

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CARDIOLOGIA

***ALTERAÇÕES ENDOTELIAIS FUNCIONAIS E
HISTOLÓGICAS NA HIPERTENSÃO POR BLOQUEIO DO
ÓXIDO NÍTRICO EM RATOS***

LUCIANE FANTI

Porto Alegre

1999

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CARDIOLOGIA

***ALTERAÇÕES ENDOTELIAIS FUNCIONAIS E
HISTOLÓGICAS NA HIPERTENSÃO POR BLOQUEIO DO
ÓXIDO NÍTRICO EM RATOS***

LUCIANE FANTI

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina: Cardiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profª Dra. Maria Cláudia Irigoyen

Co-orientadora: Nadine Clausell

Porto Alegre

1999

Fanti, Luciane

Alterações endoteliais funcionais e histológicas na hipertensão por bloqueio do óxido nítrico em ratos / Luciane Fanti; orient. Maria Cláudia Irigoyen. co-orient. Nadine Clausell - Porto Alegre : UFRGS, 1999.

101 p.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina: Cardiologia.

1. Hipertensão arterial. 2. Óxido Nítrico. 3. Células inflamatórias. I. Irigoyen, Maria Cláudia. II. Clausell, Nadine. III. Título.

*Dedico este trabalho ao meu gigante, meu herói,
meu pai. Que me ensinou a dedicação ao trabalho
e que é preciso serenidade e persistência para superar
qualquer obstáculo.*

*À minha mãe, fortaleza de açúcar, braço forte sempre
estendido em minha direção.*

AGRADECIMENTOS

Neste momento, sou grata a todos que possibilitaram a realização deste trabalho . A colaboração e incentivo de todos foi fundamental para conclusão deste trabalho.

Agradeço ao Curso de Pós-graduação em Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Cardiologia. Sobretudo pelo incentivo e pela preocupação com o futuro da pesquisa médica, demonstrado pelo coordenador do curso, Dr. Waldomiro Carlos Manfrói.

Agradeço à orientadora, Profa. Dra. Maria Cláudia Irigoyen, pelo constante estímulo e incansável contribuição que permitiram a conclusão deste trabalho. Obrigado por compartilhar todos estes anos com as minhas dificuldades e pela amizade que torna esta etapa mais fácil.

À minha família. Pela vida, pelo incentivo, compreensão e pelo respeito.

Agradeço à co-orientadora, Profa. Dra. Nadine Clausell, pela orientação acadêmica e principalmente na elaboração de novos objetivos durante o desenvolvimento da tese, os quais foram fundamentais para o desfecho.

Agradeço também à Dra. Adriana Werner pela incansável dedicação e contribuição para a realização do projeto da tese. Da mesma forma, à Dra. Natacha Toniazzi.

Ao Departamento de Fisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A todos que me auxiliaram no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular.

Ao Serviço de Cardiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, chefiado pelo Dr. Jorge Pinto Ribeiro, que sempre me estimulou para conclusão da tese. Sou grata pelos ensinamentos científicos e clínicos recebidos durante a minha residência e pós-graduação na cardiologia.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	viii
LISTA DE FIGURAS E TABELA	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Doença hipertensiva	1
1.2. Fatores envolvidos na regulação da pressão arterial	3
1.2.1. Controle reflexo da pressão arterial	3
1.2.2. Sistema-renina-angiotensina	5
1.2.3. Endotélio vascular - óxido nítrico	8
1.3. Disfunção endotelial na hipertensão arterial e aterosclerose	12
1.3.1. Participação dos leucócitos	16
1.3.2. Participação da pressão arterial elevada	19
2. HIPÓTESE E OBJETIVOS	23
2.1. Hipótese	23
2.2. Objetivos	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Animais	24
3.2. Grupos experimentais	24
3.3. Procedimentos cirúrgicos	25
3.4. Ligadura de aorta	26

3.5. Seqüência e protocolo experimentais	27
3.6. Aferição das variáveis	30
3.7. Registro da pressão arterial	30
3.8. Avaliação da sensibilidade do reflexo barorreceptor	31
3.9. Atividade da renina plasmática	32
3.10. Análise histológica	32
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5. RESULTADOS	35
5.1. Efeitos do LNA e da ligadura de aorta sobre a pressão arterial e a frequência cardíaca	35
5.1.1. Efeito sobre a pressão arterial nos três grupos em sete dias	35
5.1.2. Efeito sobre a frequência cardíaca nos três grupos em sete dias.....	38
5.2. Medida da atividade da renina plasmática	39
5.3. Avaliação do reflexo barorreceptor	40
5.3.1. Bradicardia reflexa.....	40
5.3.2. Taquicardia reflexa	41
5.4. Análise histológica dos segmentos de aorta	42
6. DISCUSSÃO	45
6.1. Quanto à pressão arterial	45
6.2. Quanto à frequência cardíaca e reflexo barorreceptor	47
6.3. Quanto à atividade da renina plasmática	52
6.4. Quanto às alterações inflamatórias endoteliais	55
6.4.1. Quanto ao tipo de vaso sanguíneo.....	61
7. INTEGRAÇÃO	63
8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	65
9. CONCLUSÕES	67
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
11. ANEXO	101

LISTA DE ABREVIATURAS

Ach – acetilcolina

Ang I – angiotensina I

Ang II – angiotensina II

ANOVA – análise de variância

ARP – atividade da renina plasmática

CJG – células justaglomerulares

ECA – enzima de conversão da angiotensina

EDTA – ácido etileno tiamino tetra-acético

EDCF – fator de contração dependente do endotélio

EDRF – fator de relaxamento dependente do endotélio

FC – frequência cardíaca

GMPc – guanidino monofosfato cíclico

HA - hipertensão arterial

HAS – hipertensão arterial sistêmica

HE – hematoxilina-eosina

HVE – hipertrofia ventricular esquerda

Hb – hemoglobina

Is – índice de sensibilidade

ICAM-1 – molécula de adesão intercelular-1

Lig Ao – ligadura de aorta

LNA – w-nitro-L-arginina

L-NAME – NG-nitro-L-arginine methyl ester

L-NMMA – NG-monomethyl-L-arginine

NO – óxido nítrico

NOS – NO sintase

PA – pressão arterial

PAM – pressão arterial média

PAD – pressão arterial diastólica

PAS – pressão arterial sistólica

PMN - polimorfonucleares

SNA – sistema nervoso autônomo

SNC – sistema nervoso central

SNS – sistema nervoso simpático

SRA – sistema renina-angiotensina

SHR – ratos geneticamente hipertensos

VCAM-1- molécula de adesão vascular-1

LISTA DE FIGURAS E TABELA

Figura 1	– Síntese do óxido nítrico pelas células endoteliais. Rota metabólica do NO	10
Figura 2	– Mediadores do tônus vascular liberados pelo endotélio vascular	12
Figura 3	– Alterações do endotélio vascular na artéria hipertensa e normal.....	14
Figura 4	– Adesão de leucócitos ao endotélio vascular quando o NO é bloqueado	17
Figura 5	– Representação esquemática do procedimento de ligadura de aorta realizado nos ratos do grupo B	27
Figura 6	– PAM nos grupos A e C no 1° e 7° dia.....	36
Figura 7	– PAM nos grupos A, B e C no 7° dia	37
Figura 8	– FC no grupo A e C no 1° e no 7° dia	38
Figura 9	– FC nos grupos A, B e C no 7° dia.....	39
Figura 10	– ARP nos grupos A, B e C no 7° dia	40
Figura 11	– Avaliação da resposta bradicárdica. Is do reflexo nos três grupos estudados no 7° dia.....	41
Figura 12	– Avaliação da resposta taquicárdica. Is do reflexo nos três grupos estudados no 7° dia.....	42
Figura 13	– Foto ilustrativa mostrando células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular de um rato do grupo A.....	43

Figura 14 – Foto ilustrativa mostrando o endotélio vascular normal. Retirado de um rato do grupo C	43
Figura 15 – Análise histológica dos segmentos de aorta nos três grupos no 7º dia..	44
Tabela 1 – Medidas de PAM, PAD, PAS, e FC nos grupos A, B e C no 7º dia.....	37

RESUMO

A hipertensão é uma doença multifatorial em que vários mecanismos fisiopatológicos estão interagindo. Entre eles, conhecemos melhor o sistema renina-angiotensina (SRA) e o sistema nervoso autônomo (SNA). Mais recentemente, foi demonstrado por Furchgott e Zawadzski, 1980, a importância do endotélio vascular na modulação do tônus vascular. O óxido nítrico (NO), sintetizado e liberado pelo endotélio íntegro, atua também como uma molécula antiadesiva para células inflamatórias. Seu bloqueio pode, portanto, contribuir para adesão de células inflamatórias ao endotélio vascular, alterando o tônus vasodilatador.

O objetivo do estudo atual foi comparar as alterações funcionais e alterações inflamatórias na superfície endotelial em animais normais e hipertensos. O papel do NO e do SRA nas alterações inflamatórias endoteliais e a participação do controle neural da pressão arterial (PA) no controle reflexo da frequência cardíaca (FC), foram considerados.

Para isto, foi desenvolvido um estudo experimental no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular no Instituto de Ciências Básicas de Saúde da UFRGS e no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foram incluídos no estudo 21 ratos machos Wistar, randomizados em 3 grupos de 7 ratos cada. Grupo A (LNA); Grupo B (lig.Ao); Grupo C (controle). O estudo foi realizado em sete dias.

O grupo A recebeu LNA (w-nitro-L-arginina), via oral, diluído em água na concentração de 2,74mM, por 7 dias. No grupo B foi realizada ligadura total de aorta entre as artérias renais. O grupo C recebeu apenas água. Os registros de PA, FC e reflexo barorreceptor foram obtidos de maneira direta. A atividade da renina plasmática (ARP) foi realizada ao final do estudo. A análise dos dados foi realizada em microcomputador batimento-a-batimento no sistema CODAS. Após o registro final, os animais eram sacrificados e os segmentos de aorta fixados em formalina a 10%. Foram realizados cortes histológicos de 7 μ de espessura, corados com hematoxilina-eosina. Um examinador "cego" analisou as lâminas quanto a presença de células inflamatórias na superfície endotelial. Utilizamos ANOVA - análise de variância - e como testes complementares Wilcoxon, Mann-Whitney, Kruskal Wallis e Fisher. Um $P \leq 0,05$ foi considerado significativo.

Ao final do estudo, os grupos A e B atingiram níveis semelhantes de hipertensão (152 \pm 7 vs. 149 \pm 5mmHg). A FC foi maior no grupo com o NO bloqueado (463 \pm 16bpm), bem como o índice de sensibilidade do reflexo barorreceptor na avaliação da bradicardia reflexa. Não houve diferença na taquicardia reflexa entre os grupos A e C. O grupo B apresentou uma diminuição no índice da sensibilidade do reflexo para resposta taquicárdica. A ARP foi maior no grupo com Lig Ao (12 \pm 4AngII/ml/h) do que no grupo A (6 \pm 1.6AngII/ml/h) e C (5.7 \pm 0.9AngII/ml/h). Quanto à presença de células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular, verificamos a sua presença em 86% dos ratos no grupo com o NO bloqueado e em apenas 29% dos ratos com lig Ao, sendo que o grupo controle não apresentou células inflamatórias aderidas ao endotélio. A presença de células do tipo inflamatórias aderidas ao endotélio, comparada por ANOVA, não mostrou diferença

estatística entre os grupos A e B ($p = 0,10$). Entretanto, comparados com o controle normotenso, somente o grupo A apresentou diferença significativa ($p=0.0004$).

Com base nessa diferença, especula-se que as alterações inflamatórias se devam antes ao bloqueio do NO do que à hipertensão apenas. Outros mecanismos de controle da PA, como o SRA e o SNA, também podem estar contribuindo para a resposta inflamatória encontrada. Cabe, no futuro, elucidar melhor a hipertensão como uma doença inflamatória endotelial, uma vez que a hipertensão é considerada um dos principais fatores de risco para aterosclerose.

ABSTRACT

Hypertension is recognized as a disease of the vascular system and it is associated with an increased prevalence of atherosclerosis. Recent studies demonstrated the role of endothelium in the regulation of the vascular tone suggesting that in hypertension the endothelium may be functionally and or structurally abnormal. Indeed, it has been demonstrated that the NO blockade by inhibition of NO synthesis increase leukocyte adhesion to post-capillary endothelium. However, it is unclear whether endothelial changes observed in hypertension are related to hypertension itself or related to altered NO actions found in hypertension. Therefore, the aim of this study was to characterize the adhesion of inflammatory cells to the endothelium in two different models of experimental hypertension: one secondary to aortic ligation and another secondary to NO blockade. Another objective is associated the structural vascular changes with the functional alterations.

Three randomized groups of male Wistar rats were followed during one week. Group A (n=7) was given w-nitro-L-arginine (LNA) added to a concentration of 2.74mM as drinking water; Group B (n=7) had aortic ligation performed between renal arteries and Group C (n=7) received tap water. Direct blood pressure records, heart rate and baroreceptor reflexes were performed on day 1 and at the end of the experimental period, when the plasma renin activity was measured and the rats were killed, the aorta removed and fixed in 10% buffered formalin. Qualitative assessment of the vascular endothelium was

performed by an observer blinded to the origin of the animals using hematoxylin-eosin stain. Data was reported as mean \pm SEM and analyzed by ANOVA followed by Wilcoxon and Mann-Whitney tests. Kruskal Wallis Test was used as a complementary test. To compare the categorical variables – histology – the Fisher exact test was used. A $p \leq 0.05$ was considered significant.

We found that NO blockade by LNA (Group A) as well as aortic ligation (Group B) induce similar increase in mean arterial pressure (MAP) values (152 ± 7 vs. 149 ± 5 mmHg), which were significantly different from control rats (Group C, 104 ± 4 mmHg). Resting heart rate (HR) was higher in LNA-treated rats (463 ± 16 bpm) than in rats with aortic ligation (345 ± 6 bpm) or control rats (369 ± 17 bpm). The baroreflex control of heart rate to the increase in arterial pressure was larger in LNA-treated rats than in rats of groups B and C. Tachycardic responses to the decrease in arterial pressure were similar between groups A and C, while rats with high-renin hypertension (group B) showed an impairment of those responses.

Plasma renin activity (PRA) was not different in LNA-treated and control rats (6 ± 1.6 vs. 5.7 ± 0.9 ngAngI/ml/h). However, PRA was significantly increased in aortic ligated rats (12 ± 4 ngAngI/ml/h). Cells adherent to the vascular endothelium were observed in 6/7 (86%) of rats in the group A, in only 2/7 (29%) of rats in the Group B and in none of the Group C. A significant increase in inflammatory cells in Group A vs. C ($p = 0.0004$) was demonstrated but not between Group B vs. C ($p \leq 0.46$), suggesting that in hypertension the presence of inflammatory cells may be more closely related to nitric oxide blockade than to hypertension alone. Another pathophysiological mechanisms involving the renin-

angiotensin system on the sympathetic activity appears to be important for the hypertensive changes of the vascular endothelium in both, LNA-treated and aortic ligated rats.

1. INTRODUÇÃO

1.1. DOENÇA HIPERTENSIVA

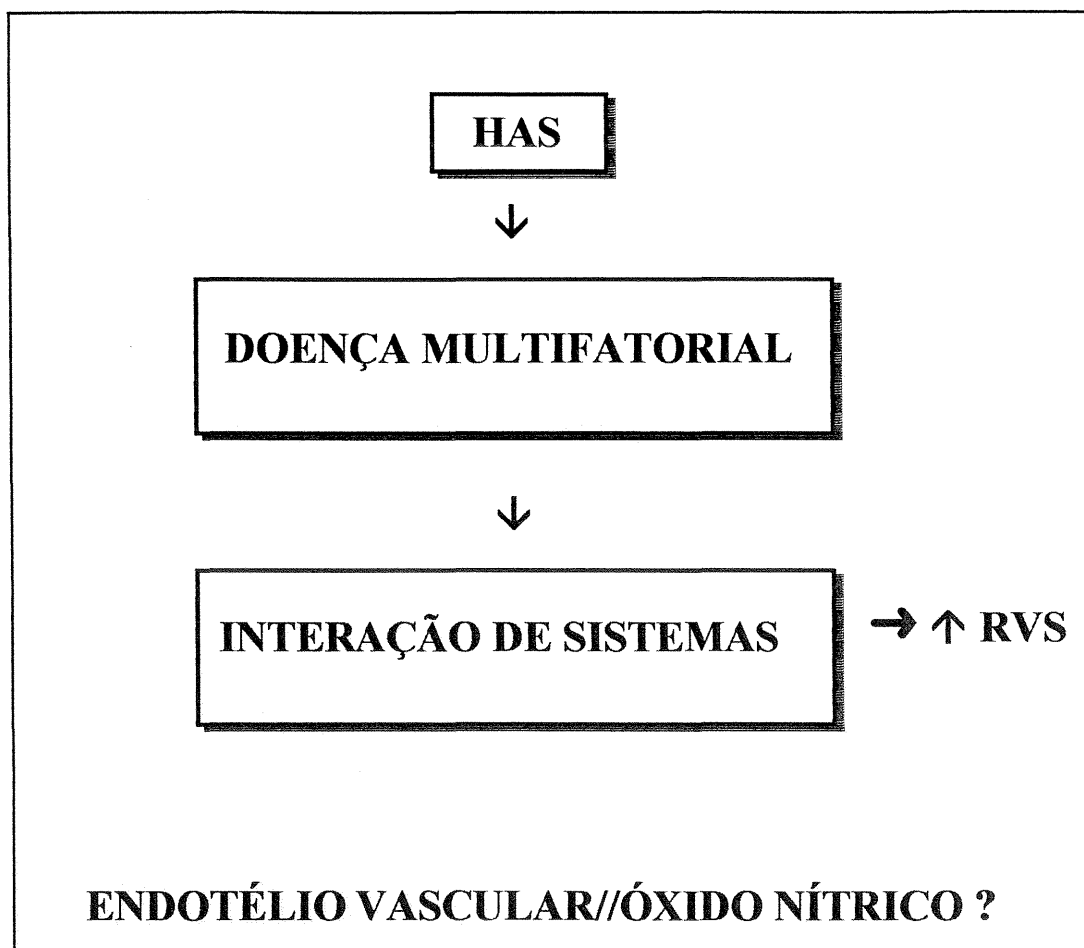
A hipertensão arterial, influenciando uma série de doenças, permanece como uma das causas mais comuns de morbimortalidade nas sociedades desenvolvidas e em desenvolvimento ⁽¹⁾. A HA é um dos mais importantes fatores de risco das doenças cardiovasculares. Estima-se que 15-25% dos norte-americanos adultos são hipertensos ⁽¹⁾.

A prevalência da HA no Brasil gira em torno de 20-25% da população adulta ⁽²⁾. De acordo com diversos estudos populacionais, verificou-se que a hipertensão arterial tem alta prevalência também no Brasil, variando entre 11% dos adultos de Porto Alegre e Volta Redonda e 25% dos em Araraquara ⁽³⁾.

A pressão arterial é o produto final de uma série de fatores incluindo aqueles que controlam o calibre e a responsividade vascular, também aqueles que regulam o volume intra e extravascular e, por fim, aqueles que controlam o débito cardíaco ⁽¹⁾.

A HA é uma doença multifatorial em que vários mecanismos fisiopatológicos estão envolvidos, o que torna o estudo isolado de um ou outro mecanismo difícil de ser realizado. Dentro desse contexto, alguns mecanismos fisiopatológicos são bem conhecidos e outros nem tanto. Atualmente, quando se fala em fisiopatologia da HA, além de citar o

papel do controle neural e do SRA, tem-se destacado a participação do endotélio vascular, principalmente do NO, conforme esquema abaixo ^(4,5):



1.2. FATORES ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

1.2.1. Controle reflexo da pressão arterial

O reflexo comandado pelos pressorreceptores é um mecanismo de sinalização e regulação precoce das alterações da PA momento-a-momento ⁽⁴⁻⁷⁾. Representa um mecanismo fundamental no controle neural da circulação, tendo uma ação tônica inibitória, e uma ação reflexa inibindo ou aumentando a atividade simpática e parassimpática, funcionando como um tampão a cada mudança brusca de PA ⁽⁴⁻⁶⁾. A disfunção desse reflexo promove alterações no controle neural da PA, o que pode levar a instabilidade circulatória, aumentando a morbidade e a mortalidade cardiovascular ⁽⁶⁻¹²⁾.

Um número de estruturas nervosas centrais e periféricas são interconectadas para prover o controle da circulação ^(13,14). Os receptores arteriais sinoaórticos de alta pressão e os cardiopulmonares de baixa pressão podem também estar alterados na HAS ⁽¹⁵⁾. Esses reflexos, quando ativados pelo aumento de PA e/ou pressão venosa central, respectivamente, respondem com uma diminuição na FC e PA por estímulo vagal e por inibição simpática ^(7,10,14,15). Por outro lado, quedas súbitas da PA levam a ativação simpática e à inibição vagal, ocorrendo uma taquicardia reflexa ⁽¹⁶⁾.

Quando a hipertensão é sustentada, a adaptação permite que mesmo os indivíduos hipertensos possam regular a PA momento-a-momento. Assim, a cada aumento de PA haverá diminuição na FC, que pode, entretanto, ter um ganho menor ⁽¹⁷⁾. Alguns estudos sugerem que este novo ajuste no barorreceptor possa ser mediado pela Ang II no SNC, envolvendo a bomba de Na, prostaglandinas e o NO ^(19,20).

Muito se fala sobre o NO produzido pelo endotélio vascular na manutenção do tônus vasodilatador constante. Entretanto, a presença da enzima NO sintase no SNC, mais precisamente no núcleo do trato solitário e na porção rostral da medula ventrolateral, sugere que o NO possa estar envolvido também no controle neural central da PA^(7,21-26).

Vários estudos em animais comprovam que tanto o NO neuronal como o endotelial vascular contribuem para a regulação do tônus vasomotor e da PA^(27,28). O NO atuando centralmente promove uma diminuição da atividade simpática e da queda na PA⁽²²⁾.

Cunha e cols., 1993, demonstraram que a HA observada em ratos tratados cronicamente com L-NAME, depende de um aumento no tônus simpático vascular e cardíaco, bem como de uma diminuição no tônus cardíaco vagal. Tem sido demonstrado que a HA é acompanhada por bradicardia após o bloqueio agudo do NO (pressorreceptor ainda não ajustado), mas no bloqueio crônico do NO observou-se taquicardia, indicando que o barorreflexo, após este período, não está operando normalmente quando se bloqueia o NO^(29,30).

A interação de substâncias locais produzidas pelo endotélio pode atuar em três níveis de controle cardiovascular: célula-a-célula, transmissão nervosa - SNC e na modulação do reflexo localmente. Por exemplo, o NO atua como um comunicador entre o endotélio e as células da musculatura lisa, bem como entre os neurônios em nível central⁽⁵⁾.

Chapleau e cols., 1995, afirmam que alterações importantes no barorreflexo ocorrem em situações fisiológicas e patológicas, como na HAS, aterosclerose e no envelhecimento. Essas alterações não são decorrentes apenas de mudanças na estrutura e na distensibilidade do vaso. Os trabalhos atuais ressaltam as propriedades funcionais da parede vascular, em particular do endotélio, visto que a disfunção endotelial pode alterar

o barorreflexo diminuindo a sensibilidade do mesmo na HAS e na aterosclerose. A atividade barorreceptora é modulada pela bomba Na-K e por funções parácrinas das prostaciclina, radicais livres, NO e fatores liberados por agregados de plaquetas. Radicais livres contribuem para a disfunção do barorreflexo na aterosclerose, assim como os agregados de plaquetas, promovendo agressão local ao endotélio e liberação de substâncias que interferem com o barorreflexo ⁽³¹⁾.

Analisando estes estudos, poder-se-ia acreditar que os infiltrados inflamatórios com adesão de leucócitos ao endotélio vascular também estariam contribuindo, de algum modo, para alterar o barorreflexo na doença hipertensiva.

1.2.2. Sistema renina-angiotensina

O sistema SRA desempenha um papel importante na patogênese da HA ⁽³²⁾. Está envolvido na homeostase cardiovascular, tanto como um fator de crescimento como um hormônio pressor ⁽³³⁾. Atualmente, definimos o SRA como:

- a) sistema hormonal circulante;
- b) componente tecidual;
- c) sistema celular ou intracelular.

O efeito da renina é fazer com que a enzima de conversão da angiotensina (ECA) promova a conversão da Ang I em Ang II. Ativada, a Ang II promove vasoconstrição (aumento SNS); aumento de volume (aumenta aldosterona); produz hipertrofia vascular e cardíaca e também está relacionada às alterações endoteliais encontradas na hipertensão ^(1,32-35).

O SRA é um dos mais importantes fatores de regulação de volume e da PA. Tanto um aumento quanto uma diminuição na produção de renina resulta em severos distúrbios na homeostase circulatória ⁽³⁶⁾. O SRA modula várias funções neuroendócrinas e autonômicas, as quais, através de mecanismos de *feedback*, determinam a liberação de renina nas CJG do rim ^(1,32-34). Existem diferentes modelos experimentais de HA, envolvendo o SRA, como: coactação de aorta, ligadura de aorta, 2 rins, 1 clip-Goldblatt (aumento de ARP) e o modelo DOCA-sal, em que há uma diminuição da ARP ^(37,38).

Basicamente existem três estímulos principais para liberação de renina pelo rim ^(39,40):

- a) baixa pressão de perfusão renal;
- b) diminuição de sal na mácula densa;
- c) aumento da atividade do simpático renal.

Atualmente, tem-se estudado o papel do SRA sobre o endotélio vascular. Vital e cols., 1988, foram um dos primeiros grupos de pesquisadores que sugeriram que o NO inibe a secreção de renina, e que uma vez inibindo o NO, a secreção de renina estaria elevada ⁽⁴¹⁾.

Em Campinas, Ribeiro e cols., 1992, estudaram a inibição crônica da síntese do NO em ratos normais e observaram que havia um aumento na atividade da renina plasmática na quarta semana de inibição do NO pelo L-NAME. Concluíram que havia um aumento de PA importante envolvendo a participação do SRA, mas que este não deve constituir o único sistema de regulação da PA neste modelo de hipertensão, pois mesmo após inibir os receptores para Ang II com Losartan, não se observou uma normalização completa da PA ^(42,43).

O modelo de HA por ligadura total da aorta criado por Rojo-Ortega e Genest, em 1968, é um dos modelos de hipertensão por renina alta ⁽⁴⁴⁾. Em experimentos usando ratos de baixo peso, a ligadura de aorta gerou HA maligna em todos animais estudados (Carretero e cols.,1971). Chatelain e cols., 1980, confirmaram estes achados e verificaram que havia um aumento 7 vezes maior na ARP nos ratos que desenvolviam HA maligna versus àqueles com HA benigna. A histologia dos vasos, realizada 12 dias após a Lig Ao, revelou que havia depósito fibrinóide, hipertrofia da camada média, proliferação de colágeno na adventícia e infiltração de células inflamatórias (mononucleares). Tais alterações foram encontradas principalmente no coração, fígado, intestino e mesentério. Os autores concluíram que em ratos com Lig Ao, a coexistência de fatores humorais elevados, tais como a renina e os corticóides, elevação da PA e severa doença vascular necrotizante contribuíam para o desenvolvimento e manutenção da hipertensão maligna⁽⁴⁵⁾.

Nicoletti e cols., 1996, estudaram o modelo de hipertensão com renina alta (Goldblatt), quanto à presença de células inflamatórias e à atividade do SRA. Verificaram que a correlação entre a densidade de macrófagos e PA, bem como a ARP podem indicar que as angiotensinas e/ou a elevação da PA estariam sinalizando a mobilização de células inflamatórias. Essas células poderiam levar a fibrose miocárdica através da liberação de mediadores como os fatores de crescimento e citoquinas que atuam sobre os fibroblastos⁽⁴⁶⁾. O estudo acima, relacionando a ARP com infiltrado inflamatório na doença hipertensiva, revela as possíveis propriedades pró-inflamatórias das angiotensinas ⁽⁴⁷⁾.

1.2.3. Endotélio vascular - óxido nítrico

Nos últimos 15 anos, muitos estudos têm demonstrado que o endotélio vascular não é apenas uma simples barreira entre o sangue e os tecidos, mas sim um órgão metabolicamente ativo que atua como um complexo sistema modulador com inúmeras funções. Na regulação do tônus vascular, além do controle neurogênico exercido pelo SNA, estão envolvidos mediadores vasculares locais, tais como os provenientes do endotélio e as células sanguíneas (plaquetas, leucócitos, monócitos) ⁽⁴⁸⁾.

A importância do endotélio vascular em modular a atividade da musculatura lisa dos vasos e, portanto, a regulação do tônus vascular foi sugerida pela primeira vez por Furchgoot e Zawadski, 1980 ⁽⁴⁹⁾.

O endotélio íntegro, além de produzir fatores de relaxamento, como o NO, as prostaciclina, produz também fatores de contração dependentes do endotélio (EDCF), como endotelina, tromboxano e Ang II ⁽⁵⁰⁻⁵⁶⁾. O balanço entre as substâncias vasoativas constritoras e dilatadoras dependentes do endotélio é de vital importância para a manutenção da homeostase vascular ^(43,52,58,59).

A enzima que sintetiza o NO a partir do aminoácido, L-arginina, foi identificada como NO sintase (NOS) que é uma oxigenase cálcio/calmodulina dependente ⁽⁵¹⁻⁶³⁾.

Para formação de NO também são necessários alguns cofatores, como a calmodulina, NADPH e conforme a ativação do processo, a presença de cálcio ⁽⁵³⁻⁵⁹⁾.

Com respeito a NOS, existem pelo menos dois tipos:

- A) Constitutiva: citosólica, cálcio/calmodulina dependente, conhecida como óxido nítrico sintase constitutiva (NOSc). O NO produzido por esta enzima atua como um mecanismo transdutor envolvendo várias respostas biológicas ^(53,56).

B) Induzível: citosólica, cálcio/calmodulina independente, conhecida como óxido nítrico sintase indutível (NOSi). A NOSi é expressa após a ativação de macrófagos, células endoteliais e um número de outras células por citoquinas. Este tipo de NO está geralmente associado a processos patológicos ^(53,56).

O metabolismo do NO se dá através da NOS que se apresenta sob as formas de três isoenzimas ⁽⁵³⁻⁵⁶⁾:

- I - presente em células neuronais e epiteliais;
- II - presente em macrófagos e outras células incluindo músculo liso vascular;
- III - presente em células endoteliais.

O aumento do cálcio intracelular resulta na ligação do cálcio e calmodulina, os quais permitem a ativação da NOS que, atuando sobre a L-arginina gera NO e L-citrulina, que são os dois produtos da reação enzimática ⁽⁵⁵⁻⁵⁹⁾. O NO então se difunde rapidamente para a célula do músculo liso para ativar a guanilato ciclase solúvel, estimulando a biossíntese de guanidino monofosfato cíclico (GMPc). O GMPc, por sua vez, desencadeia a ativação das quinases e a fosforilação das proteínas, resultando no relaxamento da musculatura lisa dos vasos, conforme ilustrado na Figura 1 ⁽⁵⁹⁾.

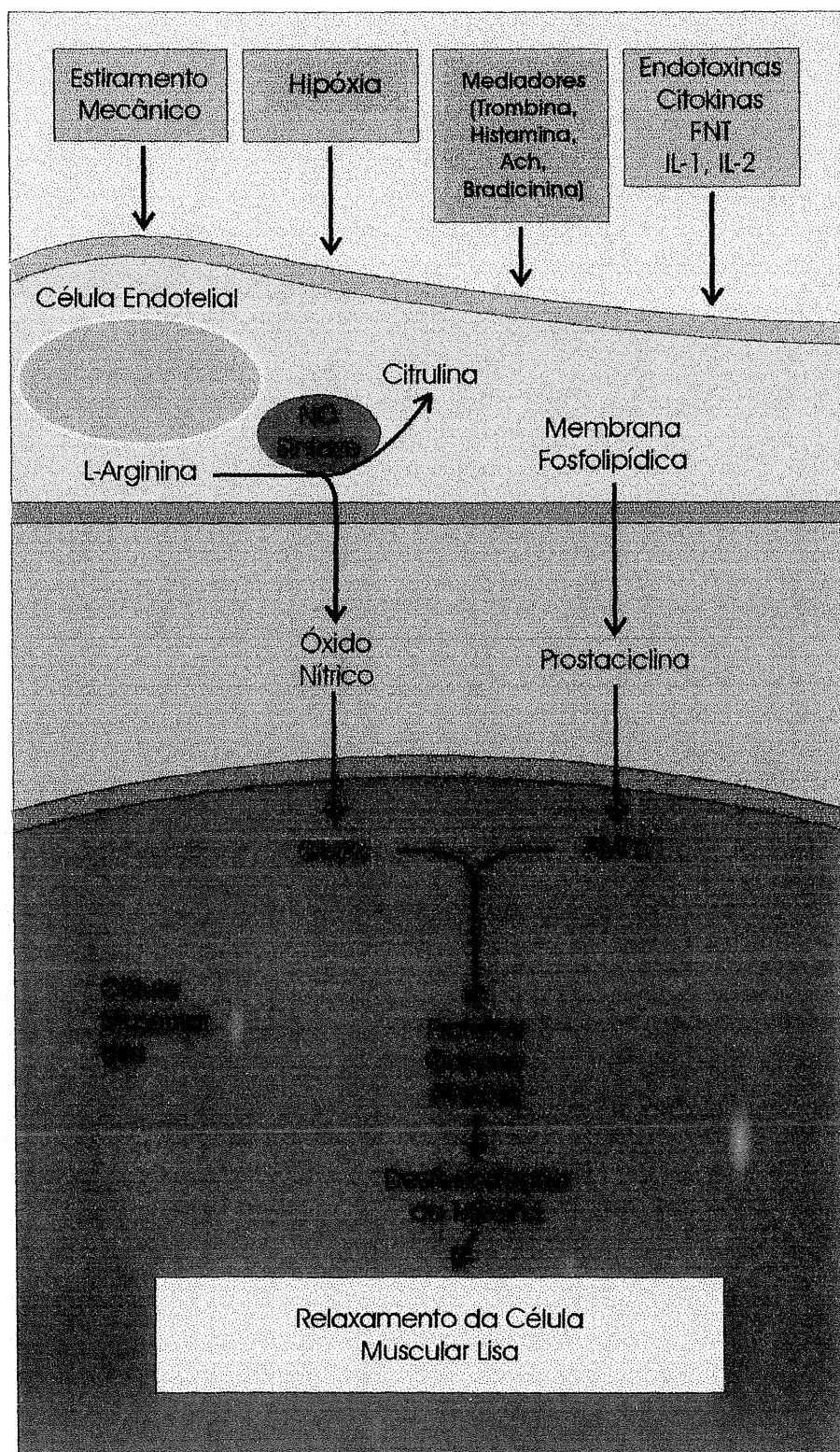


Figura 1 - Síntese do óxido nítrico pelas células endoteliais. Figura esquemática da rota metabólica do NO. Modificada do artigo de Conger e cols., 1994.

Palmer e cols, 1989, documentaram uma enzima que inibia de forma competitiva a síntese de NO pelas células endoteliais: NG-monomethyl-L-arginina, que é um análogo da L-arginina ^(55,64,65). A grande diferença entre os inibidores do NO, na sua ação sobre o tecido vascular, dá-se por diferenças na captação, distribuição e metabolismo dos compostos ⁽⁵⁶⁾. O azul de metileno também é utilizado para inativar a guanilate ciclase solúvel e, portanto, impedir a atuação do NO sobre a musculatura lisa vascular ⁽⁶⁴⁾. A hemoglobina inibe a ação do NO pela formação de um composto Hb/NO, o qual não é revertido com o uso da L-arginina (Fig.1) ^(56,64,66,67).

NO é liberado por vários estímulos químicos e mecânicos sobre a superfície endotelial. É liberado em resposta a Ach, adenina, trombina, substância P, noradrenalina, cálcio ionophore A 23187, bradicinina e o estresse de cisalhamento ou a pressão de deslocamento do sangue sobre o lumen vascular ^(65,68-71). Cabe salientar que, além do NO, o endotélio libera outros mediadores em resposta a vários estímulos. Às vezes, um mesmo estímulo, por exemplo o estresse de cisalhamento, pode atuar sobre dois mediadores, o NO e a PGI₂, como se pode observar na figura 2 a seguir ⁽⁷²⁾.

A cada momento novas pesquisas vêm atribuindo ao NO novas funções. No sistema cardiovascular, além de manter um tônus vasodilatador constante, possui uma atividade antitrombótica por intervir na ativação, agregação e adesão de plaquetas ao endotélio ⁽⁷³⁻⁸⁰⁾.

Além disso, o NO inibe a adesão de leucócitos ao endotélio, impedindo a liberação de substâncias vasoativas pelos leucócitos ativados, como os ânions superóxidos ⁽⁸¹⁻⁸⁹⁾. Também exerce um efeito inibitório sobre a proliferação das células da musculatura lisa dos vasos - mitogênese ^(74,90-93).

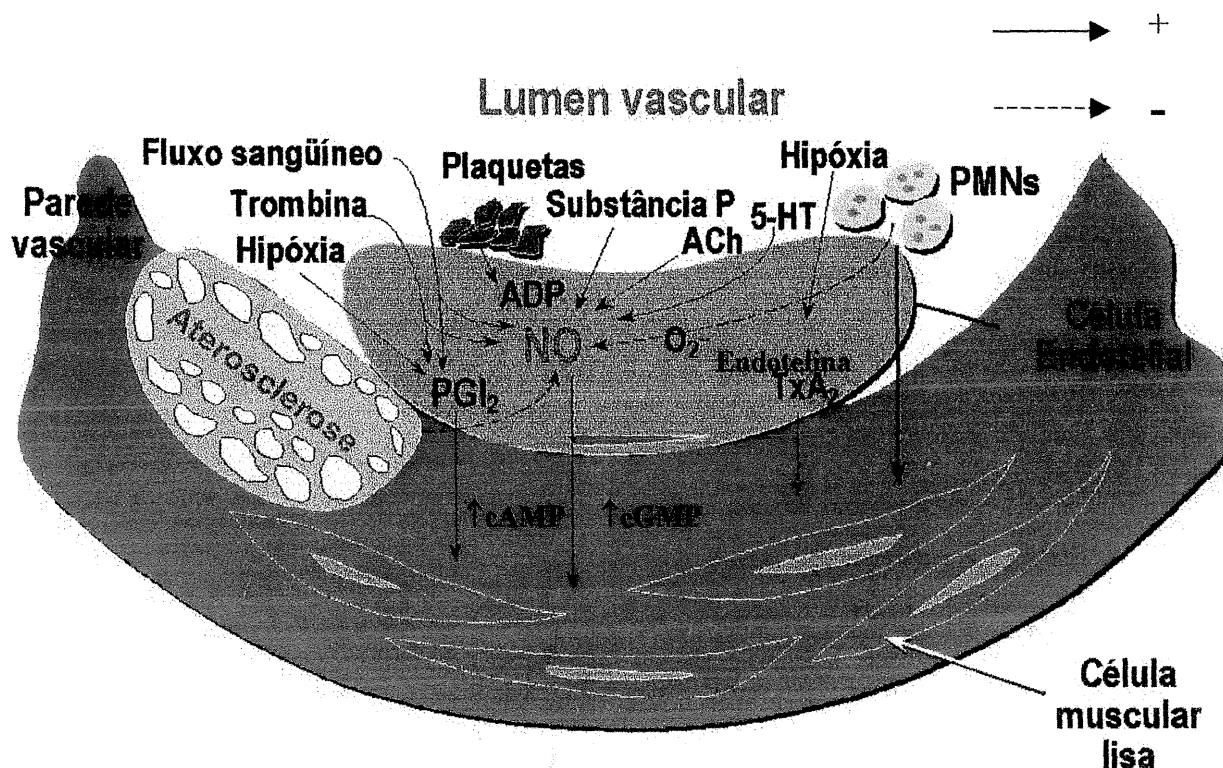


Figura 2 - Representação esquemática dos mediadores do tônus vascular liberados pelo endotélio vascular em resposta aos estímulos químicos e mecânicos. Modificada do artigo de Mehta e cols., 1995.

Atualmente, o endotélio vascular pode ser caracterizado como um sistema orgânico modulador para manter o equilíbrio dinâmico vascular e celular ao detectar estímulos que induzem remodelamento e alterações da reatividade vascular⁽⁹⁴⁾. Na verdade, o endotélio vascular é o único sistema que simultaneamente controla o tono e a estrutura vascular⁽⁵⁵⁾.

1.3. DISFUNÇÃO ENDOTELIAL NA HIPERTENSÃO ARTERIAL E ATEROSCLEROSE

Qualquer fator químico ou físico que rompa o equilíbrio dinâmico em nível endotelial, isto é, o equilíbrio entre os fatores vasorrelaxantes e vasoconstrictores

dependentes do endotélio, pode levar a uma alteração na liberação de mediadores derivados do endotélio, culminando com a ruptura da homeostase vascular e celular^(94,95).

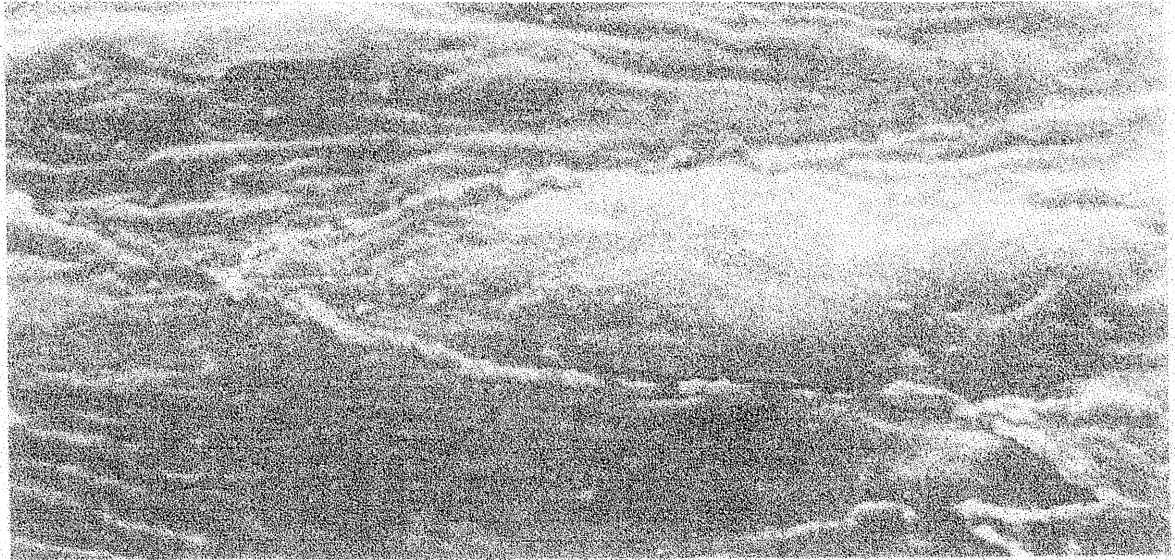
Atualmente, várias patologias estão associadas com um certo grau de disfunção endotelial. As doenças mais estudadas são: HA, insuficiência cardíaca, hipertensão pulmonar, dislipidemia, asma, cirrose, choque séptico e diabete^(53,56,59,61,96,97). A questão mais polêmica na literatura é se a disfunção endotelial é a causa ou consequência dessas patologias, particularmente na hipertensão⁽⁹⁸⁻¹⁰²⁾.

Panza e cols., 1993, analisando a resposta vascular à Ach em pacientes hipertensos e normotensos, constataram que o aumento no fluxo sanguíneo e a menor queda na resistência vascular foram significativamente menores nos hipertensos, inferindo uma piora no relaxamento vascular dependente do endotélio, sugerindo disfunção endotelial^(103,104,105).

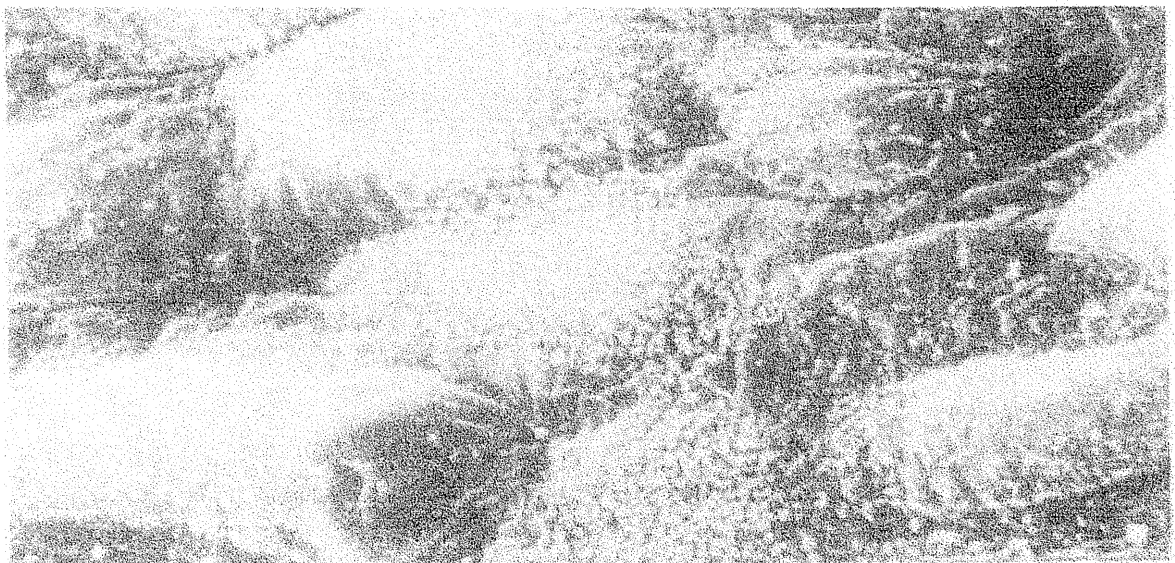
A vasodilatação dependente do endotélio está prejudicada em modelos genéticos de HA (SHR e Dahl), bem como em modelos de HA adquirida, por exemplo: na coactação de aorta, ligadura de artéria renal, sobrecarga salina e mineralocorticoide⁽¹⁰⁶⁾.

Estudos anteriores demonstram que a hipertensão está associada com a extensão e com a gravidade da aterosclerose⁽¹⁰⁷⁻¹¹⁴⁾. Assim como Owens e Reidy, 1985, outros estudos demonstraram que a hipertensão é acompanhada por um aumento na renovação de células endoteliais com concomitante aumento na permeabilidade a macromoléculas, principalmente nos ramos da aorta^(115,116). Portanto, a hipertensão pode aumentar a responsividade endotelial a fatores que promovam a adesão de monócitos⁽¹⁰⁸⁾. As células endoteliais multiplicam-se e a sua morfologia varia. As células expandem-se para a luz do vaso. As junções firmes (*tight junctions*) que asseguram a coesão da monocamada endotelial são descontínuas e menos organizadas (Figura 3). A esse conjunto de alterações

se deve o aumento da permeabilidade endotelial, em particular a infiltração de macromoléculas ⁽¹¹⁷⁾.



Arteria normal de rato. Superfície endotelial



Arteria hipertensa de rato. Superfície endotelial

Figura 3 – Alterações do endotélio vascular na artéria normal e hipertensa de rato

Embora a maioria dos estudos indique que na HA ocorra disfunção endotelial, este achado ainda é controverso, pois existem trabalhos bem conduzidos que não encontraram diferenças na vasodilatação dependente do endotélio em pacientes hipertensos e normotensos ⁽¹¹⁸⁻¹²²⁾. Além disso, alguns autores, estudando diferentes modelos de hipertensão, não encontraram evidências de que a disfunção endotelial seria um mecanismo permissivo para o desenvolvimento da HA, como a literatura sugere, e que a síntese do NO, *in vivo*, poderia ser normal ou até aumentada ^(5,119,123,124).

Crocroft e cols., 1994, analisaram as variações do fluxo sanguíneo na artéria braquial em resposta aos diferentes estímulos em homens hipertensos e normotensos. Não encontraram diferença na resposta vasodilatadora dependente do endotélio, o que sugere que a disfunção endotelial na HA não seja um achado universal a todos os hipertensos e que, talvez, a severidade, o tipo e a duração da HA, além dos fatores genéticos e ambientais, possam predispor mais certos grupos de hipertensos à disfunção endotelial ^(118,125).

Alterações morfológicas e funcionais no endotélio vascular ocorrem na hipertensão experimental e em humanos ⁽¹²⁵⁻¹²⁸⁾. Entretanto a severidade do defeito, os leitos vasculares estudados e os modelos de hipertensão são heterogêneos. Parece haver uma piora na função vasodilatadora endotelial na aorta, carótidas, arteríolas cerebrais e mesentéricas na HA. Na circulação coronária, este defeito é menos pronunciado, pois a produção de NO parece estar aumentada para compensar o aumento do tônus vascular na HA ^(125,129).

A hipertensão induz vasculopatia associada a inúmeras alterações na expressão, secreção e ação de mediadores e receptores das células endoteliais, das células musculares lisas, das plaquetas e monócitos ⁽¹⁴⁰⁾. Tais mudanças levam à hipercontratibilidade, maior interação dos elementos figurados do sangue com a parede vascular e a proliferação e

migração de células musculares lisas. Esses eventos pioram o fluxo local e podem causar oclusão vascular^(130,131). Como se observa acima, a doença hipertensiva, gerando disfunção endotelial, pode estar associada precocemente com a aterosclerose⁽¹³²⁾.

Atualmente, a aterosclerose tem sido encarada como uma doença inflamatória. O recrutamento de monócitos dentro da parede arterial é um dos eventos mais precoces na patogênese da aterosclerose⁽¹³³⁾. Há evidências de que a hipertensão também possa exercer estresse oxidativo sobre a parede arterial. Portanto, a doença hipertensiva predispõe a aterosclerose pelo sinergismo entre a elevação da PA e outro estímulo aterogênico que induz estresse oxidativo sobre a parede arterial⁽¹³⁵⁾.

1.3.1. Participação dos leucócitos

Crescentes estudos indicam que os leucócitos estão associados à patofisiologia da aterosclerose, incluindo infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, isquemia intestinal, hipertensão, colapso circulatório^(61,108,131,136-140).

Embora esteja bem estabelecido o papel do NO em modular o fluxo sanguíneo em vários tecidos, apenas recentemente foram conhecidas suas propriedades antiadesivas para leucócitos e plaquetas^(84-89,141).

Estudos recentes demonstraram que a inibição de NO com inibidores (L-NAME, L-NMMA) produz adesão de leucócitos em vênulas pós-capilares^(85,142,143). O NO parece estar envolvido na regulação da interação dos leucócitos com a parede vascular, visto que inibe a ativação dos leucócitos *in vitro* e *in vivo*^(84,85).

Com base nesses resultados, tem-se sugerido que o NO é um importante modulador endógeno da adesão de leucócitos, embora o mecanismo de ação ainda não seja bem conhecido⁽⁸⁵⁾.

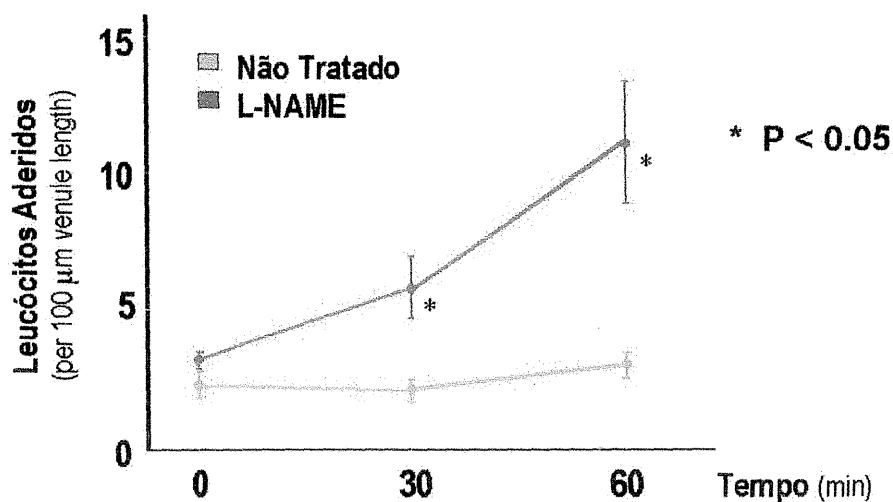


Figura 4 – Representação da adesão de Leucócitos ao endotélio vascular quando o óxido nítrico é bloqueado. Modificado do artigo de Kubes e cols., 1991.

A interação de PMN com o endotélio vascular pode ser importante no controle da PA, na medida em que pode estar contribuindo para a disfunção endotelial^(77,85,108,140). Uma vez ativados, os PMN liberam uma variedade de fatores vasoativos, como enzimas proteolíticas, ânions superóxidos e outros radicais livres também citotóxicos^(61,83,145,146,148). Quando gerados em grandes quantidades, os radicais livres lesariam o endotélio, promovendo contração da musculatura lisa vascular, inativação do NO e, por fim, predispondo ao desenvolvimento da aterosclerose⁽¹⁵¹⁾. Outra possibilidade é que as

proteases e os oxidantes derivados dos PMN, assim como a ativação de macrófagos, plaquetas e outras células, possam liberar substâncias que aumentariam a permeabilidade vascular ^(61,83,85,116,145-147,149,150,152).

Schmid-Schonbein e cols., 1991, sugerem que os leucócitos contribuem para a patogênese das alterações vasculares e a subsequente injúria a órgãos-alvo na hipertensão. Os mesmos autores propõem que leucócitos circulantes ativados podem levar a uma alteração na distribuição dos mesmos nos tecidos. Como consequência os PMN podem aderir ou se aglomerar em vênulas pós-capilares. Os PMN são capazes de influenciar diretamente o fluxo sanguíneo em vênulas pós-capilares por aderirem e se fixarem lentamente à superfície endotelial, aumentando a resistência local durante a sua presença em pré-capilares e capilares ^(221,226).

A maioria dos estudos que relacionam adesão de leucócitos ao endotélio vascular sugerem que para haver ativação das células endoteliais é necessário um estímulo, seja mecânico ou químico, por exemplo a dislipidemia, a isquemia de reperfusão, a denudação endotelial nas angioplastias ^(153,154). Resta avaliar se a própria elevação da PA na hipertensão constitui um estímulo para ativar o endotélio vascular ⁽¹³⁵⁾. A importância desses eventos reside no fato de que as alterações do endotélio vascular são comuns à doença hipertensiva e aterosclerótica ^(108,135,140).

1.3.2. Participação da pressão arterial elevada

Folkow e cols., 1978, afirmaram que a PA elevada *per se* seria um dos principais fatores associados às alterações estruturais encontradas na doença hipertensiva ^(155,158). Alguns estudos não excluem a possibilidade de que a própria elevação da PA possa modificar as propriedades funcionais e estruturais do músculo liso e do endotélio vascular na hipertensão ^(4,147,157-159).

As forças físicas exercidas sobre a parede vascular pela passagem de sangue intraluminal são consideradas pressão e estresse de cisalhamento. A pressão é exercida em ângulo reto com o eixo principal do fluxo, levando ao estiramento tangencial da parede vascular. O estresse de cisalhamento, por outro lado, é uma força exercida no mesmo eixo que o fluxo de sangue ^(159,160). O efeito do estresse sobre a liberação de fatores vasoativos tem sido muito estudado. Enquanto as adesões de PMN ao endotélio são diretamente influenciadas pelo estresse de cisalhamento, o efeito da pressão *per se* não é bem esclarecido ⁽¹⁶¹⁾.

Safar, 1996, verificou que a parede arterial pode ser alterada através de vários mecanismos de pressão envolvidos, por exemplo: alterações no estresse fixo, estresse pulsátil ou mesmo por um aumento na variabilidade destes diferentes tipos de estresses vasculares. Na HA a heterogeneidade da árvore vascular está associada a diferenças na estrutura da parede arterial ⁽¹⁵⁶⁾. Diferentes taxas de distensibilidade (células musculares lisas e elastina) e não-distensibilidade (colágeno) do tecido vascular podem influenciar o grau de espessamento arterial ⁽¹⁶⁴⁾.

Baseado nesses estudos, é possível que a elevação da PA *per se*, contribua para as alterações endoteliais encontradas na HA, inclusive a adesão de leucócitos ao endotélio vascular ^(156,158,161,163,173).

Davies e cols., 1986, verificaram que, *in vitro*, a oscilação do fluxo sanguíneo ao invés da magnitude do estresse de cisalhamento *per se*, pode ser o maior determinante hemodinâmico que induz a renovação de células endoteliais ⁽¹⁶⁵⁾.

Jonathan e cols., 1997, estudando como as veias safenas respondem ao fluxo arterial, observaram que a deformação circunferencial induz a rápidas mudanças na expressão das moléculas de adesão ICAM-1 e VCAM-1, ao passo que o aumento na concentração de NOS foi a principal resposta encontrada ao maior estresse de cisalhamento. Com base nestes achados, concluíram que a célula endotelial possui receptores na superfície que detectam alterações no fluxo e na pressão e que, uma vez ativados, acionam proteínas do citoesqueleto e a expressão de diferentes gens (e-NOS, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1), o que pode promover a maior proliferação das células musculares lisas, formação de matriz EC e outras alterações na parede vascular ^(166,173).

Bell e Borh, 1991, avaliaram o efeito direto da PA sobre a resposta vascular na hipertensão por coacção de aorta e concluíram que tanto a PA elevada *per se* quanto as mudanças endoteliais encontradas estão associadas a resposta alterada da musculatura lisa vascular na hipertensão ⁽¹⁶⁷⁾.

Hishikawa e cols., 1995, estudando os efeitos da pressão arterial sobre as células endoteliais *in vitro*, demonstraram que a PA transmural inibe a liberação de NO das células endoteliais humanas. Em outro estudo, também mostraram que a PA *per se* pode aumentar os níveis de endotelina-1 através da ativação da fosfolipase C e da proteína kinase C em cultura de células endoteliais humanas ⁽¹⁶¹⁾.

A maioria dos modelos de hipertensão arterial com renina alta apresentam uma resposta vasodilatadora dependente do endotélio diminuída (Bell e Borh, 1991; Miller e cols., 1987) nos segmentos de aorta torácicas acima da coacção de aorta. Tal resposta endotelial alterada estaria associada diretamente com a elevação da PA, visto que as aortas abdominais, não hipertensas, tinham resposta vasodilatadora dependente do endotélio preservada.

Não encontramos nenhum estudo que relacionasse a PA elevada com a adesão de PMN ao endotélio vascular.

Com base nos estudos já apresentados, ainda não é bem conhecido o mecanismo pelo qual o endotélio capta e traduz as mudanças nas forças hemodinâmicas, mais precisamente a pressão de cisalhamento e a deformação circunferencial. O papel relativo das forças hemodinâmicas e do metabolismo da parede vascular na progressão e na gravidade da doença aterosclerótica permanece não esclarecido ⁽¹⁶⁹⁻¹⁷⁵⁾.

Existem várias hipóteses levantadas procurando esclarecer os mecanismos envolvidos na disfunção endotelial no modelo de hipertensão por bloqueio do NO. Entre os mecanismos mais estudados estão:

- a) hiperatividade do SRA;
- b) hiperatividade simpática;
- c) aumento na sensibilidade aos vasoconstrictores na musculatura lisa dos vasos, ou uma diminuição aos vasodilatadores;
- d) aumento dos EDCFs e/ou diminuição dos EDRFs;
- e) diminuição da sensibilidade do barorreflexo;
- g) outros mecanismos.

Os estudos apresentados, relacionando a hipertensão com a aterosclerose e a participação fundamental do endotélio e das células inflamatórias, ressaltam a importância do estudo atual a ser apresentado, visto que a reação inflamatória na hipertensão representa uma área de pesquisa próspera, em que os mecanismos que fazem da doença hipertensiva um dos principais fatores de risco para aterosclerose começam a ser melhor compreendidos, embora muitas questões permaneçam não esclarecidas.

2. HIPÓTESE E OBJETIVOS

2.1. HIPÓTESE

No modelo de HA por bloqueio do NO haveria maior adesão de células inflamatórias ao endotélio e que tais alterações sejam decorrentes deste bloqueio e não apenas dos níveis tensionais elevados.

2.2. OBJETIVOS

1. Identificar um modelo de hipertensão arterial que ao final de uma semana induza níveis tensionais equiparáveis ao grupo com NO bloqueado, e que servirá como grupo controle hipertenso.

2. Comparar o modelo de HA por bloqueio do NO com o modelo de ligadura de aorta quanto às alterações funcionais e às alterações celulares inflamatórias no endotélio, a partir de níveis tensionais semelhantes .

3. Avaliar a participação do controle neural e do SRA na HA através do barorreflexo e da medida da atividade da renina plasmática, respectivamente, nos dois modelos de hipertensão.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foi desenvolvido um estudo experimental no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular do Instituto de Ciências Básicas de Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

3.1. ANIMAIS

O experimento foi realizado com ratos Wistar provenientes do biotério do Instituto. Foram incluídos no estudo 21 ratos machos, com peso entre 200 - 300g., adultos jovens. Durante o experimento os ratos ficavam em gaiolas isoladas e tinham livre acesso a água e a ração Purina (Nutripal; POA, RS, BR). A temperatura média era de 22°C e o ciclo diurno/noturno natural.

3.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os ratos foram randomizados em três grupos: A, B e C.

Grupo A (n = 7): estes ratos tinham peso médio de 231g. e receberam w-nitro-L-arginina (LNA), via oral, diluído em água na concentração de 2,74mM, baseado no estudo de Danamberg e cols, 1993. Este estudo foi um dos primeiros a utilizar o LNA por via oral para produzir hipertensão sustentada em ratos normais no período de 3 a 7 dias⁽¹⁷⁶⁾.

Grupo B (n = 7): neste grupo foi realizado a ligadura total de aorta abdominal e artéria renal E, conforme descrito por Rojo-Ortega e Genest, 1968. O peso médio dos ratos foi 201g.. Este modelo de hipertensão mecânico consiste na completa ligadura da aorta entre a origem das artérias renais com atrofia do rim esquerdo e subsequente hipertensão na maioria dos animais. Rojo-Ortega e cols. descreveram, ao final da segunda semana de ligadura, que a mortalidade foi de 20% ⁽⁴⁴⁾. O nível de PA ao final do experimento, variou entre 145-230mmHg. Optamos pelo modelo de ligadura de aorta em virtude do mesmo apresentar uma evolução da hipertensão semelhante ao modelo com LNA, e também por já ter estudado tal modelo em outros trabalhos do laboratório ^(177,178).

Grupo C (n = 7): estes ratos receberam apenas água, via oral. O peso médio foi de 215g.. Grupo controle.

3.3. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

No dia anterior ao registro de PA, os animais foram anestesiados com éter sulfúrico para colocação de catéteres de polietileno (PE-10, com diâmetro interno de 0,01mm que estava conectado ao PE-50, com diâmetro interno de 0,05mm). As cânulas foram preenchidas com soro fisiológico 0,9%, e posicionadas no interior da aorta torácica e da veia cava superior, através da artéria carótida interna e veia jugular para registro de PA, FC, coleta de sangue e administração de drogas, respectivamente. Através de uma pequena incisão na região cervical anterior à esquerda em direção ao feixe vaso-nervoso, as extremidades das cânulas com menor calibre (PE-10) foram introduzidas na artéria carótida e na veia jugular. As cânulas foram fixadas com fio de algodão na artéria e na veia, e suas

extremidades mais calibrosas foram passadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas com fio de algodão na pele do animal. Para manter o acesso venoso e arterial, heparina 0,01ml era diluída em 5ml de SF a 0,9% e 1ml era infundido em ambas as cânulas. Cada rato foi mantido em uma caixa (Plexiglas, 25x15x10cm) durante a realização do experimento.

3.4. LIGADURA DE AORTA

Foi utilizada a técnica de Lig Ao, descrita por Rojo-Ortega em 1968. Com o animal em decúbito lateral, anestesiado com éter, realizou-se uma incisão no flanco lateral esquerdo com exposição das vísceras e identificação do rim. Uma tração leve do rim em direção ao abdome, permitia a visualização da aorta, veia e artérias renais. Foi utilizado uma dose de penicilina G cristalina intramuscular para profilaxia de infecção. Em seguida, com o auxílio de uma lupa (DF Vasconcellos, modelo 8703) procedeu-se ao isolamento da aorta entre as artérias renais, tendo o cuidado de preservar os nervos da região. Um fio para sutura cirúrgica foi utilizado para a ligadura total de aorta. Após a sutura da parede, o animal foi colocado em uma gaiola isolado. Ver Figura 5.

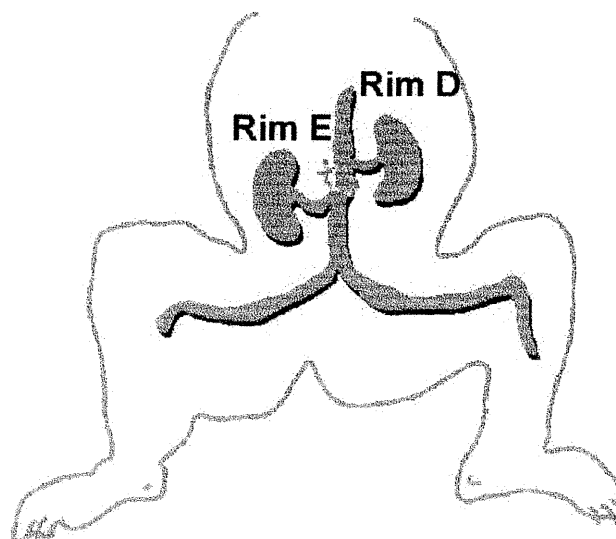


Figura 5 - Representação esquemática do procedimento de ligadura de aorta realizado nos ratos do grupo B. Vista dorsal

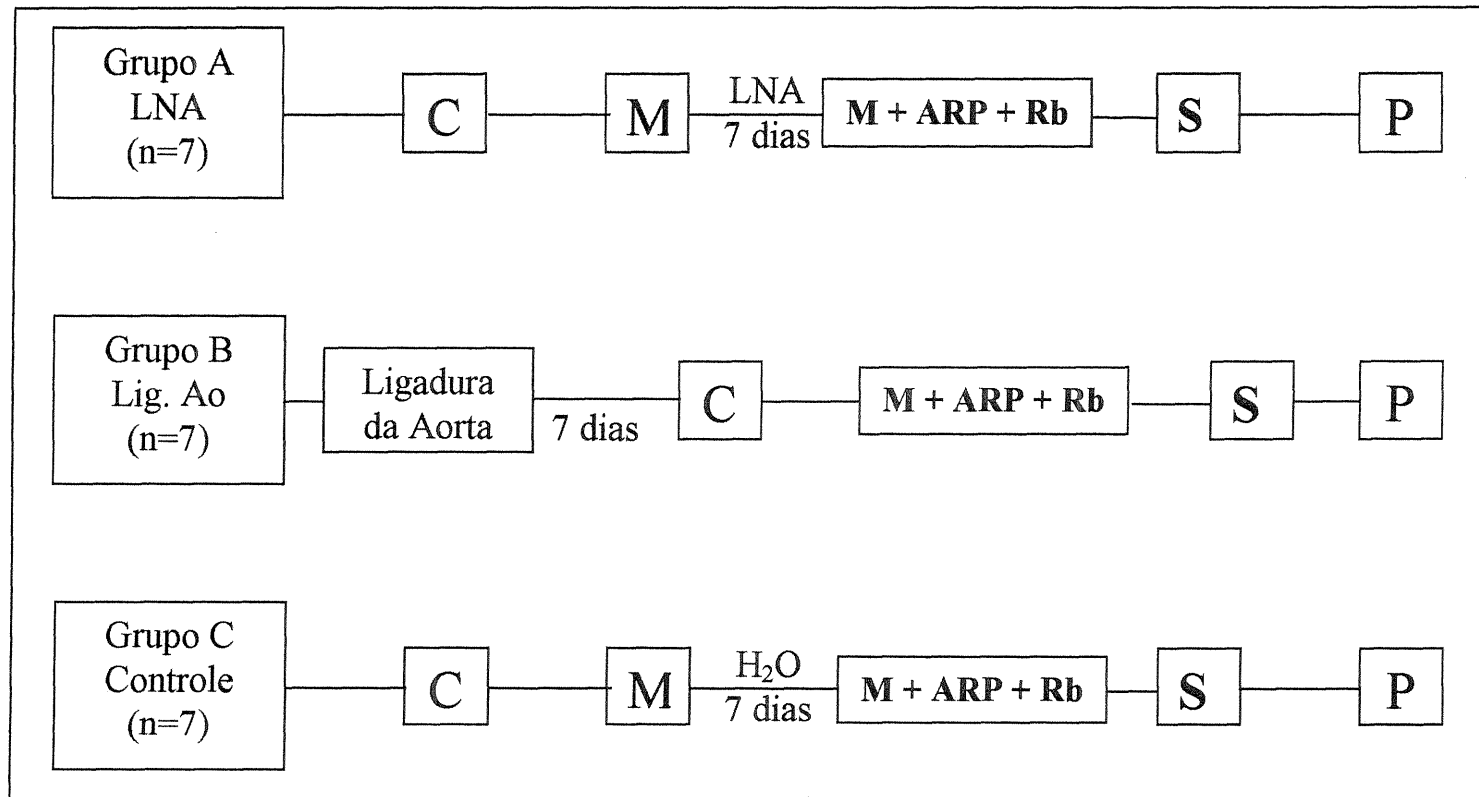
3.5. SEQUÊNCIA E PROTOCOLO EXPERIMENTAIS

Nos grupos A e C, a canulação foi realizada um dia antes do início do experimento, e as medidas de PA e FC foram realizadas no dia seguinte. Ao final do estudo, no sétimo dia, novas medidas de PA, FC, reflexos e também renina plasmática foram coletadas. Após, os animais foram sacrificados e um segmento de aorta torácica retirado. Retiramos e congelamos também os rins para estudo posterior.

No grupo B, no início do estudo, tentamos seguir o mesmo protocolo estabelecido para os demais grupos, mas, o que se observou é que a mortalidade em uma semana aumentava muito (70-80%), quando se canulava e ligava a aorta do animal desde o

primeiro dia. Portanto, neste grupo, optou-se por realizar a ligadura de aorta no primeiro dia e a canulação, com as medidas de PA, FC, reflexos e coleta de renina, apenas no sétimo dia. Após, os animais também foram sacrificados e o segmento de aorta torácica retirado. Também retiramos e congelamos os rins para estudo posterior.

Quanto às perdas, no grupo A, dois ratos morreram durante o estudo, um por sangramento por excesso de heparina na cânula e o outro de causa desconhecida. Um rato foi excluído do estudo porque o sal do LNA não foi bem diluído em água. No grupo B, a mortalidade, ao longo do estudo chegou a 50%. Por exemplo, de cada quatro ratos por semana em que se ligava a aorta, apenas um ou dois sobreviviam até o final do estudo. Ratos com peso superior a 250g. tinham maior mortalidade.



Protocolo experimental

Onde:

C: canulação

S: sacrifício do animal

P: patologia

MEDIDAS: inclui medidas de PA e FC

ARP: coleta da renina plasmática

Rb: reflexo barorreceptor

3.8. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DOS PRESSORRECEPTORES

Após o registro da PA e da FC, uma extensão de aproximadamente 20cm (PE_10) foi conectada na cânula venosa para posterior injeção de drogas vasoativas.

Fenilefrina (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente estimulador α_1 cuja ação predominante se dá nas arteríolas periféricas causando vasoconstrição, foi usada para provocar aumento da PA. Esse aumento da PA é normalmente seguido de bradicardia reflexa comandada pelos pressorreceptores.

Nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente vasodilatador direto tanto de arteríolas como de veias e cuja ação se dá por meio da ativação da guanilato ciclase e aumento da síntese e 3',5'- guanosina monofosfato (GMP cíclico) na musculatura lisa de vasos e outros tecidos, foi utilizada para provocar queda da PA. Essa queda é normalmente seguida por uma resposta taquicárdica reflexa comandada pelos pressorreceptores.

Após os animais terem permanecido em condições de repouso por 15 minutos, a sensibilidade dos pressorreceptores foi testada através da injeção em bolus de fenilefrina (0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 0,16; 0,32 μg) e nitroprussiato de sódio (0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 0,16 μg).

Fenilefrina e nitroprussiato foram injetados randomicamente entre os animais, iniciando-se a sessão com um ou outro fármaco nas suas doses sucessivas. O volume injetado foi de 0,1ml em cada dose. Foi observado um intervalo entre cada dose para que os valores de PA e FC retornassem aos níveis basais. O pico máximo ou mínimo da PAM foi registrado após cada dose de fenilefrina ou nitroprussiato e comparado aos valores de

PAM do período controle. Para cada injeção de droga, a variação máxima da FC foi comparada com os valores de frequência cardíaca do período-controle, imediatamente antes da injeção das drogas, para posterior quantificação das respostas. O índice de sensibilidade do reflexo foi avaliado pela razão entre as variações de FC e PAM (bpm/mmHg) em cada grupo estudado⁽¹⁷⁸⁾.

3.9. ATIVIDADE DA RENINA PLASMÁTICA (ARP)

A atividade da renina plasmática foi medida ao término do experimento em todos os grupos, geralmente 24 horas após as medidas de PA, FC e reflexo. No procedimento, eram colhidos 1ml de sangue em um tubo de ensaio com EDTA. Após a centrifugação, o plasma era colhido e congelado para análise posterior. A ARP foi medida por radioimunoensaio e expressa em ng (AngII/ml/h).

3.10. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Ao final do experimento, os animais eram sacrificados pelo método da decapitação. O segmento de aorta torácica foi retirado 1cm acima do sítio da ligadura de aorta no grupo B e nos demais grupos foi retirado na mesma altura da aorta torácica.

Os segmentos retirados foram colocados em formalina a 10%, colocados em blocos de parafina e levados ao Laboratório de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foram feitos cortes histológicos de 7 μ , corados com HE e analisados em microscópio com objetivas de 10X e 40X.

As células endoteliais foram consideradas aquelas que apresentavam um núcleo chato ligadas à lâmina elástica interna. As células foram consideradas de natureza inflamatória quando se observava um núcleo pequeno, em forma de anel aderido à superfície endotelial e em alguns casos infiltrando o espaço subendotelial. A análise histológica foi realizada por um observador “cego” quanto a origem dos segmentos de aorta estudados.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados são apresentados como média e desvio-padrão. Utilizamos análise de variância - ANOVA - e optamos por testes não paramétricos devido ao n reduzido. Para análise dos dados repetidos dos ratos de um mesmo grupo e entre dois grupos diferentes utilizamos ANOVA/ Wilcoxon, Mann-Whitney. Para comparar dados obtidos após medidas repetidas entre os três grupos utilizamos o Teste de Kruskal Wallis ⁽¹⁷⁹⁾. Para análise das variáveis categóricas – histologia – foi utilizado o Teste exato de Fischer. Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

5. RESULTADOS

5.1. EFEITOS DO LNA E DA LIGADURA DE AORTA SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E A FREQUÊNCIA CARDÍACA

5.1.1. Efeito sobre a pressão arterial nos três grupos em sete dias

Os dados de PA obtidos dos registros contínuos de 30 minutos de duração (batimento-a-batimento) dos animais está representado nas figuras a seguir. A medida basal da PAM no grupo A ($102 \pm 6\text{mmHg}$) no primeiro dia antes da intervenção, foi semelhante ao grupo controle (grupo C) ($103 \pm 5\text{mmHg}$). Ressalto que optamos por não realizar as medidas basais no grupo B porque a soma dos procedimentos de canulação e Lig Ao estavam elevando muito a mortalidade neste grupo. É provável que a PAM basal neste grupo fosse semelhante aos outros, pois os animais eram oriundos da mesma cepa. Após sete dias de estudo obtivemos um aumento significativo na PAM no grupo que recebeu LNA (102 ± 6 vs. $152 \pm 7\text{mmHg}$, $p=0.01$). Não se observou variação na PAM no grupo C (Figura 6).

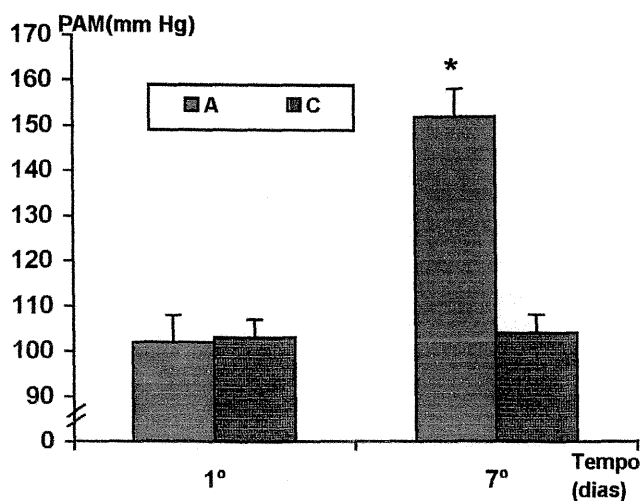


Figura 6 - Pressão arterial média (PAM) nos grupos A e C no 1º e 7º dias de estudo.

Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

Como observamos na figura 7, o grupo com o NO bloqueado (grupo A), bem como o grupo com ligadura de aorta (grupo B), obtivemos um aumento de PAM semelhante ao final do estudo (152 ± 7 vs. 149 ± 5 mmHg), a qual foi significativamente diferente dos valores obtidos no grupo controle (104 ± 4 mmHg). Também não encontramos diferença entre os grupos A e B com relação a PA diastólica e sistólica (139 ± 7 vs. 132 ± 5 mmHg) e (178 ± 14 vs. 185 ± 9 mmHg), respectivamente, durante o desenvolvimento da hipertensão em sete dias. Ver Tabela 1.

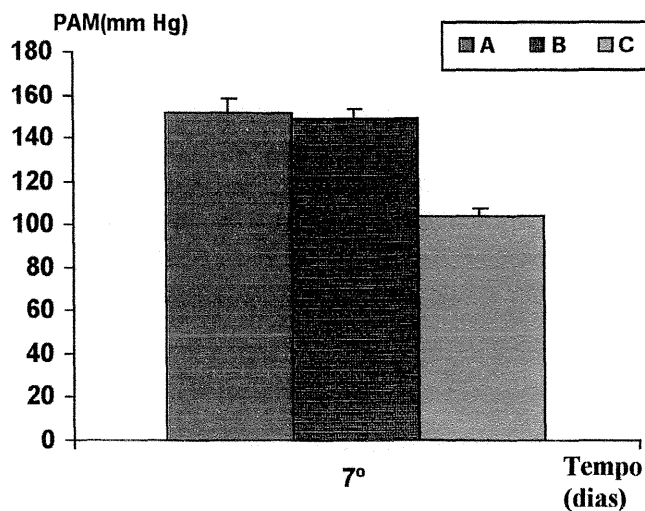


Fig. 7 - Pressão arterial média (PAM) nos grupos A, B e C no 7º dia de estudo. Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

TABELA 1

Representação das medidas de pressão arterial média (PAM), pressão arterial diastólica (PAD), sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC) nos grupos A, B e C no 7º dia de estudo.

Grupos	PAM (mm Hg)	FC (bpm)	PAD (mmHg)	PAS (mmHg)
A-LNA (n=7)	152±7 NS	463±16	139±7 NS	178±14 NS
B-Lig Ao. (n=7)	149±5	345±6	132±5	185±9
C-Control. (n=7)	104±4	369±17	93±5	126±6

Os dados foram apresentados como média e desvio-padrão e analisados por ANOVA. Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo

5.1.2. Efeito sobre a frequência cardíaca nos três grupos em sete dias:

No primeiro dia, a medida basal da FC nos grupos A e C foi semelhante (371 ± 15 bpm e 373 ± 10 bpm), respectivamente. Após sete dias, a FC no grupo A apresentou um aumento significativo comparado à medida inicial (371 ± 15 vs. 463 ± 16 bpm, $p=0,01$). A FC não variou no grupo C, conforme a Figura 8.

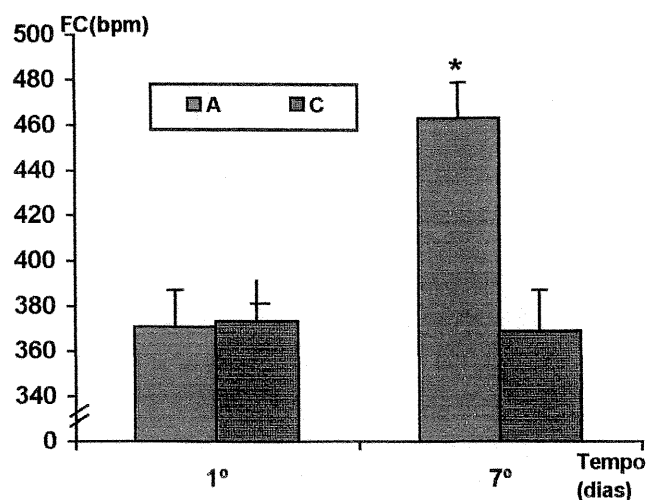


Figura 8 - Frequência cardíaca (FC) nos grupos A e C no 1º e 7º dias de estudo. Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

A comparação da FC nos três grupos, ao final do estudo, mostrou que os animais com o NO bloqueado apresentaram taquicardia (463 ± 16 bpm) comparado com os ratos com Lig Ao (345 ± 6 bpm) e os ratos-controle (369 ± 17 bpm). Sendo que não houve diferença na FC entre os grupos B e C (Figura 9).

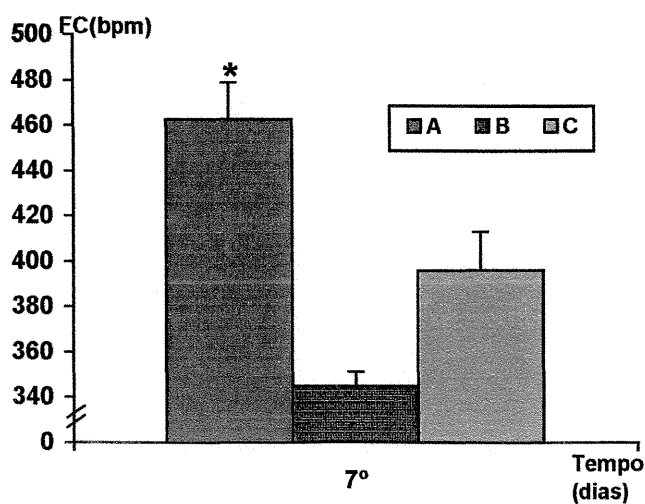


Figura 9 - Frequência cardíaca (FC) nos grupos A, B e C no 7º dia de estudo. Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

5.2. MEDIDA DA ATIVIDADE DA RENINA PLAMÁTICA (ARP)

A ARP, obtida ao término do estudo, não mostrou diferença entre o grupo A e C ($6 \pm 1,6$ vs. $5,7 \pm 0,9$ ngAngI/ml/h). Entretanto, a ARP foi significativamente maior no grupo com Lig Ao (12 ± 4 ngAngI/ml/h) (Figura 10).

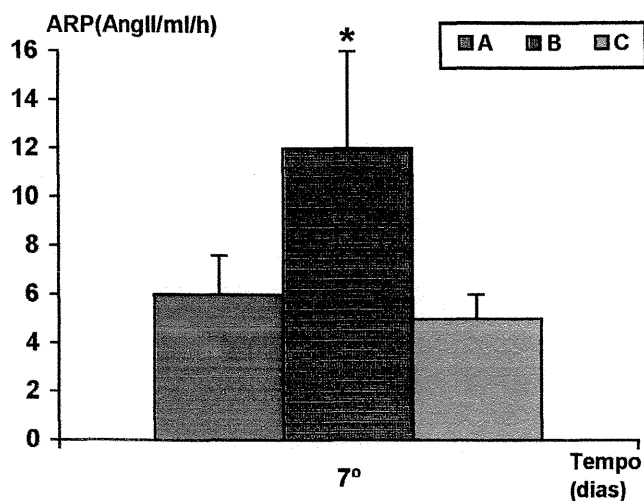


Figura 10 - Atividade da renina plasmática (ARP) nos grupos A, B e C no 7º dia de estudo. Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

5.3. AVALIAÇÃO DO REFLEXO BARORRECEPTOR

5.3.1. Bradicardia reflexa

A sensibilidade dos pressorreceptores para aumentos progressivos da pressão arterial foi avaliada através do índice calculado pela variação da FC (Δ FC) obtida após um determinado aumento de PAM (Δ PAM). O índice médio de cada grupo, obtido pela média de todas as respostas em cada animal, foi maior nos ratos tratados com LNA ($2,64 \pm 0,8$ bpm/mmHg) do que nos hipertensos por renina alta ($0,8 \pm 0,2$ bpm/mmHg) ou nos controles ($1,20 \pm 0,3$ bpm/mmHg).

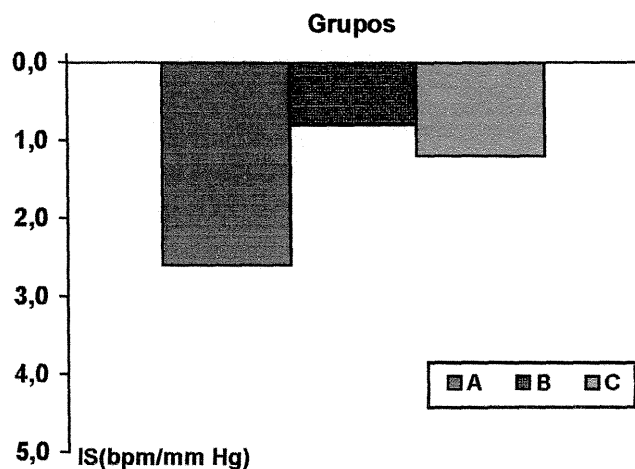


Figura 11 - Avaliação da resposta bradicárdica. Gráfico mostra o índice de sensibilidade (Is) do reflexo nos três grupos no 7º dia. Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

5.3.2. Taquicardia reflexa

A sensibilidade dos pressorreceptores, obtida após uma determinada queda de PAM (Δ PAM), também foi avaliada através do índice médio de cada grupo a partir da média de todas as respostas em cada animal. Tal índice mostrou que os ratos tratados com LNA não foram diferentes dos ratos-controle. ($3,0 \pm 2,0$ vs. $4,0 \pm 1,8$ bpm/mmHg), enquanto que os hipertensos por renina alta mostraram uma grande diminuição na sensibilidade ($0,9 \pm 0,3$ bpm/mmHg).

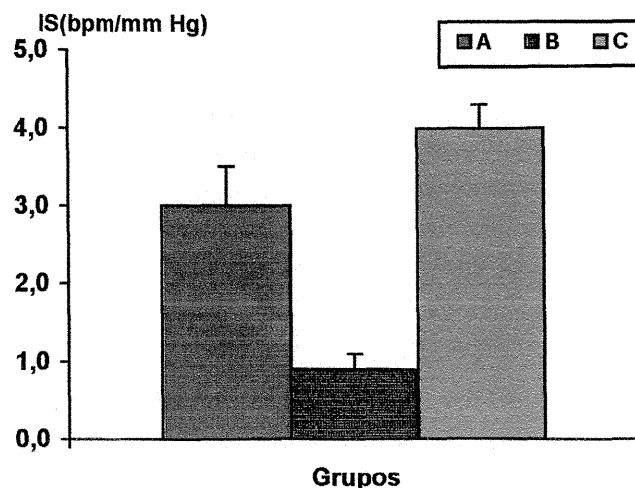


Figura 12 - Avaliação da resposta taquicárdica. Gráfico mostrando o índice de sensibilidade do reflexo (Is) nos três grupos no 7º dia de estudo. Um $p \leq 0,05$ foi significativo.

5.4. ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS SEGMENTOS DE AORTA NOS TRÊS GRUPOS

As células aderidas à superfície endotelial, de natureza inflamatória, foram observadas em 6/7 (86%) dos segmentos de aorta nos ratos com o NO bloqueado, em apenas 2/7 (29%) nos ratos com Lig Ao e em nenhum rato do grupo-controle. Apesar de não ter sido detectada diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B ($p = 0,10$), a comparação do grupo A com o grupo C foi significativa ($p = 0,004$), enquanto a comparação do grupo B com o C não foi significativa ($p = 0,46$).

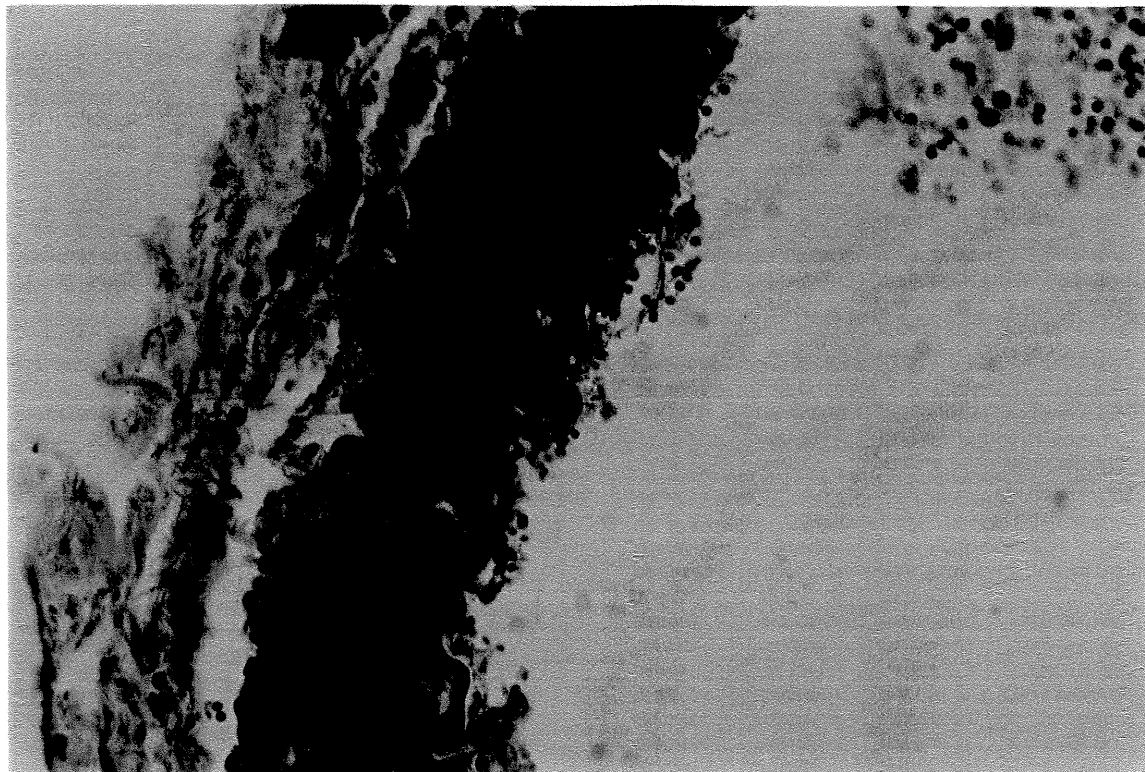


Figura 13 - Foto ilustrativa mostrando células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular de um rato do grupo A. Coloração histológica realizada com hematoxilina-eosina e microscopia óptica convencional com aumento de 40X.

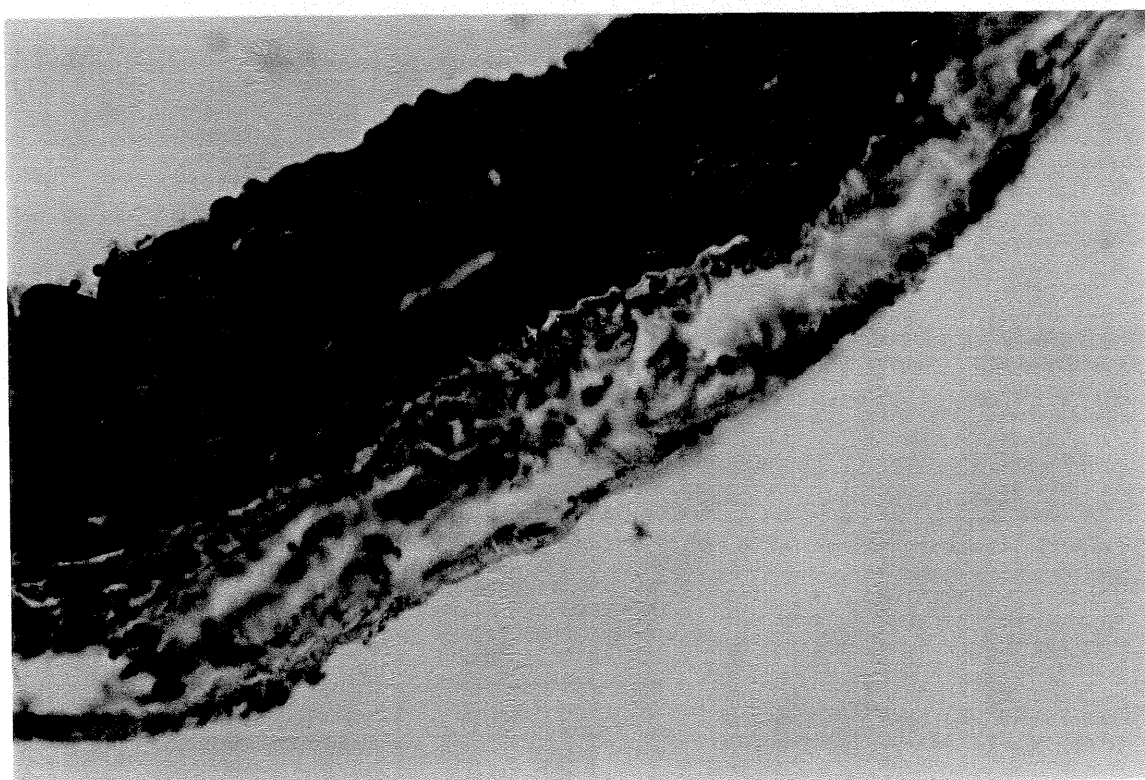


Figura 14 - Foto ilustrativa mostrando o endotélio vascular normal. Retirado de um rato do grupo C.

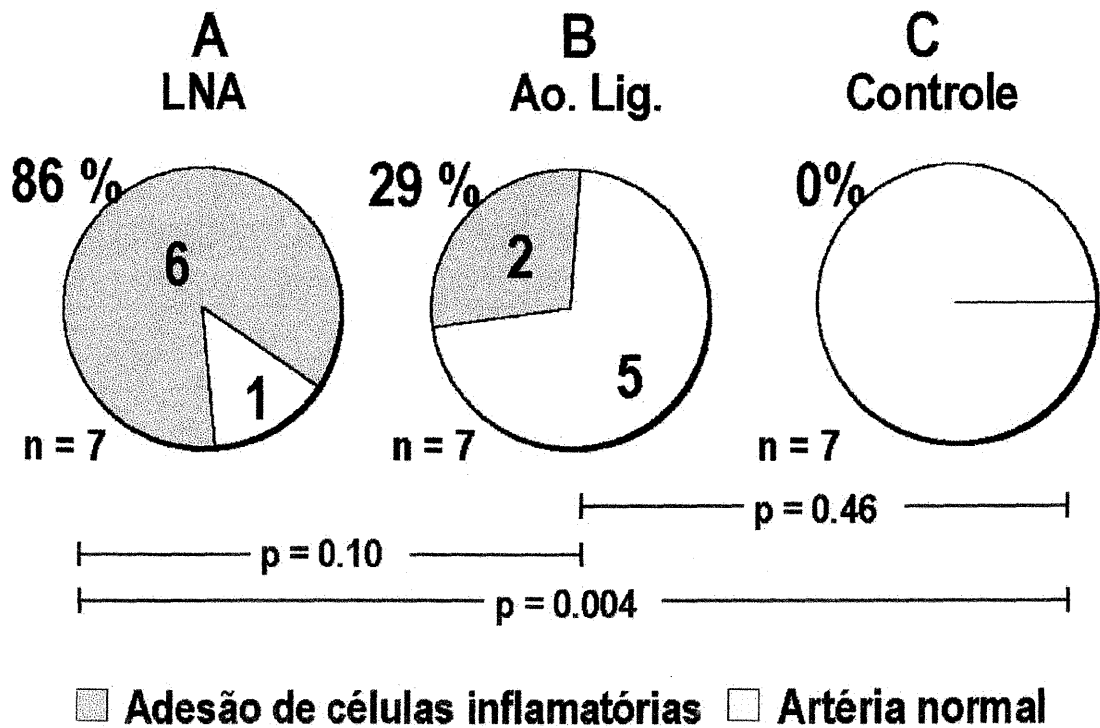


Figura 15 - O gráfico mostra a análise histológica dos segmentos de aorta nos grupos A, B e C no 7º dia de estudo. Os dados foram expressos em percentagem de células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular encontradas nos segmentos estudados. Um $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

6. DISCUSSÃO

Objetivamente, ao comparar os modelos de HA por inibição do NO com a Lig Ao em ratos encontramos:

- hipertensão arterial em níveis semelhantes nos dois grupos em sete dias;
- diferenças nos mecanismos de controle neuro-humorais da PA:
- frequência cardíaca, na atividade barorreflexa;
- atividade da renina plasmática;
- diferenças histológicas:
- a presença de células do tipo inflamatórias aderidas ao endotélio vascular.

6.1. QUANTO A PRESSÃO ARTERIAL

Embora diferentes mecanismos fisiopatológicos sejam responsáveis pelo desenvolvimento e pela manutenção da HA no grupo com o NO bloqueado e no grupo com Lig Ao, níveis tensionais semelhantes foram obtidos ao longo de uma semana. O interessante é que mesmo tendo comparado um modelo mecânico, Lig Ao, com um modelo farmacológico, inibição do NO, o aumento da PA encontrado foi semelhante.

Muitos estudos na literatura analisam os efeitos hemodinâmicos e metabólicos da hipertensão induzida pelo bloqueio do NO, assim como os mecanismos fisiopatológicos que contribuem para este novo modelo de hipertensão ^(132,180-183). No estudo atual, utilizando LNA na concentração de 2,74mM por via oral em 7 dias, obtivemos um aumento significativo nos níveis tensionais e um aumento na FC ⁽³⁰⁾. Tal achado vai ao encontro dos resultados obtidos por outros autores como Gardiner e cols., 1990, utilizando modelo de hipertensão semelhante com ratos Brattleboro (déficit genético de vasopressina) também obtivera um aumento da PA e uma redução na FC em sete dias. Este resultado conflitante comparado aos nossos achados em relação a FC pode ser atribuído às diferentes doses do inibidor do NO que são utilizadas (sendo que no estudo de Gardiner e cols., talvez nem todos os animais já tivessem adaptado seus pressorreceptores aos novos níveis tensionais).

Dananberg e cols., 1993, utilizando LNA na concentração de 2,74mM por sete dias, via oral, em ratos conscientes (Sprague-Dawley), demonstraram que a PA subiu significativamente, comparada ao grupo controle (156 ± 6 vs. 120 ± 9 mmHg) ⁽¹⁷⁶⁾. Os resultados obtidos em relação a PA foram semelhantes aos encontrados no nosso estudo.

Como se observou em nosso trabalho, a elevação da PA no grupo de ratos tratados com LNA reproduz os achados da literatura, e confirma que a administração oral de LNA pode servir como modelo de hipertensão crônica por deficiência de NO, possibilitando que novos estudos sejam realizados a fim de melhor avaliar a participação do endotélio na doença hipertensiva.

Ao contrário do modelo de HA por bloqueio do NO, os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no modelo de HA por Lig Ao entre as artérias renais são mais

conhecidos. Caracteriza-se por um modelo de HA com renina alta que tem sido utilizado por vários pesquisadores para estudar os mecanismos neuro-humorais que contribuem para a doença hipertensiva^(44,45,184-187). No estudo atual, observamos elevação da PA após sete dias de ligadura.

6.2. QUANTO À FREQUÊNCIA CARDÍACA E REFLEXO BARORRECEPTOR

Observamos, no estudo atual, que a participação da atividade simpática também pode estar contribuindo para as alterações endoteliais encontradas nos grupos A e B, pois encontramos diferenças no comportamento da FC e do barorreflexo em ambos os grupos estudados.

Verificamos que o grupo de ratos que recebeu LNA apresentou um aumento significativo na FC (463 ± 16 bpm) em sete dias de experimento, comparando com a medida basal (371 ± 15 bpm) com o grupo B (345 ± 6 bpm) e o grupo C (369 ± 17 bpm). É possível que a maior taquicardia no grupo A se deva ao curso temporal da hipertensão e à adaptação dos pressorreceptores aos novos níveis tensionais. Em outras palavras, provavelmente a taquicardia ocorreu porque houve uma adaptação dos receptores e um provável aumento no tônus simpático.

Alguns autores têm demonstrado que a hipertensão é acompanhada de bradicardia no bloqueio agudo do NO⁽²⁹⁾, provavelmente porque o reflexo ainda não tenha se adaptado. Dados semelhantes foram encontrados em coelhos e porcos, em que a inibição aguda do NO levou a bradicardia por mecanismo reflexo⁽¹⁸⁹⁾. Por outro lado, no bloqueio crônico do

NO ocorre taquicardia, indicando que já ocorreu adaptação do reflexo aos novos níveis tensionais. Tal achado é semelhante ao encontrado em nosso estudo.

São muitas as evidências que demonstram alterações na sensibilidade do reflexo comandado pelos pressorreceptores na hipertensão ^(1,13,191,193). Também é conhecida e detalhadamente estudada a adaptação aguda ou tardia deste reflexo durante o processo hipertensivo ⁽¹⁷⁾. Isto garante aos indivíduos hipertensos a manutenção deste importante mecanismo de controle da PA momento-a -momento, mesmo que com ganho menor ^(10,17,21,192).

Ribeiro e cols., 1992, sugerem que a vasoconstrição periférica, observada quando o NO é inibido, também pode ser consequência da hiperatividade simpática diretamente relacionada à inibição do NO, uma vez que é sabido que o NO é um neurotransmissor autonômico inibitório ^(42,194). Esta hiperatividade simpática pode ser responsável pela taquicardia encontrada neste modelo de hipertensão e também pode justificar a maior taquicardia encontrada no grupo A no estudo atual.

Na análise dos resultados dos reflexos no grupo A encontramos dados semelhantes àqueles encontrados por Vasques e cols., 1994, que verificaram que no bloqueio crônico do NO por seis dias havia um aumento no ganho do barorreflexo, indicando que a principal alteração do reflexo estava associada a uma resposta bradicárdica exagerada. Da mesma maneira, também verificamos na análise do reflexo, uma resposta bradicárdica exagerada aos aumentos de PA, mas uma resposta taquicárdica normal às quedas de PA. Como já descrito na literatura, é possível que no modelo de hipertensão por inibição do NO ocorra um aumento no tônus vascular e simpático cardíaco, bem como uma concomitante diminuição no tônus cardíaco vagal ⁽²⁹⁾.

A questão a ser levantada é por que ou qual mecanismo que leva ao aumento do ganho do reflexo na hipertensão por bloqueio do NO? Mais precisamente, o ganho observado refere-se ao aumento da bradicardia. Esta resposta poderia até ser esperada se considerássemos que a FC de repouso estaria aumentada, garantindo, na verdade, um aumento na resposta, mais por deslocamento da faixa de funcionamento do que uma melhora na sensibilidade.

A questão é polêmica, pois alguns autores têm demonstrado em seus estudos que o tratamento com L-NAME é acompanhado por uma progressiva atenuação do barorreflexo, o que poderia estar contribuindo para a vasoconstrição neurogênica e a hipertensão (19,22,42). Estes estudos não comprovam se a atenuação do barorreflexo é a causa e não a consequência da hipertensão. Em contrapartida, Qiu e cols., e outros sugerem que o tratamento com L-NAME é acompanhado por um reflexo barorreceptor normal ou mesmo aumentado (196,197). No presente estudo, nossos resultados na análise do barorreflexo, quando inibimos o NO, são semelhantes aos referidos por Vasquez e cols., 1994. É provável que os diferentes resultados encontrados na literatura, com relação ao comportamento do barorreflexo no modelo de hipertensão por inibição do NO, se devam-se a diferentes métodos, amostras, protocolos experimentais, inibidores do NO e principalmente ao tempo de estudo.

No grupo de ratos com Lig Ao, grupo B, obtivemos a medida da FC e do barorreflexo no sétimo dia do estudo. Na ocasião, observamos que a FC no grupo B (345 ± 6 bpm) não foi diferente do grupo controle (369 ± 17 bpm), mas foi menor que no grupo A (463 ± 16 bpm). Verificamos, portanto, que, para níveis tensionais semelhantes nos grupos A e B, obtivemos frequências cardíacas diferentes.

Na tentativa de elucidar algum mecanismo que pudesse estar contribuindo para a hipertensão e justificar o comportamento da FC no grupo B, também analisamos o barorreflexo. Observamos uma nítida atenuação na sensibilidade do reflexo, tanto na resposta bradicárdica quanto na taquicárdica. Isto implica dizer que a cada aumento da PA houve uma menor resposta bradicárdica e a cada queda da PA houve uma menor resposta taquicárdica.

Nossos dados sugerem que o reflexo estaria adaptado ou ajustado a níveis de PA mais elevados no modelo de hipertensão por ligadura de aorta. Já foi demonstrado que após 5 horas de clampeamento da aorta o baroreflexo está ajustado a um nível de PA mais elevado.

O modelo de Lig Ao, e o modelo de coactação de aorta são dois modelos mecânicos de hipertensão que cursam com níveis de renina elevados, isto é, há um importante aumento na atividade do sistema renina-angiotensina nestes dois modelos ⁽¹⁸⁵⁾. Brooks e cols., 1997, demonstrariam que a Ang II afeta o barorreflexo através de mecanismo dependente e independente de PA ⁽¹⁹⁸⁾. O sítio onde a Ang II atua no reflexo pode incluir os barorreceptores, o SNC, a bomba de sódio, prostaglandinas e o NO ⁽²⁷⁾.

Na verdade, a ativação do SRA pode alterar o baroreflexo de várias maneiras. Pode aumentar o volume extracelular através de aldosterona, da vasopressina, além de aumentar o tônus simpático periférico e no SNC pode até inibir diretamente o reflexo ^(184-186,199). Também verificou-se que o clampeamento da aorta tem sido associado com o aumento das catecolaminas na circulação sistêmica. Entretanto, Salgado e cols., 1994, no modelo de coactação aguda de aorta, não encontraram evidências da participação das catecolaminas

na fase inicial deste modelo de hipertensão. No estudo, atual não avaliamos a participação das catecolaminas sobre o barorreflexo⁽¹⁸⁵⁾.

Moreira e cols., 1994, avaliando a participação da Ang II e a ECA na alteração do barorreflexo no modelo de Lig Ao, observaram que o aumento da Ang II afeta mais a resposta bradicárdica (deprimida) do que a resposta taquicárdica do barorreflexo. Logo, concluíram que neste modelo a bradicardia reflexa é mais rapidamente afetada⁽¹⁸⁸⁾.

Nossos dados apontam para uma piora no barorreflexo no grupo B nos dois sentidos, tanto na resposta bradicárdica quanto na taquicárdica. Provavelmente isto se deva a ação central da Ang II endógena, conforme já demonstrado em inúmeros trabalhos na literatura^(27,42,184-187,199).

No grupo B, onde há uma hiperatividade do SRA, nossos resultados são confirmatórios de outros trabalhos na literatura, inclusive de nosso laboratório, em que fora demonstrado atenuação da sensibilidade do controle reflexo da FC. Vale lembrar, entretanto, que embora tenha sido demonstrado que a Ang II tenha uma ação facilitatória sobre a atividade simpática, não foi encontrado aumento tônico de atividade simpática basal nesse modelo⁽²⁰⁰⁾.

Por outro lado, no grupo A, com o NO bloqueado, não encontramos uma redução na sensibilidade do reflexo. O aumento na bradicardia reflexa pode talvez ser explicado pelo aumento da FC basal. De qualquer forma, o grupo A mostrou hiperatividade simpática: aumento da FC basal e da resposta taquicárdica.

Em síntese, a hipertensão provocou alterações das respostas reflexas de FC. Na Lig Ao houve alteração nos dois braços do reflexo: bradicardia e taquicardia. No grupo com

NO bloqueado, a resposta taquicárdica normal pode representar um aumento de atividade simpática, se considerarmos os níveis basais de FC.

6.3. QUANTO À ATIVIDADE DA RENINA PLASMÁTICA

A medida da ARP no grupo com o NO bloqueado foi semelhante ao grupo controle ($6 \pm 1,6$ vs. $5,9 \pm 0,9$ AngI/ml/h) em uma semana de experimento. É provável que não tenha ocorrido uma elevação na ARP no grupo que recebeu LNA devido ao curto período de tempo estudado. Baseado em nossos achados, é possível inferir que, num primeiro momento, o SRA não esteja contribuindo para a elevação dos níveis tensionais neste modelo de hipertensão. Nossos achados vão ao encontro dos resultados obtidos por Ribeiro e cols., 1992, em que foram estudados ratos que usaram L-NAME, via oral, por quatro a seis semanas, onde se verificou que o aumento da ARP se dava a partir da quarta semana^(42,201). Recentemente, Knoblich e cols., 1996, demonstraram que o bloqueio do NO, por cinco a sete dias com L-NAME intraperitoneal, promove hipertensão associada com supressão da liberação de renina, além de provocar uma marcada diminuição do estímulo pressórico para estimulação da renina. O autor ainda sugere que deva haver pouco, se houver, ajuste compensatório do mecanismo barorreceptor intrarrenal para o controle da liberação renal de renina neste modelo⁽²⁰²⁾. Portanto, é provável que outros mecanismos fisiopatológicos – neuro-humorais, barorreflexo, vasoconstrictores locais, endotelina – estejam contribuindo para o aumento da PA quando bloqueamos o NO por uma semana.

É sabido que a ativação do SRA está relacionada com a manutenção da HA após o bloqueio crônico do NO^(144,201-204). Alguns estudos *in vitro* sugerem que o NO endógeno

inibe a liberação de renina (Vidal e cols.,1988); embora esta seja uma questão controversa (Baylis e cols.,1992). Sigmon e cols., 1993, demonstraram em ratos que a inibição do NO produz aumento na ARP. Já Navarro e cols., 1994, estudando o bloqueio do NO em ratos anestesiados, verificaram um aumento na PA sem que ocorresse aumento na ARP ⁽²⁰⁷⁾. Esses resultados contraditórios são consequência dos diferentes mecanismos que regulam a secreção da renina. O aumento da PA tende a diminuir a ARP, já o bloqueio do NO tende a aumentar a ARP. Portanto, o nível de renina depende do equilíbrio entre forças opostas. Além disso, os resultados discrepantes podem ter ocorrido devido as diferentes doses do inibidor do NO utilizado e ao tempo de estudo ^(203,20-207).

Em vários estudos experimentais com bloqueadores do NO foram encontrados níveis elevados de renina após as primeiras semanas de estudo ^(42,201,203,209,210). Segundo Yamada e cols., 1996, provavelmente, os níveis elevados de renina se devam a um desarranjo no parênquima renal, especialmente relacionado à isquemia glomerular observada neste modelo. Sugerem ainda, que a hiper-reninemia esteja contribuindo para o agravamento da hipertensão e também para o surgimento de HVE, numa fase mais tardia neste modelo de HA ⁽²¹¹⁾. Com base em nossos resultados, o início e a manutenção da HA, numa fase inicial, parecem não estar relacionados com os níveis circulantes da renina ⁽²⁰¹⁾.

Nossos resultados levantam questões sobre o porquê da não elevação da renina quando bloqueamos o NO por sete dias. Sigmon e cols., 1993, propuseram que isto fosse o resultado da combinação do aumento da pressão de perfusão renal e da retirada do tônus simpático renal. Outros, todavia, têm evidenciado que a supressão da renina pela inibição do NO possa ocorrer independentemente de mecanismos hemodinâmicos e neurais que regulam a secreção de renina ^(206,212).

Nossos resultados são consistentes com outros trabalhos publicados na literatura^(176,212), em que a inibição crônica do NO, nas semanas iniciais de estudo demonstraram baixos níveis de renina circulante^(42,201,203,211).

No estudo atual, observamos um aumento da ARP no grupo de ratos com Lig Ao. Certamente, um dos motivos que levaram ao aumento da ARP neste grupo foi a baixa pressão de perfusão renal, a qual constitui um dos principais estímulos para liberação de renina. Outro mecanismo de ação que pode estar envolvido na liberação de renina é a própria PA *per se*, pois está descrito que a tensão da parede vascular e a pressão transmural podem ser importantes componentes sinalizadores da hemodinâmica. Ao transmitir estes sinais para o aparato justaglomerular, pode haver ou não liberação de renina⁽²⁰²⁾. Nossos achados confirmam o que está descrito na literatura. Está bem documentado que o *clamp* de aorta acima das artérias renais promove uma hiperatividade do SRA⁽¹⁸⁵⁾. Fregonese e cols., 1995, confirmaram a relevância do SRA no modelo de coactação de aorta aguda em ratos com deficiência genética de vasopressina.

Como observamos, o modelo de HA por inibição crônica do NO não tem apenas uma causa. Não está claro que a remoção do efeito vasodilatador do NO esteja relacionada com outros sistemas de controle da PA. O importante a ser mencionado é que a doença hipertensiva, é de natureza multifatorial, havendo uma interação de fatores que atuam em diferentes fases do curso da doença, ora havendo a participação de um ou outro mecanismo fisiopatológico atuando preferencialmente⁽²⁰¹⁾.

Conforme indica o estudo atual é provável que o SRA não seja o mecanismo fisiopatológico responsável pelo aumento da PA na primeira semana de bloqueio do NO em ratos. Em contrapartida, o SRA parece ser o determinante das alterações na HA

renovascular. Entretanto, não se podemos excluir um papel em nível tecidual ou celular para o SRA na HA por LNA, assim como não se podemos ignorar as alterações do endotélio na hipertensão por renina alta.

6.4. QUANTO ÀS ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS ENDOTELIAIS

A disfunção do endotélio vascular e as alterações do NO têm sido muito estudadas na HAS. O estudo realizado, relacionando a presença de células inflamatórias aderidas ao endotélio na doença hipertensiva, representa uma nova linha de pesquisa para tentar elucidar ou compreender melhor o que ocorre na intimidade dos vasos na HAS. Atualmente, muito se fala em adesão, migração de células inflamatórias ao endotélio vascular lesado. A ativação inapropriada dos leucócitos na mediação da disfunção vascular, em vários modelos de inflamação, inclui estudos de isquemia/reperfusão, re-estenose pós-ACTP e inclusive a aterosclerose, daí a importância em elucidar o que acontece na hipertensão arterial, que constitui um dos principais fatores de risco para a doença aterosclerótica ^(213,215,217).

A proposta inicial do estudo apresentado é constatar a presença de células inflamatórias no endotélio vascular em dois modelos de hipertensão para verificar o papel independente do NO. No estudo atual, encontramos uma maior percentagem na adesão de células do tipo inflamatórias sobre o endotélio vascular na aorta torácica do grupo de ratos com o NO bloqueado.

Embora não tendo encontrado diferença estatisticamente significativa quanto à adesão de células inflamatórias ao endotélio vascular ($p=0,10$), entre os grupos com LNA e Lig Ao, a percentagem de células inflamatórias aderidas ao endotélio no grupo com Lig Ao

foi consideravelmente menor (29%) do que no grupo com LNA (86%). Curiosamente, na comparação dos grupos A e B com o controle, encontramos diferença significativa apenas com o grupo A. Com base apenas nas percentagens de células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular, nossos dados sugerem que na hipertensão arterial, a adesividade endotelial para leucócitos possa estar mais relacionada ao bloqueio do NO do que a hipertensão *per se*, pois o aumento da PA *per se* provavelmente não influencia diretamente a adesão de células inflamatórias ao endotélio vascular, visto que ambos os grupos (A e B) foram expostos aos mesmos níveis tensionais, e observou-se maior adesão no grupo A. Além do que, não encontramos diferença na adesividade entre os grupos B (hipertenso) e o C (normotenso).

Rudic e cols., 1998, também sugerem que a hipertensão *per se* não atua diretamente sobre o remodelamento vascular anormal, e confirmam a importância da participação do NO para o remodelamento vascular. O estudo sugere que a participação da NOS endotelial é de vital importância, pois atuaria como um mecanossensor na superfície endotelial, mediando a liberação de NO conforme as alterações hemodinâmicas, regulando a renovação da matrix EC, a proliferação, a proliferação de células da musculatura lisa e a responsividade aos fatores de crescimento; eventos que estão intimamente relacionados com o processo de remodelamento vascular ⁽²¹³⁾.

Recentemente foi demonstrado que o endotélio vascular atua como um modulador intrínseco do fluxo sanguíneo e da estrutura vascular (53,56). Os achados no atual estudo, demonstrando a elevação da PA e a presença de células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular quando o NO é bloqueado, reforçam as propriedades antiadesivas do endotélio

vascular. Na realidade, não sabemos com certeza qual o papel ou a importância das células inflamatórias aderidas ao endotélio na doença hipertensiva.

Recentemente, outro estudo, realizado para avaliar a participação da elevação da PA sobre as alterações vasculares renais, também sugeriu que a PA elevada talvez não seja o principal fator associado com as alterações vasculares na doença hipertensiva, ressaltando a participação do endotélio vascular ⁽²⁰⁸⁾. Chatziantoniou e cols., 1998, analisando a nefropatia causada pela deposição de colágeno tipo 1 e o acúmulo de matrix EC na hipertensão, também verificaram que a inibição do NO induz a precoce ativação do gen que produz o colágeno tipo 1 nos glomérulos e arteríolas aferentes. Tal ativação precede a elevação da PA, sugerindo que a expressão deste gen sobre o rim, quando o NO é bloqueado, é independente do aumento da PA.

A taxa de renovação (*turnover*) endotelial tem sido considerada melhor indicador de lesão endotelial do que o exame visual da superfície, pois, quando lesados, os tecidos reparam-se rapidamente ⁽¹⁶⁷⁾. Owens e Reidy, 1985, demonstraram um aumento da renovação endotelial consequente a lesão endotelial nas aortas torácicas de ratos hipertensos com Lig Ao, mas não nas aortas abdominais, as quais não estavam expostas à alta pressão. No estudo atual, analisando apenas os segmentos de aorta torácica acima da Lig Ao, e, portanto, hipertensos, encontramos células inflamatórias aderidas ao endotélio da aorta torácica em 29% dos ratos com Lig Ao, o que não diferiu significativamente comparado ao grupo controle. Isto nos sugere que a PA elevada não teria afetado a adesão de leucócitos ao endotélio. Esses resultados podem ser decorrentes do tempo de desenvolvimento da HA, visto que Owens e Reidy obtiveram seus dados quatro a sete semanas após a Lig Ao, e o estudo atual foi realizado em apenas uma semana. Outra

possível diferença pode ter ocorrido devido ao reduzido tamanho da amostra em nosso estudo, assim como, pode estar se processando uma resposta adaptativa às alterações das forças hemodinâmicas atuando sobre a parede vascular e o endotélio^(4,214,215).

Embora nossos métodos de análise histológica dos segmentos de aorta torácica não nos permitam identificar qual o tipo de leucócito está aderido a superfície endotelial, muitos trabalhos na literatura têm demonstrado através de estudos utilizando imuno-histoquímica que os leucócitos mais encontrados são mononucleares (linfócitos, monócitos)⁽²¹⁶⁻²²⁶⁾.

Se analisarmos a adesão de leucócitos ao endotélio vascular nos grupos tratados A e B em separado, sem considerar o grupo controle, observaremos que não houve diferença estatisticamente significativa entre eles, apesar da percentagem de ratos com células inflamatórias aderidas ao endotélio ter sido muito maior no grupo A (86% vs. 29%). Considerando os achados estatísticos, em que não verificamos diferença na adesividade endotelial para leucócitos nos dois grupos estudados, podemos inferir que a PA elevada pode estar contribuindo para a gênese das alterações vasculares endoteliais. Além do que, a inibição do NO não teria um papel independente na adesão de células inflamatórias ao endotélio, ressaltando a importância da elevação dos níveis tensionais. Não podemos excluir que possa haver alguma alteração no NO que esteja contribuindo para hipertensão no modelo de Lig Ao, favorecendo a adesividade de leucócitos ao endotélio vascular, também neste grupo.

Como já apresentamos em nosso estudo, não obtivemos diferença significativa na adesão de leucócitos ao endotélio vascular dos ratos com Lig Ao e controle (29% vs. 0% - $P=0.46$). A impressão inicial é de que o nível de pressão arterial não tenha influenciado a adesividade endotelial para os leucócitos, ou que o comprometimento endotelial no grupo B

não tenha afetado a produção, liberação ou consumo de NO e que este possa estar até normal ou aumentado para compensar o aumento no tônus vascular devido ao aumento da PA. Alguns autores também acreditam nessa possibilidade ^(5,99,118,119).

É possível que, se obtivéssemos uma amostra e um tempo de observação maiores, poderíamos ter encontrado mais alterações inflamatórias na superfície endotelial do grupo de ratos com Lig Ao, pois é sabido que a função endotelial pode ser acometida em diferentes fases na evolução do processo hipertensivo ^(99,118). Portanto, conforme os achados do estudo atual, e baseado na literatura, é possível que a resposta inflamatória no endotélio vascular ocorra de modos e em tempos diferentes dependendo do tipo de hipertensão. Talvez a hipertensão com renina alta acometa a produção do NO e a adesividade endotelial mais tardiamente do que no modelo de hipertensão por inibição do NO.

Pucci e cols.,1994, observaram uma resposta vasoconstrictora ao L-NAME em segmentos de aorta torácica de ratos com hipertensão por coactação de aorta por 7 a 14 dias. Os segmentos de aorta abaixo da coactação, expostos a PA normal ou baixa não contraíram em resposta ao L-NAME ⁽³¹⁾. O autor ressalta a importância dos níveis tensionais elevados nas mudanças morfológicas e funcionais na parede vascular de ratos com coactação de aorta. Verificaram também que após 28-42d, o L-NAME já não mais provocava constrição nas aortas torácicas hipertensas de ratos com coactação de aorta e Doca-sal. Do estudo acima, depreende-se que a exposição da aorta à PA elevada é necessária, porém não o suficiente para provocar uma resposta constrictora da aorta ao L-NAME, e que o tempo de observação pode ser fundamental no acometimento da função

endotelial. Talvez anormalidades humorais, como a hiperatividade do SRA também estejam envolvidas neste processo ^(122, 227).

De fato, ao contrário da maioria dos estudos na literatura, alguns mostram que a liberação de NO de aortas isoladas é semelhante em ratos hipertensos e normotensos e que a resposta pressora e vasoconstrictora ao tratamento com inibidores do NO são semelhantes em ratos normotensos e SHR ⁽²²⁸⁾. Como já relacionamos, existem estudos que sugerem que a participação da PA elevada *per se* seja um dos fatores mais importantes na gênese das alterações vasculares na doença hipertensiva, porém outros estudos apontam para outros fatores, principalmente associados à função endotelial alterada, independentemente do nível tensional ^(208,222,230,232).

O papel da endotelina é controverso na hipertensão. Apesar de não termos avaliado a endotelina no estudo atual, reconhecemos sua importância como um prostanóide vasoconstrictor ⁽²³⁵⁾. Na HA, os níveis circulantes estão inalterados, exceto na presença de insuficiência renal e aterosclerose. Entretanto, a produção vascular local pode estar elevada ⁽²³³⁾. Além disso ⁽²³⁴⁾, sugere-se que haja uma pequena participação da endotelina na hipertensão crônica por L-NAME, bem como sobre as alterações na estrutura vascular.

Cheng e cols., 1996, sugerem um possível elo de ligação entre hipertensão e aterogênese. O autor verificou que a deformidade do vaso, determinada pela pressão arterial, induz a expressão da ICAM-1 contribuindo para adesão de monócitos às células endoteliais onde a deformidade causada pela pressão é maior, iniciando o processo de aterosclerose ⁽¹⁵⁹⁾. Após avaliar os resultados encontrados em diversos estudos citados acima, e baseado nos achados do estudo atual, podemos inferir que a importância dos

efeitos deletérios da elevação da PA *per se* estão intimamente relacionadas ao comprometimento da função endotelial ^(167,159).

Apesar de se tratar de diferentes modelos de hipertensão, em que diferentes variáveis são estudadas em tempos também distintos, alguns autores, como; Laurent e cols.; Pucci e cols.; Becerek e cols., Cheng e cols. sugerem que a elevação da PA seja um fator importante na gênese de lesões vasculares na doença hipertensiva. Entretanto, no estudo atual, acreditamos que a participação do endotélio vascular, mais precisamente do NO, seja o fator mais intimamente relacionado às lesões inflamatórias associadas a HAS e a aterosclerose ^(208,222,240).

Na verdade, torna-se difícil associar a patologia vascular encontrada na hipertensão com um ou outro mecanismo isoladamente, pois o que ocorre é uma constante interação entre os mais diversos agentes fisiopatológicos associados ao processo hipertensivo, como, por exemplo, as forças hemodinâmicas, a alteração endotelial, a ativação do SRA, os prostanóides vasoconstrictores e a hiperatividade simpática. Resta saber se as alterações nas forças hemodinâmicas que ocorrem na hipertensão seriam suficientes para gerar a ativação endotelial, e se, ativado, as alterações pró-inflamatórias endoteliais estariam associadas com mudanças na expressão fenotípica da parede vascular, determinando o desenvolvimento da aterosclerose ^(241,89).

6.4.1. Quanto ao tipo de vaso sanguíneo

No estudo atual, o vaso estudado foi a aorta torácica, um vaso de condução e não um vaso de resistência. Nos últimos anos, mais atenção tem sido dada às grandes artérias

na patofisiologia da HA e das doenças cardiovasculares^(164,249). Mudanças nas pequenas artérias são responsáveis pela elevação da PAM na HA. Entretanto, a amplitude da oscilação da PA, isto é, a pressão de pulso, é influenciada por mecanismos que envolvem as grandes artérias, principalmente através da diminuição na elasticidade ou na complacência. Vários fatores podem modificar as propriedades elásticas das grandes artérias (alteração na estrutura, elevada pressão transmural, substâncias vasoativas) e, portanto, afetar a função cardíaca e a circulação sistêmica levando a lesão vascular⁽²⁴⁹⁾.

A maioria dos estudos realizados para estudar as propriedades antiadesivas do NO são realizados analisando vênulas mesentéricas ou vênulas pré-capilares de ratos⁽²³⁰⁾. O estudo atual analisa a presença de células inflamatórias aderidas ao endotélio de vasos de condutância, no caso aorta torácica de rato. Apesar dessas diferenças nos métodos de estudo, como os diferentes tipos de vasos utilizados, nossos dados vão ao encontro da literatura, que confirma a presença de células aderidas ao endotélio quando o NO é bloqueado.

A importância em compreender melhor o que se passa nas grandes artérias é fundamental para a interpretação das complicações hipertensivas relacionadas com o coração e com os grandes vasos⁽²⁰⁴⁾. Na verdade, atualmente os vasos de condução, como a aorta, se constituem-se em um dos principais alvos para os efeitos da PA na gênese de lesões vasculares descritas ao longo da doença aterosclerótica^(164,239).

7. INTEGRAÇÃO

Considerando os resultados obtidos em nosso estudo, cabe-nos questionar o que poderia justificar a diferença na percentagem de células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular nos grupos hipertensos.

Quanto à PA, observamos, ao final do estudo, que ambos os grupos de ratos tratados atingiram níveis tensionais semelhantes, sugerindo que a resposta inflamatória pode não ter sido influenciada pelos níveis tensionais.

Quanto à FC, observamos que o grupo de ratos com o NO bloqueado apresentou uma resposta taquicárdica, já o grupo com Lig Ao não apresentou alteração na FC. É possível que o SNS esteja hiperativo no modelo de hipertensão por bloqueio do NO e que, talvez, este aumento no tônus simpático seja produto da inibição direta do NO, uma vez conhecida a ação da NOS no SNC ^(243,247). A questão a ser respondida é se essas alterações no SNS poderiam explicar as alterações estruturais de natureza inflamatória detectadas neste grupo de ratos. Pauletto e cols., 1991, encontraram evidências indiretas sobre o papel do SNS no desenvolvimento de doenças vasculares. Em experimentos utilizando simpaticolíticos verificaram que havia uma redução na hipertrofia da camada média e da aterogênese, melhorando não apenas a hemodinâmica, mas também os efeitos deletérios das catecolaminas sobre a parede arterial ⁽²⁴⁸⁾. Na tentativa de justificar a menor percentagem de células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular no grupo com Lig Ao, cabe ressaltar

que a FC não variou neste grupo e, portanto, não haveria uma hiperatividade adrenérgica participando das alterações estruturais encontradas neste modelo de HA.

Os resultados obtidos através da análise dos reflexos comandados pelos pressorreceptores mostram resposta taquicárdica normal no grupo LNA com FC basal aumentada, sugerindo desbalanço autonômico do controle da FC em direção ao dano simpático. O mesmo não aconteceu no grupo com Lig Ao, o qual, aliado aos dados prévios de literatura, sugerem uma diminuição do tônus simpático nesse grupo. Essa talvez seja a diferença mais importante entre os grupos hipertensos.

Quanto ao SRA, observamos ao final do experimento que ocorreu uma elevação na ARP no grupo com Lig Ao e não foi encontrada alteração na ARP no grupo com o NO inibido. Nesse caso, é improvável que o SRA esteja ativado no grupo com LNA e, portanto, não deve estar participando do estímulo para adesão de células inflamatórias ao endotélio vascular. É possível que, se o estudo fosse prorrogado por quatro a seis semanas, encontrássemos uma maior participação do SRA, conforme sugerem alguns estudos sobre este modelo ⁽⁴²⁾, e, possivelmente, novas alterações estruturais na parede dos vasos pudessem ser encontradas. Já no grupo com Lig Ao observamos que o aumento na ARP pode estar contribuindo para a adesão de células inflamatórias ao endotélio vascular (29%). O aumento na ARP compromete a integridade endotelial através da diminuição do NO e do efeito pró-inflamatório das angiotensinas ⁽⁴⁶⁾. Apesar de não termos avaliado a função endotelial no grupo com ligadura, é provável, com base na literatura ⁽¹⁸⁵⁾, que a função endotelial também esteja comprometida, possibilitando a adesão de células inflamatórias ao endotélio vascular, embora em menor percentagem comparado à inibição direta do NO, como podemos verificar em nossos achados.

8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

– O tamanho reduzido da amostra, principalmente devido a alta mortalidade dos ratos com peso superior a 220gr., que não sobreviviam por uma semana após a Lig Ao. Observamos que ratos com menos de 200gr. sobreviviam por mais tempo, porém não poderíamos utilizar ratos com menos de 200gr., porque obteríamos uma diferença no peso desses ratos ao comparar com os outros grupos. É possível que tal dificuldade possa ter influenciado nos achados da análise histológica dos grupos tratados.

– Ausência do grupo controle ideal para o grupo com Lig Ao. A maioria dos estudos, em que há alguma intervenção cirúrgica nos ratos, vem acompanhada por um grupo controle chamado *sham-operated*, no qual é realizada uma pequena cirurgia sem lesar o rato, apenas para gerar o estresse cirúrgico. Embora seja considerado o grupo controle ideal para comparação com grupos de estudo onde se realiza algum procedimento invasivo, alguns autores apontam que o controle ideal seria o placebo⁽²⁵⁰⁾.

– Análise histológica básica – HE. Na verdade, não podemos afirmar qual o tipo de célula que está aderida ao endotélio vascular da aorta, mas podemos caracterizá-la fenotipicamente, com razoável grau de segurança, como do tipo inflamatória. Não sabemos, portanto, se a célula aderida ao endotélio da aorta é um monócito, linfócito ou PMN. Baseado em estudos anteriores, pressupõe-se que haja um predomínio de monócitos e

linfócitos. Futuramente, seria necessário realizar um estudo de imuno-histoquímica para identificar o tipo de célula inflamatória observada neste estudo.

9. CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos em nosso estudo permite concluir que:

- Encontramos a presença de células inflamatórias aderidas ao endotélio vascular em 86% dos ratos com o NO bloqueado e em apenas 29% dos ratos com ligadura de aorta.
- Sugerimos que dependendo do modelo de hipertensão estudado é possível associar a doença hipertensiva com o processo inflamatório mediado pelas alterações endoteliais envolvendo a participação do NO.
- Ressaltamos que não obtivemos diferença estatisticamente significativa quanto à adesão de células inflamatórias nos grupos hipertensos, mas a comparação de ambos com o grupo controle sugere que tais alterações se devam antes pelo bloqueio do NO do que pela hipertensão apenas.
- As alterações no reflexo barorreceptor, bem como as alterações na atividade da renina plasmática sugerem que tanto o sistema nervoso autônomo como o sistema renina-angiotensina podem estar contribuindo para as alterações

histológicas de natureza inflamatória encontradas no endotélio vascular de ratos hipertensos.

- Novas pesquisas relacionando a hipertensão com o processo inflamatório em nível endotelial, assim como as influências neuro-humorais associadas, podem esclarecer melhor a relação existente entre a hipertensão arterial e a aterosclerose.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kaplan, N.M. (1994) *Clinical Hypertension*. 6th ed. Cap.3, pag. 44-108.
2. Lessa, I. (1998) *Epidemiologia da Hipertensão Arterial. O adulto brasileiro e as doenças da modernidade. Epidemiologia das doenças crônicas não-transmissíveis*. São Paulo – Rio de Janeiro. Ed: Hucitcec/Abraco, pag.77-96.
3. Fuchs, F.D.; Wannmacher, L. (1998) *Farmacologia Clínica*. 2^oed. Cap 44.
4. Bohr, D.F.; Dominiczak, A .F. & Webb, R.C. (1991) Pathophysiology of the vasculature in hypertension. Hypertension; 18(5):(supp III): III-69 – III-75.
5. Dominiczak, A.F.; Bohr, D.F. (1995) Nitric oxide and its putative role in hypertension. Hypertension; 125(6):1202-1211.
6. Ichikawa, M.; Suziki, H.; Kumagai, K.; Ryuzaki, M.; Kumagai, H.; Jimbo, M.; Nishizawa, M.; Saruta, T. (1994) Effects of antihypertensive agents on baroreceptor function in early hypertensive rats. Hypertension; 24: 808-815.
7. Persson, B.P. (1996) Modulation of Cardiovascular control mechanisms and their interaction. Physiological Reviews; 76: 193-244.

-
8. Irigoyen, M.C.; Moreira, E.D.; Fumio, I.; Pires, M.; Cestari, I.A. ; Krieger, E.M. (1995) Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. Hypertension; 26 (parte2): 1111-1116.
 9. Osborn, J.W. (1997) The sympathetic nervous system and long-term regulation of arterial pressure: what are the critical questions? Clin Exp Pharmacol Physiol; 24:1,68-71.
 10. Krieger, E.; Michelini, L. (1992) Dados básicos sobre a manutenção da pressão arterial. Rev Soc Cardiol ESP; 4: 9-17.
 11. Zanchetti, A. & Mancia, G. (1991) Cardiovascular reflexes and hypertension. Hypertension; 18(suppl III): III-13—III-21.
 12. Julius, S. (1993) Sympathetic hyperactivity and coronary risk in hypertension. Hypertension; 6(part 2): 886-893.
 13. Chapleau, M.W.; Hajduczuk, G. & Abboud, F.M. (1989) Peripheral and central mechanisms of baroreflex resetting. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology; 15:31-43.
 14. Shepherd, T.J. (1990) Cardiac Mechanoreceptors. The Heart and Cardiovascular System-New York. Raven Press; 1986: 1535-1558.
 15. Marshall, J.M. (1994) Peripheral chemoreceptors and cardiovascular regulation. Physiological Reviews; 74(3).
 16. Salgado, H.C.; Fazan Jr, R.; Salgado, M.C.O. (1995) Bases fisiológicas da regulação da pressão arterial in: Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial Mion Jr, D.; Nobre, F.; Oigman, W. Atheneu, São Paulo - 1-17.

-
17. Krieger, E.M. (1989) Arterial Baroreceptor Reseting in hypertension clinical and experimental. Pharmacology and physiology; supl 15: 3-17.
 18. Moyses, M.R.; Cabral, A.M.; Bissoli, N.; Vasques, E.C. (1994) Time course of changes in sigmoidal- fitting baroreceptor curves in one-kidney, one clip hypertensive rats. Hypertension; 23(spl.I) : I-87 - I-92.
 19. Xie,P.; Chapleau,M.W; McDowell,T.S.; Hajduczock,G.; Abboud,F.M. (1990) Mechanism of decrease baroreceptor activity in chronic hypertensive rabbits: role of endogenous prostanoids. J Clin Invest; 86:625-630.
 20. Cheng, S.W.T.; Swords, B.H.; Kirk, A.K.; Becerek, K.H. (1989) Baroreflex function in lifetime – captopril treated espontaneously hypertensive rats. Hypertension; 13: 63-69.
 21. Sander, M.; Hansen, P.G.; Victor, R.G. (1995) Sympathetically mediated hypertension caused by chronic inhibition of nitric oxide. Hypertension; 26: 691-695.
 22. Umans, J.G.; Levi, R. (1995) nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure. Annu. Rev Physiol; 57: 771-790.
 23. Shapoval, L.N.; Sagach, V.F & Pobegailo, L.S. (1991) Nitric oxide influences ventro lateral medullary machanisms of vasomotor control in the cat. Neuroscience Letters; 132: 47-50.
 24. Paola, E.D.P.; Vidal, M.J. & Nistico, G. (1991) L- glutamate evokes the release of an endothelium-derived relaxiong factor-like substance from the rat nucleus tractus solitarius. Journal of Cardiovascular Pharmacology; 17(supl 3): S269-S272.

-
25. Hansen, J.; Jacobsen, T.N.; Victor, G.R. (1994) Is Nitric oxide involved in the tonic inhibition of central sympathetic outflow in humans? Hypertension; 24: 439-444.
 26. Qiu, C.; Engels, K.; Samsell, L.; Baylis, C. (1995) Renal effects of acute amino acid infusion in hypertension induced by chronic nitric oxide blockade. Hypertension; 25: 61-66.
 27. Jin, J.; D'Alecy. (1995) Stimulation of endogenous nitric oxide pathway by L-arginine reduces declamp mortality and attenuates hypertension associated with aortic cross-clamp-induced hindlimb ischemia in rats. Hypertension; 26: 406-412.
 28. Matsuoka, H.; Nishida, H.; Nomura, G.; Vliet, B.N.V.; Toshima, H. (1994) Hypertension induced by nitric oxide synthesis inhibition is renal nerve dependent. Hypertension; 23(part 2): 971-975.
 29. Cunha, R.S.; Cabral, A.M.; Vasquez, E.C. (1993) Evidence that autonomic nervous system plays a major role in the L-NAME-induced hypertension in conscious rats. Am J of Hypertension; 6: 806-809.
 30. Gardiner, M.S.; Compton, A.M.; Bennett, T.; Palmer, R. M. J.; Moncada, S. (1990b) Control of regional blood flow by endothelium-derived nitric oxide. Hypertension; 15: 486-492.
 31. Chapleau, M.W.; Cunningham, J.T.; Sullivan, M.J.; Wachtel, R.E.; Abboud, F.M. (1995) Structural versus functional modulation of the arterial baroreflex. Hypertension; 26: 341-347.

-
32. Laragh, J.H.(1992). The renin system and four lines of hypertension research. Nephron heterogeneity, the calcium connection, the prorenin vasodilator limb, and plasma renin and heart attack. Hypertension; 20:267-279.
 33. Katz, A.M. (1992) Is angiotensin II a growth factor masquerading as a vasopressor? Heart Dis Stroke; 1: 151-154.
 34. Robertson, S.J.; Nicholls, M.G. (1993) The Renin Angiotensin System. Merck Sharp & Dohme.
 35. Arnal, J.; Amrani, A.E.; Chatellier, G.; Ménard, J.; Michel, J. (1993) Cardial weight in hypertension induced by nitric oxide synthase blockade. Hypertension; 22: 380-387.
 36. Hackenthal, E.; Paul, M.; Ganten, D. & Taugner, R. (1990) Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion. Physiological Reviews; 70(4):1067-1116.
 37. Nava, E. & Lüscher, T.F. (1995) Endothelium-derived vasoactive factors in hypertension: nitric oxide and endothelin. Journal of Hypertension; 13(Suppl 2): S39-S48.
 38. Rees, D.; Ben-Ishay, D.; Moncada, S. (1996) Nitric oxide and the regulation of blood pressure in the hypertension-prone and hypertension -resistant Sabra rat. Hypertension; 28:3, 367-71.
 39. Ferrario, C.M. (1990) The renin-angiotensin system: importance in physiology and pathology. Journal of Cardiovascular Pharmacology; 15(Suppl.3): S1-S5.
 40. Frohlich, E.D. (1997) Arthus C. Corcoran memorial lecture. Influence of nitric oxide and angiotensin II on renal involvement in hypertension. Hypertension ; 29:1 Pt 2 , 188-193.

-
41. Vidal, M.G.; Romero, J.C.; Vanhoutte, P.M. (1988) Endothelium-derived relaxing factors inhibits renin release. Eur J Pharmacol;149:401-402.
 42. Ribeiro, M.O.; Antunes, E.; de Nucci, G.; Lovisol, S.M. & Zatz, R (1992) Chronic inhibition of nitric oxide synthesis . A new model of arterial hypertension. Hypertension; 20:298-303.
 43. Junior, H.M.; Nucci, de G. (1995) Hipertensão arterial e inibição crônica da síntese de óxido nítrico. HiperAtivo; (2):32-38.
 44. Rojo-Ortega, J.M. & Genest, J. (1968) A method for production of experimental hypertension in rats. Can.J.Physiol.Pharmacol;46: 883-885.
 45. Chatelain, R.E.; Drbello, P.M. & Ferrario, C.M. (1980) Experimental benign and malignant hypertension with malignant nephrosclerosis. J. Exp. Path.;61:401- 410.
 46. Nicoletti, A.; Heudes, D.; Mandet, C.; Hinglais, N.; Bariety, J.; Michel, JB. (1996) Inflammatory cells and myocardial fibrosis: spatial and temporal distribution in renovascular hypertensive rats. Cardiovasc Res; 32(6): 1096-1107.
 47. Soden, M.; Klett, C.; Hasmann, T.; Hackenthal, E. (1994) Angiotensinogen: An acute-phase protein? Hypertension; 23(Suppl I): I-126—I-130.
 48. Evora, P.R.B.; Pearson, P.G.; Discigil, B.; Seccombe, J.F. & Schaff, H.V. (1995) Endotélio e Oxido Nítrico: História, fisiologia e as primeiras observações relacionadas com a hipertensão arterial. HiperAtivo; 2 (2): 8-20.
 49. Furchgott, R.F. & Zawadzki, J.V. (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature; 288: 373-376.

-
50. Cherry, P.D.; Furchgott, R.F.; Zawadzki, J.V. & Jothianandan, D. (1982) The role of endothelial cells in the relaxation of isolated arteries by bradykinin. Proc. Nat. Acad. Sci.; 79: 2106-2110.
 51. Palmer, R.M.J.; Ferrige, A.G. & Moncada S.L. (1987) Nitric oxide accounts for the biological activity of endothelium - derived relaxing factor. Nature; 327: 524-526.
 52. Greenberg, S. & Diecke, F.P.J. (1988) Endothelium - derived relaxing and contracting factors: New concepts and new findings. Drug Dev. Res.; 12: 131-149.
 53. Moncada, S. (1992) The 1991 Ulf von Euler Lecture - The L -arginine: Nitric oxide pathway. Acta Physiol Scand ; 145: 201-227.
 54. Moncada, S.; Higgs, A. (1993) The L -arginine: Nitric oxide pathway. New England J. Med; 329: 2002-2012.
 55. Moncada, S.; Palmer, R.M.J.; Higgs, E. A. (1989) Biosynthesis of nitric oxide from L -arginine: A pathway for the regulation of cell function and communication. Biochem Pharmacol; 38: 1709-1715.
 56. Moncada, S.; Palmer, R.M.J.; Higgs, E. A. (1991) Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol. Rev.; 43: 109-142.
 57. Ignarro, L.J. (1990) Nitric oxide: A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. Hypertension; 16: 477-483.
 58. Ignarro, L.J. (1996) Role of nitric oxide in the pathophysiology of hypertension . Physiology and pathophysiology of nitric oxide. Kidney International; 49 (supl :55): pp. 5-2 - 5:5.

-
59. Conger, J.D. (1994) Endothelial Regulation of Vascular Tone. Hospital Practice; oct 15: 117-126.
 60. Billiar, R.T. (1995) Nitric oxide. Novel Biology with Clinical Relevance. Annals of Surgery; 221(4): 339-349.
 61. Cooke, J.P. & Dzau, V.J. (1997) Nitric oxide synthase: Role in the genesis of vascular disease. Annu.Rev Med.; 48: 489-509.
 62. Vanhoutte, P.M.; Boulanger, C.M. & Mombouli, J.V. (1995) Endothelium-derived relaxing factors and converting enzyme inhibition. Am.J.Cardiol.; 76: 3E-12E.
 63. Harrison, D. G.(1993) Physiological aspects of vascular endothelial cell interactions in hypertension and atherosclerosis. Acta Anaesthesiol Scand; 37,Suppl 99:10-15.
 64. Rees, D.D.; Palmer, R.M.; Hodson, H.F.; Moncada, S. (1989) A specific inhibitor of nitric oxide formation from L -arginina altenuates endothelium -dependent relaxation. Br. J. Pharmacol; 96: 418-424.
 65. Vanhoutte, P.M. (1989) Endothelium and control of vascular function. Hypertension; 13: 658-667.
 66. Marcus, A.J.; Broekman, M.J. (1996) Cell-Free hemoglobin as na oxygen carrier removes nitric oxide, resulting in defective thromboregulation. Circulation; 93: 208-209.
 67. Palmer, R.M.J.; Ferrige, A.G. & Moncada, S. (1987) Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature ; 327:524-526.

-
68. Vanhoutte, P.M.; Boulanger, C.M.; Mombouli, J.V. (1995) Endothelium-derived relaxing factors and converting enzyme inhibition. Am. J. Cardiol; 76(15): 3E-12E.
 69. Dinerman, J.L.; Lowenstein, C.J.; Snyder, S.H. (1993) Molecular mechanisms of nitric oxide regulation. Potential relevance to cardiovascular disease. Circulation Research; 217-222.
 70. Vane, J.R.; Anggard, E.E. & Botting, R.M. (1990) Regulatory functions of the vascular endothelium. N. Engl. J. Med; 323: 27-36.
 71. Lamontagne, D.; Pohl, U. & Busse, R. (1992) Mechanical deformation of vessel wall and shear stress determine the basal release of endothelium-derived relaxing factor in the intact rabbit coronary vascular bed. Circulation Research; 70: 123-130.
 72. Mehta, J.L.; (1995) Endothelium, coronary vasodilation, and organic nitrates. Am. Heart. J.;129:382-391.
 73. Radomski, M.W.; Palmer, R.M.J. & Moncada, S. (1987) Comparative pharmacology of endothelium - derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. Br. J. Pharmacol; 92: 181-187.
 74. Garg, U.C.; Hassid, A. (1989) Nitric oxide generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. J. Clin Invest; 83: 1774 -1777.
 75. Kaul, S.; Padgett, R.C.; Heistad, D.D. (1994) Role of platelets and leukocytes in modulation of vascular tone. Ann N.Y. Acad Sci; 714: 122-135.

-
76. Mugge, A.; Lopez, J.A.; Heistad, D.D.; Lichtlen, P.R. (1993) Vasoconstriction in response to activated leukocytes; implications for vasospasm. Eur Heart J.; 14 Suppl I: 87-92.
77. Gimbrone, M.A. Jr.; Buchanan, M.R. (1982) Interactions of platelets and leukocytes with vascular endothelium: in vitro studies. Ann N.Y. Acad Sci ; 401: 171-183
78. Pearson, J.D. (1994) Vessel wall interactions regulating thrombosis. British Medical Bulletin; 4: 776-788.
79. Ware, J.A. & Heistad, D.D. (1993) Platelet-endothelium interactions. Journal of Medicine; 328(9):628-635.
80. Batlouni, M.; Amodeo, C. (1995) Mecanismos de ação de drogas anti hipertensivas dependentes do Endotélio. HiperAtivo; (2):59-63.
81. Mugge, A.; Lopez, J.A.; Heistad, D.D.; Lichtlen, P.R. (1994) Effects of leukocytes on vascular tonus. Arzneimittelforschung ; 44(3A): 447-450.
82. Niu, X.; Smith, C.W.; Kubes, P. (1994) Intracellular oxidative stress induced by nitric oxide synthesis inhibition increases endothelial cell adhesion to neutrophils. Circ. Res.; 74: 1133-1140.
83. De Caterina, R.; Libby, P.; Peng, H.B.; Thannickal, V.J.; Rajavashisth, T.B.; Gimbrone, M.A. Jr.; Shin, W.S.; Liao, J.K. (1995) Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. J.Clin Invest; 96(1): 60-68.

-
84. Bath, P.M.; Hassall, D.G.; Gladwin, A.M.; Palmer, R.M.; Martin, J.F. (1991) Nitric oxide and prostacyclin. Divergence of inhibitory effects on monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium in vitro. Arterioscler Thromb; 11(2): 254 -260.
85. Kubes, P.; Suzuki, M.; Granger, D.N. (1991) Nitric oxide an endogenous modulation of leukocyte adhesion. Proc. Natl. Acad. Sci.; 88: 4651-4655.
86. Suematsu, M.; Tamatani, T.; Delano, F.A.; Miyasaka, M.; Forrest, M.; Suzuki, H. & Schmid-Schönbein (1994) Microvascular oxidative stress preceding leukocyte activation elicited by in vivo nitric oxide suppression. Am. J. Physiol. 266(Heart Circ. Physiol.35): H2410-H2415.
87. Mugge, A.; Heublein, B.; Lichtlen, P.R. (1992) Modulation of vascular tone of normal and arteriosclerotic arteries by leukocytes. Z. kardiol; 81(7): 361-377.
88. Kurose, I.; Wolf, R.; Grisham, M.B.; Granger, D.N. (1994) Modulation of ischemia/reperfusion-induced microvascular dysfunction by nitric oxide. Circ Res; 74(3): 376-382.
89. Luvarà, G.; Pueyo, M.E.; Philippe, M.; Mandet, C.; Savoie, F.; Henrion, D.; Michel, J.B. (1998) Chronic blockade of NO synthase activity induces a proinflammatory phenotype in the arterial wall. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology; 18: 1408-1416.
90. Yang, W.; Ando, J.; Korenaga, R.; Toyooka, T. & Kamiya, A. (1994) Exogenous nitric oxide inhibits proliferation of cultured vascular endothelial cells. Biochemical and biophysical research communications; 1160-1167.

-
91. Peiró, C.; Redondo, J.; Rodriguez-Martínez, M.A.; Angulo, J.; Marín, J.; Sánchez-Ferrer, C.F. (1995) Influence of endothelium on cultured vascular smooth muscle cell proliferation. Hypertension; 25(part 2): 748-751.
 92. Ziche, M.; Morbidelli, L.; Masini, E.; Amerini, S.; Granger, H.J.; Maggi, C.A.; Geppetti, P. & Ledda, F. (1994) Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P. J.Clin. Invest.; 94: 2036-2044.
 93. Scott-Burden, T. & Vanhoutte, P.M. (1993) The endothelium as a regulator of vascular smooth muscle proliferation. Circulation; 87(Suppl V): V-51—V-55.
 94. Carvalho, M.H.; Nigro, D.; Fortes, Z.B.; Scivoleho, R. (1994) Reatividade vascular, hipertensão arterial e endotélio. HiperAtivo; 2: 22-31.
 95. Luscher, T.F.; Noll, G. (1995) The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. Atherosclerosis; 118 Suppl: S81-S90.
 96. Belder, A. J.; Radomski, M.W. (1994) Nitric oxide in the clinical arena. Journal of Hypertension; 12: 617-624.
 97. Casino, P.R.; Kilcoyne, C.M.; Quyyumi, A.A.; Hoeg, J.M.; Panza, J.A. (1994) Investigation of decreased availability of nitric oxide precursor as the mechanism responsible for impaired endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic patients. J Am Coll Cardiol; 23: 844-50.
 98. Luscher, T.F. (1994) The endothelium and Cardiovascular Disease- A complex relation. N. Engl. J. Med; 330: 1081-1083.

-
99. Luscher, T.F. (1994) The endothelium in hypertension: bystander, target or mediator? J Hypertens; (suppl 12(10): S105-S116.
 100. Lockette, W.; Otsuka, Y.; Carretero, O. (1986) The loss of endothelium - dependent vascular relaxation in hypertension. Hypertension; 8(6 Pt 2): II61-II66.
 101. Vanhoutte, P.M. (1996) Endothelial dysfunction in hypertension. Journal of hypertension; 14(Suppl 5): S83-S93.
 102. Noll,G.; Tschudi, M.; Nava,E.; Luscher,T.F.(1997) Endothelium and high blood pressure. Int J Microcirc Clin Exp; 17(5):273-279.
 103. Panza, A.J.; Quyyumi,AA; Brush,E.J; Epstein, E.S. (1990) Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. N Engl J Med; 323:22-27.
 104. Panza, J.A.; Quyyumi, A.A.; Callahan, T.S.; Epstein, S.E.; Facc (1993) Effects of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. J. Am. Coll. Cardiol; 21: 1145-51.
 105. Panza, J. A.; Garcia, C. E.; Kilcoyne, C.M.; Quyyumi, A.A.; Cannon III, R.O. (1995) Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension. Evidence that nitric oxide abnormality is not localized tom a single signal transduction pathway. Circulation; 91: 1732-1738.
 106. Jameson, M.; Dai, F.; Lüscher, T.; Skopec, J.; Diederich, A. & Diederich, D. (1993) Endothelium-derived contracting factors in resistance arteries of young spontaneously hypertensive rats before development of overt hypertension. Hypertension; 21: 280-288.

-
107. Dzau, V.J. (1990) Atherosclerosis and hypertension : mechanisms and interrelationships. J. Cardiovasc Pharmacol; 15 Suppl 5: S59- S64.
108. Lloyd-Jones, D.M. & Bloch, K.D. (1996) The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. Annu.RevMed.; 47: 365-375.
109. Busse, R.; Fleming, I. (1996) Endothelial dysfunction in atherosclerosis. J. Vasc. Res.; 33(3): 181-194.
110. Bondjers, G.; Glukhova, M.; Hansson, G.K.; Postnov, Y.V.; Reidy, M.A.; Schwartz, S.M. (1991) Hypertension and atherosclerosis. Cause and effect, or two effects with one unknown cause? Circulation;84(6 Suppl): VI2-VI16.
111. Zeiher, A.M.; Drexler, H.; Saurbier, B.; Just, H. (1993) Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. J. Clin Invest; 92(2): 652-662.
112. Lahera, V.; Navarro-Cid, J.; Cachofeiro, V.; García-Estan, J.; Ruilope, L.M. (1997) Nitric oxide, the kidney, and hypertension. Am J. Hypertens; 10:1, 129-140.
113. Taddei, s.; Viridis, A.; Ghiadoni, L.; Salvetti, A.. (1998) The role of endothelium in human hypertension. Curr Opin Nephrol Hypertens; 7(2): 203-209.
114. Ross, R. (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature; 362(6423): 801-809.
115. Owens, G.K. & Reidy, M.A.(1985) Hyperplastic growth response of vascular smooth muscle cells following induction of acute hypertension in rats by aortic coactation. Circ Res; 57:695-705.

-
116. Cepinskas, G.; Noseworthy, R.; Kvietys, P.R. (1997) Transendothelial neutrophil migration. Role of neutrophil-derived proteases and relationship to transendothelial protein movement. Circ Res; 81: 618-626.
117. Camilleri, J.P.; Berry, C. L.; Fiessinger, J.B.; Sringer, V. (1989) Disease of the arterial system. Atlas de hipertensão – Cortesia do Laboratório Servier.
118. Cockcroft, J.R.; Chowienczyk, P.J.; Benjamin, N. & Ritter, J.M.; Phil, D. (1994) Preserved endothelium-dependent vasodilatation in patients with essential hypertension. N Engl J Med; 330: 1036-1040.
119. Xiao, J.; & Pang, P.K.T. (1994) Does a general alteration in nitric oxide synthesis system occur in spontaneously hypertensive rats? Am. J. Physiol. 266(Heart Circ. Physiol.35):H 272-H278.
120. Rizzoni, D.; Porteri, E.; Castellano, M.; Bettoni, G.; Muiesan, M.L.; Tiberio, G.; Giulini, S.M.; Rossi, G.; Bernini, G.; Agabiti-Rosei, E. (1998) Endothelial dysfunction in hypertension is independent from the etiology and from vascular structure. Hypertension; 31(part 2) : 335-341.
121. Li, J. & Bukoski, R.D. (1993) Endothelium-dependent relaxation of hypertensive resistance arteries is not impaired under all conditions. Circulation Research ; 72: 290-296.
122. Pucci, M.L.; Miller, K.B.; Dick, L.B.; Guan, H.; Lin, L.; Nasjletti, A. (1994) vascular responsiveness to nitric oxide synthesis inhibition in hypertensive rats. Hypertension; 23(part I): 744-751.

-
123. Boegehold, M.A. (1992) Reduced influence of nitric oxide on arteriolar tone in hypertensive dahl rats. Hypertension; 19: 290-295.
124. Ress, D.; Ben-Ishay, D.; Moncada, S. (1996) Nitric oxide and the regulation of blood pressure in the hypertension-prone and hypertension-resistant sabra rat. Hypertension; 28:367-371.
125. Luscher, T.F.(1992) Heterogeneity of endothelial dysfunction in hypertension. Eur Heart J; 13(suppl D): 50-55.
126. Dzau, V.J. & Gibbons, G.H. (1991) Endothelium and growth factors in vascular remodeling of hypertension. Hypertension; 18(Suppl III): III-115—III-121.
127. Dohi, Y.; Kojima, M.; Sato, K. (1996) Endothelial modulation of contractile responses in arteries from hypertensive rats. Hypertension; 28: 732-737.
128. Linder, L.; Kiowski, W.; Bühler, F.R. & Lüscher, T.F. (1990) Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Circulation ; 81: 1762-1767.
129. Kelm, M.; Feelisch, M.; Krebber, T.; Deuben, A.; Motz, W.; Strauer, B.E. (1995) Role of nitric oxide in the regulation of coronary vascular tone in hearts from hypertensive rats. Maintenance of nitric oxide -forming capacity and increased basal production of nitric oxide. Hypertension; 25: 186-193.
130. Rafflenbeul, W.(1994) Hypertension treatment and prevention of new atherosclerotic plaque formation. Drugs ;48 (suppl I) : 11-15.
131. Münzel, T.; Heitzer, T.; Harrison, D.G. (1997) The physiology and pathophysiology of nitric oxide / superoxide system. Herz; 22,(3):158-172.

-
132. Chobanian, A.V.; Alexander, R.W. (1996) Exacerbation of atherosclerosis by hypertension. Potential mechanisms and clinical implications. Arch Intern Med;156:17,1952-1956.
133. Zeiher, A.M.; Fisslthaler, B.; Schray-Utz, B.; Busse, R. (1995) Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cultured human endothelial cells. Circ Res; 76(6): 980-986.
134. Suzuki, H.; Swee, A.; Zweifach, B.W.; Schmid-Schönbein, G.W. (1995) In vivo evidence for microvascular oxidative stress in spontaneously hypertension rats. Hydrothidine microfluorography. Hypertension; 25: 1083-1089.
135. Alexander, R.W. (1995) Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: A new perspective. Hypertension; 25: 155-161.
136. Lin, P.J.; Chang, C.H. (1994) Endothelium dysfunction in cardiovascular diseases. Chang Keng I.Hsueh;17(3): 198-210.
137. Loscalzo, J. (1995) Endothelial injury, vasoconstriction, and its prevention. Tex Heart Inst J ; 22(2):180-184.
138. Arndt, H.; Smith, C.W. & Granger, D.N. (1993) Leukocyte-endothelial cell adhesion in spontaneously hypertensive and normotensive rats. Hypertension; 21: 667-673.
139. Carlos, T.M. & Harlan J.M.(1994) Leukocyte-endothelial adhesion molecules. Blood;84(7):2068-2101.
140. Bevilacqua, M.P.; Nelson, R.M.; Mannori, G. & Cecconi, O. (1994) Endothelial-leukocyte adhesion molecules in human disease. Annu. Rev Med.; 45: 361-78.

-
141. Nigro, D.; Sannomiya, P.; de Carvalho, M.H.C.; Scivoletto, R.; Fortes, Z.B. (1994) Spontaneously Hypertensive versus control rat aorta response to neutrophil-derived factors. Hypertension; 24: 728-733.
142. Gauthier, T.W.; Davenpeck, K.L. & Lefer, A.M. (1994) Nitric oxide attenuates leukocyte-endothelial interaction via P-selectin in splanchnic ischemia-reperfusion. Am. J. Physiol.267(Gastrointest. Liver Physiol. 30): G562-G568.
143. Gaboury, J.P.; Niu, X.; Kubes, P. (1996) Nitric oxide inhibits numerous features of mast cell-induced inflammation. Circulation; 93: 318-326.
144. Sunano, S.; Sekiguchi, F.; Takeuchi, K.; Shibutani, S.; Matsuda, K.; Shimamura, K. (1996) Attenuation of intrinsic active tone by endothelium-derived nitric oxide in aortae of spontaneously hypertensive rats with different levels of blood pressure. Clin Exp Hypertens; 18:6,873-890.
145. Kubes, P.; Gaboury, J.P. (1996) Rapid mast cell activation causes leukocyte-dependent and-independent permeability alterations. Am J. Physiol; 271:6 Pt 2, H2438-2446.
146. Gaboury, J.; Woodman, R.C.; Granger, D.N.; Reinhardt, P.; Kubes, P. (1993) nitric oxide prevents leukocyte adherence, role of superoxide. Am. J. Physiol; 265 (Heart Circ.Physiol. 34) : H862-H867.
147. Chobanian, A.V. (1990) 1989 Corcoran lecture: adaptive and maladaptive responses of the arterial wall to hypertension. Hypertension; 15(6 Pt 2): 666-674.

-
148. Laurindo, F.R.M.; da Luz, P.L. (1995) Espécies ativas de oxigênio podem contribuir para aumento da resistência vascular periférica na hipertensão: Uma hipótese. *HiperAtivo*; 39-45.
149. Lüscher, T.F.; Noll, G. (1996) Endothelial function as na end-point in intervention trials: concepts, methods and current data. *J. Hypertens Suppl*; 14:2, S111-9, discussion S119-121.
150. Bevilacqua, M.P. (1993) Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annu. RevImmunol*; 11: 767-804.
151. Mehta, J.L.; Lawson, D.L.; Nicolini, F.A.; Ross, M.H. & Player, D.W. (1991) Effects of activated polymorphonuclear leukocytes on vascular smooth muscle tone. *Am J. Physiol*.30(Heart Circ. Physiol. 30): H327—H334.
152. Van der Wal, A.C.; Das P.K.; Tigges, A.J.; Becker, A.E. (1992) Adhesion molecules on the endothelium and mononuclear cells in human atherosclerotic lesions. *Am J. Pathol*; 141(6): 1427-1433.
153. Serrano, C.V.jr.; Ramires,J.A; Venturinelli, M.; Arie, S.; D'Amico,E.; Zweier,J.L.; Pileggi, F.; Luz, P.L. (1997) Coronary angioplasty results in leukocyte and platelet activation with adhesion molecule expression. Evidence of inflamatory responses in coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*;29(6):1276-1283.
154. Niu, X.; Ibbotson, G.; Kubes, P. (1996) A balance between nitric oxide and oxidants regulates mast cell-dependent neutrophil-endothelial cell interactions. *Circ Res*; 79: 992-999.

-
155. Folkow, B. (1995) Hypertensive structural changes in systemic precapillary resistance vessels: how important are they for in vivo haemodynamics? Journal of Hypertension; 13: 1546-1559.
156. Glagov, S.; Zarins, C.; Giddens, D.P., Ku, D.N. (1988) Hemodynamics and atherosclerosis. Insights and perspectives gained from studies of human arteries. Arch Pathol Lab Med; 112(10): 1018-1031.
157. Davies, P.F. & Tripathi, S.C. (1993) Mechanical stress mechanisms and the cell na endothelial paradigm. Circulation Research; 72: 239-245.
158. Folkow, B.; Hallbäck, M.; Lundgren, Y.; Sivertsson, R. & Weiss, L. (1973) Importance of adaptive changes in vascular design for establishment of primary hypertension, studied in man and in spontaneously hypertensive rats. Circulation Research; 32,33(suppl1):I-2 I-13.
159. Cheng, J.J.; Wung, B.S.; Chao, Y.J.; Wang, D.L. (1996) Cyclic strain enhances adhesion of monocytes to endothelial cells by increasing intercellular adhesion molecule-1 expression. Hypertension; 28(3):386-391.
160. Buga, G.M.; Gold, M.E.; Fukuto, J.M. & Ignarro, L.J. (1991) Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. Hypertension; 17: 187-193.
161. Hishikawa, K.; Nakaki, T.; Marumo, T.; Suzuki, H.; Kato, R.; Saruta, T. (1995) Pressure enhances endothelin-1 release from cultured human endothelial cells. Hypertension; 25:449-452.
162. Safar, M. (1996) Arteries in clinical hypertension. 2^oEd. Paris- France.

-
163. Provost, P.; Merhi, Y. (1997) Endothelium-derived nitric oxide decreases polymorphonuclear leukocyte interaction with the deeply injured arterial wall under intermediate and shear conditions. Thromb Haemost; 78(2): 939-46.
164. Safar, M.E. & Laurent, S. (1993) Behaviour of conduit arteries in hypertension. Clin Exp Hypertens; 15(6): 1033-1045.
165. Davies, P.F.; Remuzzi, A.; Gordon, E.J.; Dewey, C.F. Jr.; Gimbrone, M.A. Jr. (1986) Turbulent fluid shear stress induces vascular endothelial cell turnover in vitro. Proc Natl Acad Sci; 83(7): 2114-2117.
166. Golledge, J.; Turner, R.J.; Harley, S.L.; Springall, D.R. & Powell, J.T. (1997) Circumferential deformation and shear stress induce differential responses in saphenous vein endothelium exposed to arterial flow. J. Clin. Invest.; 99: 2719-2726.
167. Bell, D.R.; Bohr, D.F. (1991) Endothelium in functional aortic changes of coarctation hypertension. Am. J. Physiol; 260(4 Pt 2): H1187-H1193.
168. Miller, M.J.; Pinto, A.; Mullane, K.M. (1987) Impaired endothelium-dependent relaxations in rabbits subjected to aortic coarctation hypertension. Hypertension; 10(2): 164-170.
169. Mulvany, M.J. (1994) Mechanical and other factors involved in vascular injury related to hypertension. Blood Press Suppl; 1: 11-17.
170. Davies, P.F. (1995) Flow-mediated endothelial mechanotransduction. Physiol.Rev ; 75: 519-560.
171. Davies, P.F.; Barbee, K.A.; Volin, M.V.; Robotewskyj, A.; Chen, J.; Joseph, L.; Griem, M.L.; Wernick, M.N.; Jacobs, E.; Polacek, D.C.; DePaola, N. & Barakat, A.I.

-
- (1997) Spatial relationships in early signaling events of flow-mediated endothelial mechanotransduction. Annu.Rev Physiol; 59: 527-549.
172. Qiu, H.Y.; Henrion, D.; Levy, B.I. (1994) Alterations in flow-dependent vasomotor tone in spontaneously hypertensive rats. Hypertension; 24: 474-479.
173. Tsao, P.S.; Buitrago, R.; Chan, J. R.; Cooke, J. P. (1996) Fluid flow inhibits endothelial adhesiveness nitric oxide and transcriptional regulation of VCAM-1. Circulation;94(7):1682-1689.
174. Gooch, K.J.; Dangler, C.A. & Frangos, J.A. (1997) Exogenous, basal, and flow-induced nitric oxide production and endothelial cell proliferation. J.Cell. Physiol; 171: 252-258.
175. Girerd, X.; London, G.; Boutouyrie, P.; Mourad, J.; Safar, M.; Laurent, S. (1996) Remodeling of the radial artery in response to a chronic increase in shear stress. Hypertension; 27(part 2): 799-803.
176. Dananberg, J.; Sider, R.S. & Grekin, R.J. (1993) Sustained hypertension induced by orally administered nitro-L-arginine. Hypertension; 21: 359-363.
177. Irigoyen, M. C.; Moreira, R. D.; Moreira, E. D.; Krieger, E. M. (1991) Central Neural Mechanisms in blood pressure regulation. High-renin renal hypertension depresses the baroreflex control of heart-rate and sympathetic activity. Cap 18 : 252-262.
178. Farah,V.M.; Moreira, E.D.; Pires, M.D.; Irigoyen, M.C.C.; Krieger, E.M.(1999) Comparison of three methods for determination of baroreflex sensitivity in conscious rats. Brazilian J and Biological Res;32:361-369.

-
179. Wayne W.D.(1978) Applied Nonparametric Statistics.
180. Panza, J.A.;Casino, P.R.; Kilcoyne, C.M.; Quyyumi, A.A.;Facc (1994) Impared endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension: evidence that the abnormality is not at the muscarinic receptor level. J. Am. Coll. Cardiol.; 23: 1610-6.
181. Panza, J. A .; Quyyumi, A .A .; Brush, J.E.; Jr & Epstein, S.E. (1990) Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. N. Engl. J. Med.; 323: 22-7.
182. Francischett, A.E.; Faguicles, V.G.A.; França, M.F. (1995) Endotélio vascular.Um importante sistema cibernético vaso-modulador e cuja disfunção participa do processo hipertensivo. Arq. Bras. Cardial; 64:53-68.
183. Hropot, M.; Grötsch, H.; Klaus, E.; Langer, K.H.; Linz, W.; Wiemer, G.; Schölkens, B.A . (1994) Ramipril prevents the detrimental sequels of chronic. No synthase inhibition in rats : hypertension, cardiac hypertrophy and renal insufficiency. Archives of Pharmacology; 350: 646-652.
184. Salgado, H.C.; Fazan, R. Jr.; Machado, B.H.; Salgado, M.C. (1992) Mechanical and neuro-humoral factors in acute aortic coarctation hypertension. Agents Actions Suppl; 36:,152-163.
185. Salgado, H.C.; Skelton, M.M.; Salgado, M.C.; Cowley, A.W.Jr (1994) Physiopathogenesis of acute aortic coarctation hypertension in conscious rats. Hypertension; 23:1 Suppl, 178-81.

-
186. Fregoneze, J.B.; Salgado, M.C.; Salgado, H.C. (1994) Effect of median eminence lesion on the hypertensive response due to acute aortic coarctation. Am J Physiol; 267:3 Pt 2, R762-6.
187. Fregoneze, J.B.; Salgado, M.C.; Castro e Silva, E.J.; Salgado, H.C. (1995) hypertensive response to acute aortic coarctation in chronic vasopressin deficient states. Clin Exp Hypertens; 17:6,977-88.
188. Moreira, E.D.; Ida, F.; Pires, M.D.; Krieger, E.M. (1994) DuP 753 is more effective than captopril on baroreceptor function in high-renin hypertension. Hypertension; 23(Suppl I): I-64—I-67.
189. Okamura, T.; Ayajiki, K.; Toda, N. (1996) Neural mechanism of pressor action of nitric oxide synthase inhibitor in anesthetized monkeys. Hypertension; 28: 341-346.
190. Vasquez, E.C.; Cunha, R.S.; Cabral, A.M. (1994) Baroreceptor reflex function in rats submitted to chronic inhibition of nitric oxide synthesis. Brazilian J. Med Biol Res.; 27: 767-774.
191. Lantelme, P.; Lo, M. & Sassard, J. (1994) Decreased cardiac baroreflex sensitivity is not due to cardiac hypertrophy in N^G-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertension. Journal of Hypertension; 12: 791-795.
192. Silva, S.V.; da Silva, V.J.; Ballejo, G.; Salgado, M.C.; Salgado, H.C. (1994) Blockers of the L-arginine -nitric oxide-cyclic GMP pathway facilitate baroreceptor resetting. Hypertension; 23:1 Suppl, 160-3.

-
193. Jonas, J.V.; Floras, J.S. (1980) Baroreflex sensitivity changes during the development of Goldblatt Two-Kidney one-clip hypertension in rats. Clin. Sci; 59: 347-353.
194. Silva, V.J.D.; da Silva, S.V.; Salgado, M.C.O.; Salgado, H.C. (1994) Chronic converting enzyme inhibition facilitates baroreceptor resetting to hypertensive levels. Hypertension; 23(Suppl I): I-68—I-72.
195. Dzau, V.J. (1988) Circulating versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. Circulation; 77(Suppl I), I-4.
196. Qiu, C.; Engels, K.; Samsell, L.; Baylis, C. (1995) Renal effects of acute amino and infusion in hypertension induced by chronic nitric oxide blockade. Hypertension; 25: 61-66.
197. Myano, H.; Kawada, T.; Shishido, T.; Sato, T.; Sugimachi, M.; Alexander, J. Jr.; Sunagawa, K. (1997) Inhibition of No synthesis minimally affects the dynamic baroreflex regulation of sympathetic. Am J Physiol; 272:5 Pt 2, H2446-52.
198. Brooks, V.L. (1997) Interactions between angiotensin and the sympathetic nervous system in the long-term control of arterial pressure. Clin Exp Pharmacol Physiol; 24:1,83-90.
199. Liu, J.L.; Murakami, H.; Zucker, I.H. (1998) Angiotensin II-nitric oxide interaction on sympathetic outflow in conscious rabbits. Circ Res ; 82(4): 496-502.
200. Irigoyen, M.C.C. & Krieger, E. M. (1998) Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. Brazilian J of Med and Biol Res; 31(9): 1213-1220.

-
201. Henrion, D.; Dowell, F.J.; Levy, B.I.; Michel, J. (1996) In vitro alteration of aortic vascular reactivity in hypertension induced by chronic N^G-nitro-L-arginine methyl ester. Hypertension; 28: 361-366.
202. Knoblich, P.R.; Freeman, R.H.; Villarreal, D. (1996) Pressure-dependent renin release during chronic blockade of nitric oxide synthase. Hypertension; 28: 738-742.
203. Baylis, C.; Mitruka, B. & Deng, A. (1992) Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. J.Clin.Invest.; 90: 278-281
204. Zhang, J.; Meel, J.C.A.V.; Pfaffendorf, M.; Zhang, J.; Zwieten, P.A.V. (1994) Endothelium-dependent, nitric oxide -mediated inhibition of angiotensin II-induced contractions in rabbit aorta. European Journal of Pharmacology; 247-253.
205. Navarro, J.; Sanchez, A.; Sáiz, J.; Ruilope, L.M.; García-Estañ, J.; Romero, J.C.; Moncada, S. & Lahera, V. (1994) Hormonal, renal, and metabolic alterations during hypertension induced by chronic inhibition of NO in rats. Am. J. Physiol.267(Regulatory Integrative Comp. Physiol.36): R1516-R1521.
206. Sigmon, D.H.; Beierwaltes, W.H. (1993) Renal nitric oxide and angiotensin II interaction in renovascular hypertension. Hypertension; 22: 237-242.
207. Ruilope, L.M.; Lahera, V.; Rodicio, J.L. & Romero, J.C. (1994) Participation of nitric in the regulation of renal function: possible role in the genesis of arterial hypertension. Journal of Hypertension; 12: 625-631.

-
208. Chatziantoniou, C.; Boffa, J.; Ardaillou, R. & Dussaule, J. (1998) Nitric oxide inhibition induces early activation of type I collagen gene in renal resistance vessels and glomeruli in transgenic mice. J.Clin Invest.; 101: 2780-2789.
209. Ribeiro, M.O.; Antunes, E.; Muscará, M.N.; de Nucci, G.; Zatz, R. (1995) Nifedipine prevents renal injury in rats with chronic nitric oxide inhibition. Hypertension; 26: 150-155.
210. Beierwaltes, W.H. (1994) Nitric oxide participates in calcium-mediated regulation of renin release. Hypertension; 23(Suppl I): I-40—I-44.
211. Yamada, S.S.; Sasaki, A.L.; Fujihara, C.K.; Malheiros, D.M.A.C.; de Nucci, G.; Zatz, R. (1996) Effect of salt intake and inhibitor dose on by chronic nitric oxide blockade. Hypertension; 27: 1165-1172.
212. Reid, I.A.; Bui, H.; Chou, L. (1994) Role of nitric oxide in the renin and heart rate responses to β -adrenergic stimulation. Hypertension; 23(Suppl I): I-49—I-53.
213. Rudic, R.D.; Shesely, E.G.; Maeda, N.; Smithies, O.; Segal, S.S. & Sessa, W.C. (1998) Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodeling. J. Clin. Invest.; 731-734
214. Schwartz, S.M. (1984) Hypertension as a vascular response to injury. Hypertension; 6(6 Pt 2): III33-III37.
215. Garnier, L.F. (1993) [Arterial hypertension vascular remodelling and atherosclerosis]. J Mal Vasc; 18(1):6-11.

-
216. Kubes, P.; Granger, D.N. (1996) Leukocyte-endothelial cell interactions evoked by mast cells. Cardiovasc Res; 32:4, 699-708.
217. Clozel, M.; Kuhn, H.; Hefti, F.; Baumgartner, H.R. (1991) Endothelial dysfunction and subendothelial monocyte macrophages in hypertension . Effect of angiotension converting enzyme inhibition. Hypertension; 18(2): 132-141.
218. Kubes, P.; Kanwar, S.; Niu, X.F. & Gaboury, J.P. (1993) Nitric oxide synthesis inhibition induces leukocyte adhesion via superoxide and mast cells. Faseb J.; 7: 1293-1299.
219. Gaboury, J.P.; Niu, X.F.; Kubes, P. (1996) Nitric oxide inhibits numerous features of mast cell-induced inflammation.. Circulation ; 93:2, 318-326.
220. Ma, X.; Weyrich, A .S.; Lefer, D.J. & Lefer, A.M. (1993) Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil to coronary endothelium. Circulation Research. 72: 403-412.
221. Schmid-Schönbein, G.W.; Seiffge, D.; DeLano, F. A.; Shen, K. & Zweifach, B.W. (1991) Leukocyte counts and activation in spontaneously hypertensive and normotensive rats .Hypertension ;17: 323-330.
222. Tsao, P.S.; McEvoy, L.M.; Drexler, H.; Butcher, E.C.; Cooke, J.P. (1994) Enhanced endothelial adhesiveness in hypercholesterolemia is attenuated by L-arginine. Circulation; 89(5): 2176-2182.
223. Kubes, P. & Granger, D.N. (1992) Nitric oxide modulates microvascular permeability. Am. J. Physiol 262 (Heart Circ. Physiol, 31): H611-H615.

-
224. Harris, A.G. & Skalak, T.C. (1996) Effects of leukocyte capillary plugging in skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. Am. J. Physiol. 271(Heart Circ. Physiol. 40): H2653-H2660.
225. Niu, X.F.; Ibbotson, G.; Kubes, P. (1996) A balance between nitric oxide and oxidants regulates mast cell-dependent neutrophil-endothelial cell interactions. Circ Res; 79:5, 992-999.
226. Suzuki, H.; Schmid-Schönbein, G.W.; Suematsu, M.; DeLano, F.A.; Forrest, M.J.; Miyasaka, M.; Zweifach, B.W. (1994) Impaired leukocyte-endothelial cell interaction in spontaneously hypertensive rats. Hypertension; 24: 719-727.
227. Kato, H.; Hou, J.; Chobanian, A.V.; Brecher, P. (1996) Effects of angiotensin II Infusion and inhibition of nitric oxide synthase on the rat aorta. Hypertension; 153-158.
228. Fozard, J.R.; Part, M.L.(1991) Hemodynamic responses to NG-monomethyl-L-arginine in spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. Br J Pharmacol;102:823-826.
229. Van de Voorde, J.; Leussen, I. (1986) Endothelium-dependent and independent relaxation of aortic rings from hypertensive rats. Am J Physiol;250:H711-H717.
230. Luscher, T.F.; Dohi, Y.; Tanner, F.C.; Boulanger, C. (1991) Endothelium-dependent control of vascular tone: effects of age, hypertension and lipids. Basic Res Cardiol (Abstrat); 86 (suppl 2): 143-158.

-
231. Berecek, K.H.; Bohr, D. (1997) Structural and functional changes in vascular resistance and reactivity in the deoxycorticosterone acetate (Doca)-hypertensive pig. Circ Res; (suppl I):40;(5): I-146- I-152.
232. Laurent, S.; Lacolley, P.; Brunel, P.; Laloux, B.; Pannier, B.; Safar, M. (1990) Flow-dependent vasodilation of brachial artery in essential hypertension. Am J Physiol; 258(Heart Circ Physiol, 27): H1004-H1011.
233. Luscher, T.F.; Boulanger, C.M.; Dohi, Y.; Yang, Z.H. (1992) Endothelium-derived contracting factors. Hypertension; 19(2): 117-130.
234. Moreau, P.; Takase, H.; Küng, C.F.; Shaw, S.; Lüscher, T.F. (1997) Blood pressure and vascular effects of endothelin blockade in chronic nitric oxide-deficient hypertension. Hypertension; 29:3, 763-769
235. Levin, E.R. (1995) Endothelins. The New England Journal of Medicine; 333(6): 356-362.
236. Lusinskas, F.W. & Gimbrone, M.A. (1996) Endothelial-dependent mechanisms in chronic inflammatory leukocyte recruitment. Annu. Rev Med.; 47: 413-421.
237. Heistad, D.D.; Lopez, J.A.G. & Baumbach, G.L. (1991) Hemodynamic determinants of vascular changes in hypertension and atherosclerosis. Hypertension; 17(suppl III): III-7-III-11.
238. Taddei, S. & Vanhoutte, P.M. (1993) Role of endothelium in endothelin-evoked contractions in the rat aorta. Hypertension; 21: 9-15.

-
239. Hayoz, D.; Brunner, H.R. (1997) Remodelling of conduit arteries in hypertension: special emphasis on the mechanical and metabolic consequences of vascular hypertrophy. Blood Press Suppl; 2: 39-42.
240. Holéciová, A.; Török, J.; Bernátová, I.; Pechánová, O. (1996) Restriction of nitric oxide rather than elevated blood pressure is responsible for alterations of vascular responses in nitric oxide-deficient hypertension. Physiol Res;45(4):317-321.
241. Wu, C.C.; Hong, H.J.; Chou, T.C.; Ding, Y.A.; Yen, M.H. (1996) Evidence for inducible nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. Biochem Biophys Res Commun; 228(2): 459-466.
242. Karam, H.; Heudes, D.; Bruneval, P.; Gonzales, M.; Löffler, B.; Clozel, M.; Clozel, J. (1996) Endothelin antagonism in end-organ damage of spontaneously hypertensive rats. Comparison with angiotensin-converting enzyme inhibition and calcium antagonism. Hypertension; 28: 379-385.
243. Moriguchi, S.; Ohzuru, N.; Koga, N.; Honda, K.; Saito, R.; Takano, Y.; Kamiya, H. (1998) Central administration of a nitric oxide synthase inhibitor causes pressor responses via the sympathetic nervous system and the renin-angiotensin system in wistar rats. Neurosci Lett; 245(2): 109-12.
244. K-Laflamme, A.; Oster, L.; Cardinal, R.; de Champlain, J. (1997) Effects of renin-angiotensin blockade on sympathetic reactivity and beta-adrenergic pathway in the spontaneously hypertensive rat. Hypertension; 30(2 Pt 1): 278-87.
245. Sander, M.; Hansen, P.G.; Victor, R.G. (1995) Sympathetically mediated hypertension caused by chronic inhibition of nitric oxide. Hypertension; 26(4): 691-5.

-
246. Sander, M.; Chavoshan, B.; Victor, R.G. (1999) A large blood pressure-raising effects of nitric oxide synthase inhibition in humans. Hypertension; 33(4): 937-42.
247. Qiu, C.; Engels, K. & Baylis, C. (1994) Angiotensin II and α_1 - adrenergic tone in chronic nitric oxide blockade-induced hypertension. Am. J. Physiol. 266(Regulatory Integrative Comp. Physiol. 35): R1470-R1476.
248. Pauletto, P.; Scannapieco, G. & Pessina, A.C. (1991) Sympathetic drive and vascular damage in hypertension and atherosclerosis. Hypertension; 17(Suppl III) : III-75—III-81.
249. Ferraro, A.; Palombo, C.; Distante, A.; L'Abbate, A. (1993) Arterial hypertension and arteries of large caliber. G Ital Cardiol; 23(9):921-932.
250. Fortes, Z.B.; Becker, C.; Oliveira, M.A.; Scivoletto, R. (1996) Influence of aldose reductase inhibition on the microvascular reactivity in experimental diabetes. General Pharmacol; 27(5):917-921.

11. ANEXO

PLANILHA DE DADOS COM TODOS OS RATOS ESTUDADOS

RATO	GRUPO	PESO	PAM1	PAM2	FC1	FC2	PAD1	PAD2	PAS1	PAS2	Cel. Infl.
1	A-LNA	0	97	144	385	499	86	128	118	175	sim
2	A	250	101	150	355	488	91	144	121	163	sim
3	A	293	115	150	345	490	106	140	135	169	não
4	A	210	104	143	380	399	100	133	111	163	sim
5	A	200	95	160	375	393	82	145	120	189	sim
6	A	999	104	158	374	478	89	139	135	195	sim
7	A	205	100	162	388	498	90	146	120	194	sim
1	B-LIG.AO	200	0	144	0	350	0	131	0	170	não
2	B	198	0	148	0	348	0	129	0	186	sim
3	B	205	0	146	0	341	0	132	0	176	não
4	B	200	0	148	0	354	0	130	0	184	não
5	B	210	0	148	0	346	0	126	0	192	sim
6	B	198	0	153	0	338	0	135	0	190	não
7	B	0	0	160	0	338	0	142	0	198	não
1	C-CONTR	240	104	106	355	375	95	94	122	126	não
2	C	245	103	101	375	338	90	86	130	131	não
3	C	200	114	112	379	374	102	100	136	136	não
4	C	205	101	102	388	384	91	92	120	122	não
5	C	198	100	108	378	386	92	101	118	124	não
6	C	0	101	102	370	354	90	90	124	126	não
7	C	204	98	99	368	378	91	90	112	118	não