotensin II in the subfornical organ of rats. **Journal of comparative and physiological psychology**, v. 92, n. 4, p. 581–608, 1978.

SIMPSON, J. B.; ROUTTENBERG, A. Subfornical organ: acetylcholine application elicits drinking. **Brain research**, v. 79, n. 1, p. 157–164, 1974.

SIMPSON, J. B.; ROUTTENBERG, A. Subfornical organ: site of drinking elicitation by angiotensin II. **Science (New York, N.Y.)**, v. 181, n. 4105, p. 1172–1175, 1973.

SIMPSON, J. B.; ROUTTENBERG, A. The subfornical organ and carbachol-induced drinking. **Brain research**, v. 45, n. 1, p. 135–152, 1972.

SMITH, S. H.; BISHOP, S. P. Selection criteria for drug-treated animals in two-kidney, one clip renal hypertension. **Hypertension**, v. 8, n. 8, p. 700–705, 1986.

STARBUCK, E. M.; FITTS, D. A. Influence of the subfornical organ on meal-associated drinking in rats. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 280, n. 3, p. R669-677, 2001.

STECKELINGS, U. et al. Role of brain angiotensin in cardiovascular regulation. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 19, p. S72–S79, 1992.

STRATFORD, T. R.; WIRTSHAFTER, D. Forebrain lesions differentially affect drinking elicited by dipsogenic challenges and injections of muscimol into the median raphe nucleus. **Behavioral neuroscience**, v. 114, n. 4, p. 760–771, 2000.

TAKAMATA, A. et al. Sodium appetite, thirst, and body fluid regulation in humans during rehydration without sodium replacement. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 266, n. 5, p. R1493–R1502, 1994.

TANAKA, J. et al. Activation of serotonergic pathways from the midbrain raphe system to the subfornical organ by hemorrhage in the rat. **Experimental neurology**, v. 169, n. 1, p. 156–162, 2001.

TANAKA, J.; KARIYA, K.; NOMURA, M. Angiotensin II reduces serotonin release in the rat subfornical organ area. **Peptides**, v. 24, n. 6, p. 881–887, 2003.

TEXTOR, S. C. Renal arterial disease and hypertension. **The Medical clinics of North America**, v. 101, n. 1, p. 65–79, 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. R458-465, 1994.

WEISINGER, R. S. et al. Dehydration-induced sodium appetite in rats. **Physiology & behavior**, v. 34, n. 1, p. 45–50, 1985.

WEISINGER, R. S. et al. Role of angiotensin in sodium appetite of sodium-deplete sheep. **The American journal of physiology**, v. 253, n. 3 Pt 2, p. R482-488, 1987.

WEISINGER, R. S. et al. Subfornical organ lesion decreases sodium appetite in the sodium-depleted rat. **Brain research**, v. 526, n. 1, p. 23–30, 1990.

WEISINGER, R. S. et al. The role of angiotensin II in ingestive behaviour: a brief review of angiotensin II, thirst and Na appetite. **Regulatory peptides**, v. 66, n. 1–2, p. 73–81, 1996.