



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO-SENSU
MESTRADO EM NEUROLOGIA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO
SUPRAFISIOLÓGICA DE BETACAROTENO EM
RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS
(SHR-SP)**

STENIO KARLOS ALVIM FIORELLI

Profa.Dra. Lucia Marques Vianna
ORIENTADORA

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO-SENSU
MESTRADO EM NEUROLOGIA

Dissertação apresentada ao término do Curso de Pós-Graduação Stricto-Sensu em Neurologia, Área de Concentração Neurociências, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

2006

FIGRELLI, Stênio Karlos Alvim

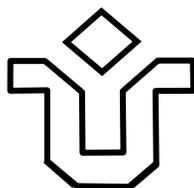
Efeitos da suplementação suprafisiológica de betacaroteno em ratos espontaneamente hipertensos (SHR-SP) / Stênio Karlos Alvim Fiorelli. Rio de Janeiro: UNIRIO / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2006.
xii 44f : il.; 30 cm.

Orientadores: Lucia Marques Vianna, Carlos Alberto Basilio de Oliveira.

Dissertação: grau de Mestrado (Neurologia – Neurociências) – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2006.

Referências Bibliográficas: f: 34-44.

1. Estresse Oxidativo. 2. Artéria Carótida 3. Marcadores Biológicos. 4. Ratos. 5. Acidente Vascular Encefálico. 6. Hipertensão Arterial Sistêmica. Neurologia – Tese. I. Vianna, Lucia M. II. Basilio-de-Oliveira, Carlos A. III. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Neurologia. IV. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO-SENSU
MESTRADO EM NEUROLOGIA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO
SUPRAFISIOLÓGICA DE BETACAROTENO EM
RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS
(SHR-SP)**

Por

STENIO KARLOS ALVIM FIORELLI

Dissertação de Mestrado

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Lucia Marques Vianna

Prof. Dr. Pietro Novellino

Prof. Dr. Alfredo Fiorelli

Conceito:.....

Rio de Janeiro, RJ – Brasil, 2006

HOMENAGEM

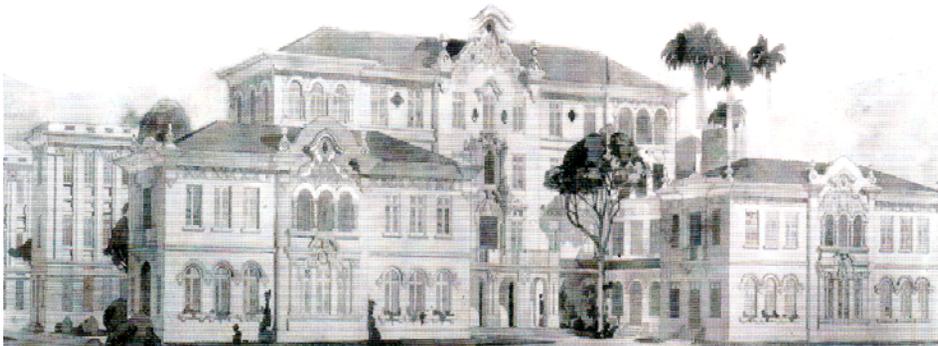
Esta dissertação foi apresentada quando:



*A UNIRIO – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
completou 26 anos de criação;*



*A Escola de Medicina e Cirurgia
alcançou 93 anos de existência;*



*e o Hospital Universitário Gaffrée e Guinle
comemorou o seu 76º aniversário de construção.*

DEDICATÓRIA

- Aos meus filhos, Henrique e Gabriel, renovação de minha vida, minhas maiores alegrias;
- À minha amada esposa, Juliana, pelo incentivo e carinho;
- Aos meus queridos pais, Humberto e Francisca, que me deram a vida e ensinaram-me a vivê-la com dignidade, iluminando os caminhos obscuros com afeto e dedicação. Os meus agradecimentos pelos sacrifícios que passaram para educar-me;
- Aos meus irmãos Lincoln e Rossano pela amizade, companheirismo e exemplo profissional;
- Ao Professor Emérito e Ex-Reitor Pietro Novellino, criador da Pós-Graduação Stricto-Sensu da Escola de Medicina e Cirurgia, modelo docente a ser seguido.

AGRADECIMENTOS

- Ao Curso de Mestrado em Neurologia da Escola de Medicina e Cirurgia da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, representado na figura ilustre da Profa. Dra Regina Alvarenga, baluarte na concretização da sonhada Pós-Graduação *Stricto-Sensu*, meus sinceros agradecimentos pela oportunidade, confiança e conhecimentos adquiridos;
- À Prof. Dra. Lúcia Marques Vianna, pesquisadora exemplar, pela confiança depositada no desenvolvimento dessa minha pesquisa, pela amizade, orientação e pelos inúmeros conhecimentos transmitidos;
- Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Basilio de Oliveira e ao Dr. Rodrigo Panno Basilio de Oliveira pela dedicada atenção, orientação e pela valorosa colaboração na análise histológica;
- Ao Corpo Docente do Curso de Mestrado em Neurologia da UNIRIO, por todos os ensinamentos alcançados;
- Aos colegas do Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônico-degenerativas da UNIRIO, a saber: Samanta Perez, Álvaro Padron e Gisele Oliveira, chefiados competentemente pela Prof. Dra. Lucia Marques Vianna, cuja prestimosa colaboração foi fundamental para execução deste estudo experimental;
- Aos companheiros do Curso de Mestrado m Neurologia da UNIRIO, pela amizade e conhecimentos adquiridos;
- Ao Prof. Roberto O. Silva pela revisão linguística;
- Ao Dr. Maurício Ribeiro Borges pela adequação gráfica desta tese aos modernos padrões de editoração eletrônica;
- Aos eficientes secretários do Curso de Mestrado, Suzana Gonçalves Gerszt e Luiz Eduardo da Cruz Veiga pela atenção e colaboração dispensadas.

EPÍGRAFE

Albert Einstein, físico alemão de origem judaica, que era anarquista por ideologia e assim sendo, desprezava a autoridade, conquistou um Prêmio Nobel de Física e, ao conquistá-lo em 1921, exclamou: “ Que discrepância! Eu que sempre tive aversão à autoridade tornei-me uma delas ”. Entretanto, não percebeu que independentemente da conquista do Nobel, tornou-se uma autoridade ao tornar-se Mestre e Cientista. Por isto, pode-se afirmar que todo Mestre que conquista seu título acadêmico torna-se uma autoridade, independentemente da outorga estatal.

A esperança de um caminho que me está aberto em direção aos mestres me faz seguir com mais coragem. Já estive na companhia deles, para cima é que se eleva meu pensamento e seus pensamentos chegaram a mim.

ÍNDICE DE FIGURAS E GRÁFICOS

• Figura 1. Geração dos radicais livres do oxigênio em condições de isquemia e reperfusão.	05
• Figura 2. Reações químicas responsáveis pela formação de radicais livres de oxigênio.	06
• Figura 3. Peroxidação lipídica da membrana celular iniciada pelo radical hidroxila.	07
• Figura 4. Molécula de β caroteno, fórmula estrutural e visão tridimensional.	11
• Figura 5. Esquema de representação da metodologia.	16
• Figura 6. Gaiola metabólica.	17
• Figura 7. Procedimento de Gavagem.	18
• Figura 8. Pletismógrafo e demonstração do procedimento de pletismografia.	20
• Figura 9. Extração de artérias carótidas e aorta.	22
• Figura 10. Parênquima hepático, ampliação 40 x (A) e 160 x (B).	26
• Figura 11. A, B, C e D, exame histopatológico demonstrando a parede arterial sem anormalidades nos ratos Wistar e elastose nos ratos SHR-sp.	27
• Gráfico 1. Os valores representam a $X \pm SD$ de animais (n= 12). Significância $p < 0,05$.	25
• Gráfico 2. Os valores representam a $X \pm SD$ dos níveis séricos de Malondialdeído dos ratos SHR-sp	26

LISTA DE ABREVIATURAS

AVE	Acidente Vascular Encefálico
AIT	Acidente Isquêmico Transitório
mmHg	Milímetros de mercúrio
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
ATP	Adenosina trifosfato
ERO	Espécies reativas de oxigênio
PUFA	Ácidos graxos polinsaturados
SHR	Rato espontaneamente hipertenso (<i>spontaneously hypertensive rat</i>)
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
Na	Sódio
Ca	Cálcio
SHR-sp	Rato espontaneamente hipertenso propenso ao AVE (<i>spontaneously hypertensive rat stroke-prone</i>)
WKY	Rato Wistar Kyoto
hs	Horas
°C	Graus Celsius
min/h	Minutos por hora
mg	Miligramas
ml	Mililitros
LINDCD	Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônicas Degenerativas
g	Gramas
MDA	Malondialdeído
rpm	Rotações por minuto
µm	nanômetros
µmol	nanomoles
mg/kg	miligramas por kilo
x	Variável
SD	<i>Standard-deviation</i>
UNIRIO	Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
O ₂	Oxigênio

RESUMO

INTRODUÇÃO: O estresse oxidativo está diretamente relacionado ao acidente vascular encefálico pela sua associação com a aterogênese e a hipertensão arterial sistêmica. Agentes antioxidantes com atividade pró-vitamina A como o β caroteno, têm sido estudados acerca de sua ação inibidora ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

OBJETIVO: Investigar o efeito da administração suprafisiológica de β caroteno sobre parâmetros biológicos (ectoscopia e pressão arterial), laboratoriais (malondialdeído) e histológicos (fígado e artérias carótidas) dos ratos espontaneamente hipertensos com tendência ao acidente vascular encefálico (SHR-sp).

MATERIAL E MÉTODO: Foram utilizados 36 ratos machos, distribuídos em três grupos distintos, contendo cada um 12 ratos das linhagens Wistar, SHR e SHR-sp. Cada grupo continha seis animais controle e seis animais tratados com doses suprafisiológicas de β caroteno por dois períodos de dez semanas, intercalados por uma semana de interrupção. Durante o experimento foram avaliados diariamente o exame físico e a pressão arterial (pletismografia). No sacrifício foi coletado sangue para dosagem sérica de malondialdeído, assim como, o fígado e as artérias carótidas para exame histológico.

RESULTADOS: O exame físico evidenciou apenas alteração provisória na coloração dos pêlos. Houve diminuição significativa ($p < 0,0001$) da pressão arterial com suplementação de 20 mg de β caroteno, assim como, nos níveis séricos de malondialdeído ($p < 0,05$). Histologicamente, o fígado estava íntegro, apenas aumento discreto da quantidade de fibras elásticas na parede arterial carótida dos ratos SHR e SHR-sp.

CONCLUSÃO: A suplementação suprafisiológica de β caroteno não causou efeitos tóxicos gerais ou hepáticos. Apresentou resposta positiva na modulação da pressão arterial e provocou diminuição na concentração sérica de malondialdeído, mas não foram encontradas alterações morfológicas significativas entre os diferentes grupos estudados, exceto um discreto aumento no número de fibras elásticas da camada muscular carotídea sugerindo elastose nos ratos SHR e SHR-sp.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The oxidative stress is directly related to encefalic vascular accident through its association with the atherogenesis and the systemic arterial hypertension. Antioxidative agents with pro-vitamin A activity as the β caroteno have been studied in regards to their inhibiting action and the development of cardiovascular diseases.

OBJECTIVES: Investigate the effect of the supraphysiological administration of β caroteno according to parameters: biological (ectoscopia, blood pressure), laboratorial (malondialdeido) and histological (liver and carotid arteries) of rats spontaneously hypertensive with a tendency to stroke (SHR-sp).

MATERIAL AND METHOD: 36 males rats were used. They were distributed in three distinct groups, each one containing 12 rats of Wistar, SHR and SHR-sp linkage. Each group had six control animals and six animals treated with supraphysiological doses of β caroteno for two periods of ten weeks each, with an interruption period of one week between them. During the experiment, the physical exam was evaluated daily and blood pressure (pletismography). In the sacrifice, blood was collected for the serial dosage of malondialdeido, as well as the liver and the carotid arteries for histological procedures.

RESULTS: The physical exam showed evident only temporary alteration in the hair coloring. There was a significant decrease ($p < 0,0001$) of the blood pressure with supplementation of 20 mg of β caroteno, and also in the serum malondialdeido levels ($p < 0,05$). Histopatologically, the liver was on the same conditions. There was only a small increase in the amount of elastic fibers on the carotid arterial wall of the SHR and SHR-sp rats.

CONCLUSION: Supraphysiological supplementation with β caroteno did not cause general and hepatic toxic effects. It presented a positive response in the blood pressure modulation, reduced serum levels of malondialdeido but it did not interfere in the histological pattern of carotid arteries of hypertensive lineage rats.

INDICE

I.	INTRODUÇÃO	01
II.	OBJETIVOS	15
III.	MÉTODOS	16
	1. ANIMAIS	16
	2. CONDIÇÕES AMBIENTAIS	17
	3. DIETA E SUPLEMENTAÇÃO	18
	4. ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS GERAIS	19
	5. PLETISMOGRAFIA	19
	6. ANÁLISE DE MALONDIALDEÍDO (MDA)	20
	7. SACRIFÍCIO E COLETA DE MATERIAL	21
	8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
IV.	RESULTADOS	24
V.	DISCUSSÃO	29
VI.	CONCLUSÕES	33
VII.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

I – INTRODUÇÃO

O acidente vascular encefálico (AVE) constitui um dos mais relevantes problemas de Saúde Pública na atualidade, devido a sua alta incidência e mortalidade; a invalidez que ocasiona, aos altos custos que gera e a carência de estratégias terapêuticas. (BAÉZ, P. et al, 2004) Um fato alarmante é que aproximadamente cinquenta por cento dos sobreviventes ficam com seqüelas para o resto de suas vidas. (SANCHEZ, LAR. 2004)

Apesar dos avanços alcançados na prevenção do acidente vascular encefálico, ainda ocorrem nos Estados Unidos a cada ano, 550.000 novos casos, constituindo-se na terceira principal causa de óbitos, sendo precedida somente pelas doenças cardiovasculares e pelo câncer. É a principal causa de incapacidade naquele país. Estatísticas recentes mostram que no Brasil o AVE é a primeira causa de óbito. (DELLARETTI FILHO, MA. et al, 2003; *American Heart Association*, 2005)

Oitenta e cinco por cento dos acidentes vasculares encefálicos são incitados por um evento tromboembólico. A aterosclerose é um fator chave para eventos tromboembólicos e o risco é aumentado pela presença de outras doenças comuns tais como hipertensão arterial sistêmica. (MAHAN, LK. et al, 2002)

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) pode ocasionar doença cardiovascular por vários mecanismos. Os efeitos da HAS na estrutura dos vasos ocorrem tanto nas artérias maiores, onde há remodelamento da parede do vaso com aumento de sua luz, o que ocasiona aumento da força de fricção entre o sangue e a parede do vaso predispondo a arteriosclerose, como nas artérias de pequeno calibre, onde ocorre realinhamento das

células musculares e redução da luz sem alteração do conjunto dessas células, isto é, há reestruturação da musculatura lisa ao redor de luz reduzida, levando a resistência vascular sistêmica. (FUSTER, F. et al, 1996)

A HAS também agrava o processo aterosclerótico, possivelmente por enfraquecer a parede das artérias em pontos de maior pressão, levando a lesão e invasão de colesterol e outros compostos. (KRUMMEL D, 1998) A doença aterosclerótica das artérias carótidas pode provocar sintomas como amaurose fugaz, cefaléia e acidente isquêmico transitório (AIT). Deve-se ressaltar que, no primeiro ano após a ocorrência de um episódio de AIT, há um risco de, aproximadamente, 10% de o paciente vir a apresentar AVE. Também é importante destacar que, os pacientes assintomáticos e portadores de estenose carotídea maior ou igual a 75% têm um risco de 3% a 5% de virem a apresentar AVE, por ano de seguimento. (TARDINI, DMS. et al, 2003; Sociedade Brasileira de Doenças Cerebrovasculares, 2001)

Tem sido estimado que a doença da artéria carótida seja responsável por 20 a 30% dos casos de AVE. A estenose da artéria carótida normalmente é identificada após um AIT, mas para muitos pacientes o infarto cerebral é causado por embolização de uma placa aterosclerótica ou oclusão aguda da carótida por propagação distal do trombo. A progressão da estenose assintomática de artéria carótida é imprevisível e pode ser desastrosa. (KIHARA, EM. et al, 2004, CAMPOS; PF. et al 2004)

Estudo realizado por Dijk e Cols em 2004, investigou a possibilidade da seção transversal e a rigidez da carótida estarem associadas com o curso isquêmico precedente ou com o ataque isquêmico transitório (AIT). Concluíram que a estenose da artéria carótida

maior ou igual a 50%, comumente cursa com rigidez e espessamento parietal, estando associada com o curso isquêmico precedente e o AIT.

A aterosclerose é uma doença arterial que tem início na infância e que progride lentamente, podendo ou não se manifestar clinicamente após a meia idade. A aterosclerose humana envolve predominantemente as artérias de tamanho médio como as coronárias, as carótidas e as vertebrais, porém, também acomete artérias de grande calibre como a aorta e as artérias que irrigam os membros inferiores. Envolve principalmente a camada de células da túnica íntima (camada mais interna da parede arterial), acreditando-se que é originária de uma proliferação das estrias de gorduras em placas fibrogordurosas. (CLARKE, R. et al, 2002) A aterosclerose é, em último estágio, uma lesão inflamatória crônica da parede das artérias que tem como agente inflamatório específico a lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada. Acredita-se que o processo de aterogênese se desencadeia quando na parede arterial, no subendotélio, os macrófagos captam descontroladamente partículas de LDL oxidadas, ricas em colesterol, transformando-se em células espumosas que se acumulam na parede arterial. As modificações oxidativas das lipoproteínas de baixa densidade fazem com que as mesmas sejam captadas de modo preferencial pelos macrófagos, iniciando um processo inflamatório que desencadeia a formação da placa de ateroma, elemento central na lesão vascular aterosclerótica. (LEIGHTON, F. et al 1997; CLARKE, R. et al, 2002; RUSSO, C. et al, 1998)

Evidências experimentais vêm confirmando a implicação do processo oxidativo de macromoléculas na lesão endotelial das doenças cardiovasculares, aumentando consideravelmente o interesse pela investigação da provável ação das vitaminas de poder antioxidante no combate deste processo. Da mesma forma, hipóteses recentes vêm

associando o estresse oxidativo, incluindo o processo inflamatório ao AVE. (ASCHERIO, A. et al 1999; ASPLUND, K. 2002)

Recentes estudos em *Anima Nobile* demonstraram relação entre marcadores de estresse oxidativo, AVE e baixos níveis séricos de vitaminas antioxidantes (alfa tocoferol, ácido ascórbico e β caroteno), sendo crescente o interesse pela investigação sobre a possível ação protetora desses nutrientes. (LEINONEN, JS. et al 2000) Entretanto, o manuseio com esses antioxidantes ainda apresenta controvérsias referentes aos seus resultados epidemiológicos, clínicos e experimentais. (ASCHERIO, A. et al 1999; ASPLUND, K. 2002)

A oxidação é um processo bioquímico de perda de elétrons associado com outro de recepção chamado redução. Este processo é importante para vida, porque está envolvido na produção de energia celular. (ELEJALDE, J.I. 2001)

O radical livre é definido como todo átomo ou molécula que apresenta elétrons não emparelhados em seu orbital externo. Trata-se de uma estrutura química instável e que, em uma reação contínua, progressiva e em cascata, forma novos radicais capazes de acometer todos os elementos que compõem os tecidos orgânicos. Sob condições normais, o oxigênio atmosférico sofre redução tetravalente na cadeia mitocondrial de transporte de elétrons, com a formação de água e geração de fontes de energia (adenosina-trifosfato – ATP). Cerca de 2% do oxigênio sofre redução monovalente, o que leva a síntese de espécies reativas de oxigênio (ERO), usualmente interligados em processos fisiológicos intracelulares. (DEL MAESTRO, R.F. 1980)

A primeira descrição sobre radicais livres do oxigênio coube a Haber e Weiss, em 1931, que caracterizaram a redução monovalente do oxigênio e a formação do íon superóxido. Em 1968, Mc Cord referiu-se a xantina-oxidase como a enzima essencial para catalisar a produção ERO. Um ano após, este mesmo autor, atribuiu à outra enzima, a superóxido-dismutase, o papel de inativadora desses oxirradicais.

Granger, em 1981 mudou os rumos do conhecimento fisiopatológicos das afecções vasculares ao caracterizar a presença da xantina-oxidase no intestino de diferentes animais e do próprio homem e relacionar sua ação com o dano tecidual, na isquemia e na reperfusão intestinais (Figura 1).

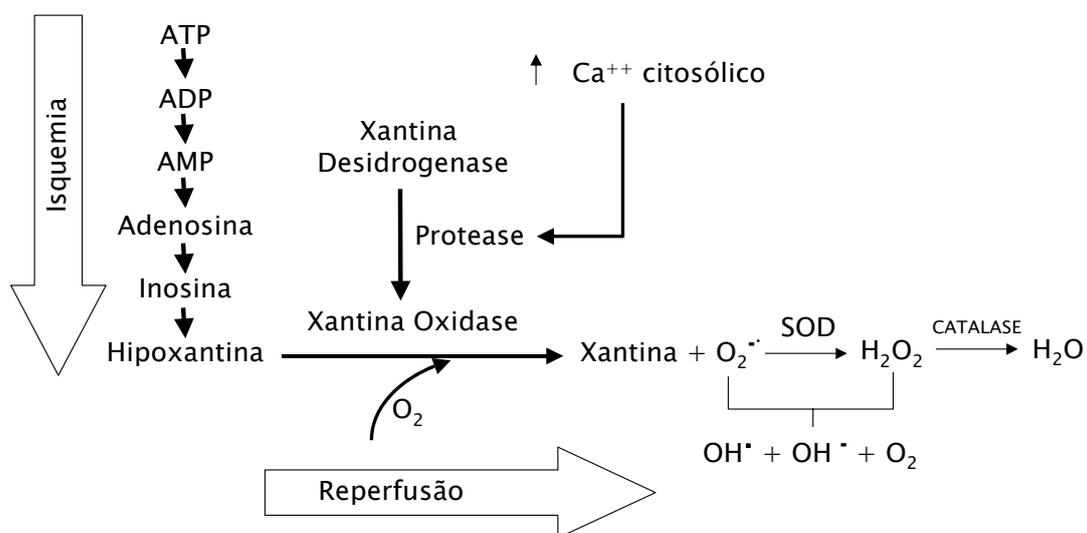


Figura 1. Geração dos radicais livres do oxigênio a partir da ação da xantina-oxidase sobre a hipoxantina em condições de isquemia e reperfusão (Fonte: MORARD, M.R.S.2003).

O radical superóxido (O_2^-) é formado quando o oxigênio é reduzido por um elétron. A enzima superóxido-dismutase (SOD) catalisa a conversão do superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), enquanto a catalase converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Entretanto, na presença de íons ferro ou cobre pode haver conversão do peróxido de hidrogênio ou radical hidroxila (OH^\bullet). (Reação de Haber – Weiss). A hidroxila (OH^\bullet) é um dos mais reativos e dos mais tóxicos metabólitos do oxigênio (Figura 2).

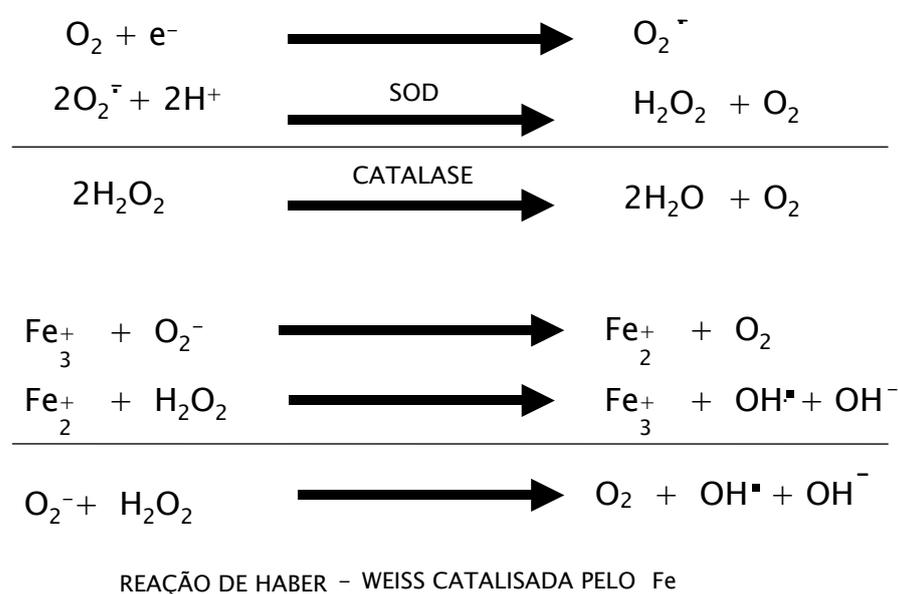


Figura 2. Reações químicas responsáveis pela formação de radicais livres de oxigênio (Fonte: MORARD, M.R.S.2003).

Durante a década de 80, os principais estudos sobre radicais livres derivados do oxigênio estiveram vinculados as alterações morfológicas do tecido e da célula, bem como a produção de metabólitos da peroxidação lipídica (malondialdeído e glutation) e a utilização de inativadores das EROs (Figura 3). (HALLIWELL, B. et al 1999)

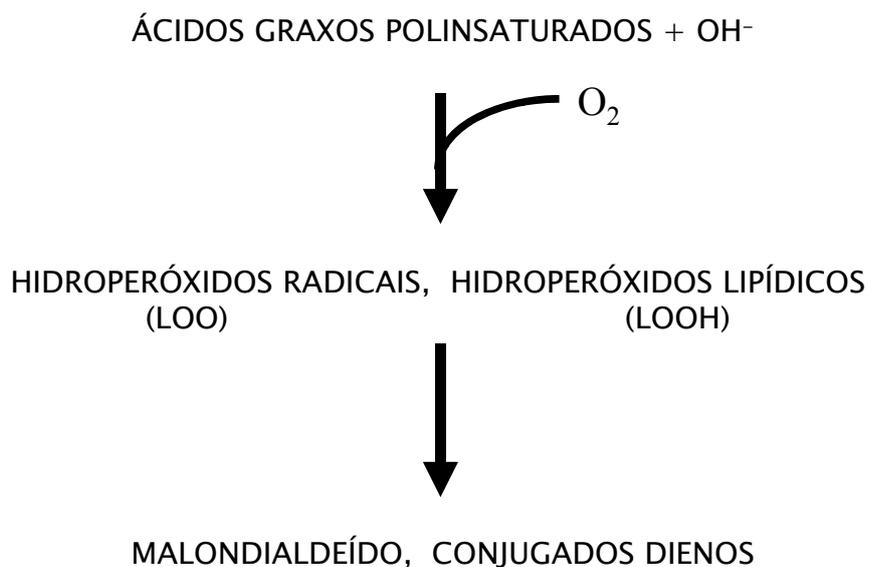


Figura 3. Peroxidação lipídica da membrana celular iniciada pelo radical hidroxila (Fonte: MORARD, M.R.S.2003).

A partir da década de 90, uma nova abordagem sobre a ação deletéria do estresse oxidativo passou a ser adotada, mais precisamente através da quantificação da concentração de proteína carbonilada, mediante a utilização do clássico método de espectrofotometria, sugerida por Levine e Cols que foi o ponto de partida para o estudo dessas proteínas.

Durante o processo de transferência de elétrons que ocorre no metabolismo celular associado à exposição a fatores exógenos, acontece a formação de radicais livres, via ação catalítica de enzimas. Contudo, na condição de pró-oxidante, a concentração dessa espécie reativa de oxigênio pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes. O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes

que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo. (BIANCHI, MLP. et al 1999)

Os radicais livres podem comprometer todas as principais classes de biomoléculas, sendo os lipídeos os mais susceptíveis. Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) das membranas celulares são rapidamente lesados por radicais oxidantes. A destruição oxidativa dos PUFA, conhecida como peroxidação lipídica, é bastante lesiva por ser uma reação de auto-programação na membrana. (KOURY, JC. et al, 2003)

A síntese de radicais livres desempenha um forte papel no processo de arteriosclerose. Este processo pode ser inibido por antioxidantes tais como β caroteno, Vitamina C ou Vitamina E, que inativam os efeitos lesivos dos radicais livres. Embora não possa ser provado que vitaminas antioxidantes previnam doenças cardiovasculares através da modulação da peroxidação de lipídeos, diversos estudos epidemiológicos observacionais e algumas experimentações clínicas sugeriram uma associação inversa entre a ingestão de frutas e a pressão sanguínea. (CZERNICHOW, S. et al 2004)

As vitaminas antioxidantes podem proteger a LDL da oxidação. Sua alta ingestão ou concentrações sanguíneas elevadas estão associadas com um risco reduzido de doença cardiovascular. (GALE, CR. et al 2001)

Evidências que os antioxidantes podem impedir a doença aterosclerótica estão crescendo. (KRITCHEVSKY, SB. et al, 1995) Segundo Iribarren e Cols, (1997) existe uma associação inversa entre níveis circulantes de alguns carotenóides e a espessura média da túnica íntima da carótida. Por outro lado, é escasso o número de experimentações randomizadas que avaliem não invasivamente o impacto da suplementação de antioxidantes na estrutura e função das artérias. Da mesma forma, nem sempre os

resultados são unânimes, não sendo observado efeito benéfico da suplementação diária de baixa dose de vitaminas e minerais antioxidantes a longo prazo na aterosclerose da artéria carótida e na sua rigidez parietal. (ZUREIK, M. et al, 2004)

A ingestão elevada de carotenóides parece reduzir o risco de formação de placas ateroscleróticas. Pesquisadores examinaram as ligações entre o consumo de carotenóides com atividades pró-vitamina A e a formação de placas de ateroma nas artérias carótidas de 12.773 participantes com idade entre 45-65 anos. Foi também avaliada a ingestão dietética de um modo geral. Os resultados indicaram que tanto homens quanto mulheres que consumiram uma quantidade elevada de carotenóides, tinham uma prevalência menor de placas; quando comparados com aqueles com baixa ingestão de carotenóides. Os homens apresentaram um risco reduzido em 15% e as mulheres em 18%, porém, observaram uma associação inversa com o tabagismo. (KRITCHEVSKY, SB. et al, 1999)

Apesar de ter sido uma das primeiras vitaminas descobertas, uma vasta gama de funções da vitamina A, ainda está para ser definida. Estruturalmente similares à vitamina A, os carotenóides são um grupo de quase 600 compostos, dentre os quais, somente cerca de 50 possuem atividade de pró-vitamina A. Há fortes evidências que os carotenóides podem ser eficientes antioxidantes para inibir o desenvolvimento das doenças cardiovasculares. (PALACE, VP. et al, 1999)

O termo pró-vitamina A também é utilizado para descrever os carotenóides que exercem função de vitamina A. (WILLIAMS, SR. 1997)

Os carotenóides são convertidos em vitamina A na parede intestinal e no fígado. O β caroteno é considerado como possuidor de atividade pró-vitamina A; outros

carotenóides importantes são: a luteína, zeaxantina, criptoxantina e o licopeno. (VANNUCCHI, H. et al, 2001)

Carotenóides são pigmentos vegetais importantes, encontrados no pigmento fotossintético, um complexo protéico de plantas, bactérias fotossintéticas, fungos e algas, que são responsáveis pelas cores brilhantes de várias frutas e vegetais. A cor dos carotenóides nos tecidos das plantas verdes é sobrepujada pela clorofila e torna-se evidente apenas após a degradação do pigmento verde no outono. (DEMMIG-ADANS, B. et al 1996)

A cor e as atividades antioxidantes dos carotenóides são consequência de sua estrutura única, um sistema estendido de duplas ligações conjugadas. Carotenóides como o betacaroteno, são tetraterpenos formados pela ligação entre as extremidades de duas cadeias de 20 carbonos (C-20) e, em muitos deles, os grupos terminais são modificados em anéis compostos de cinco ou seis carbonos, gerando compostos monocíclicos e dicíclicos (Figura 4). (STAHL, W. et al 1996)

Carotenóides são descoloridos quando expostos a radicais como os formados durante a peroxidação lipídica, o que indica que estes pigmentos interceptam radicais livres. Suas moléculas longas e repletas de duplas ligações fazem deles excelentes substratos para o ataque de radicais livres, que são eliminados do organismo. (KLEIN, BP. et al 1995)

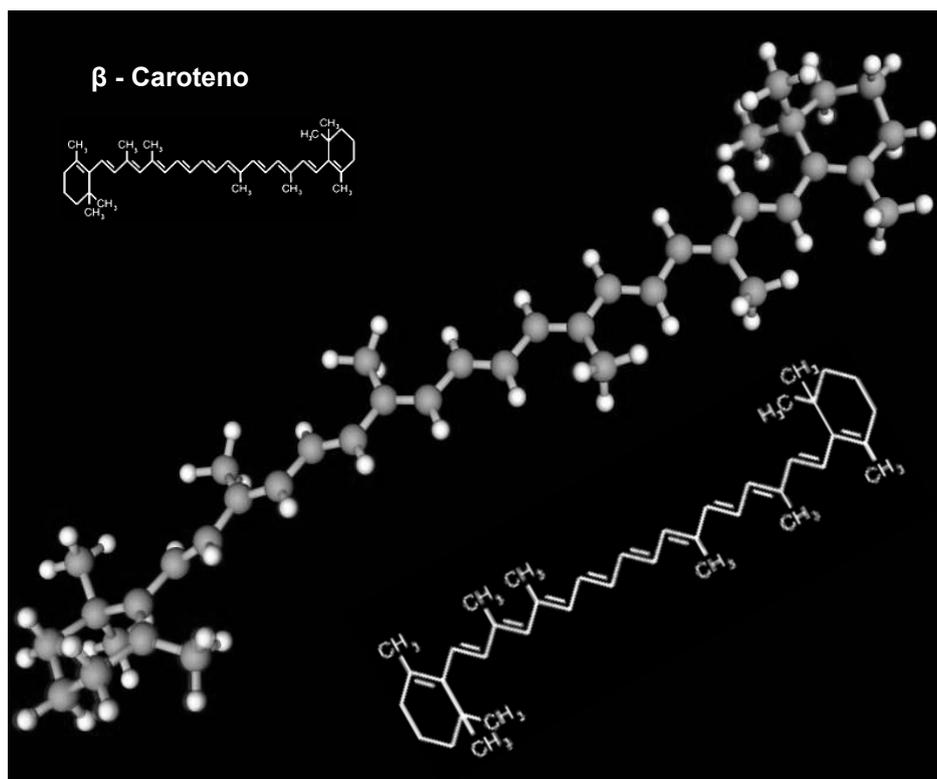


Figura 4. Molécula de βcaroteno, fórmula estrutural e visão tridimensional.

Carotenóides como o βcaroteno podem reagir múltiplas vezes com radicais peroxila para formar moléculas estáveis. Acredita-se que uma molécula de βcaroteno possa reagir com até 1.000 radicais superóxido, antes de ser oxidada e perder suas propriedades antioxidantes. (BURTON, GW. 1989)

Os carotenóides possuem a propriedade única de dissipar a energia adquirida dos radicais superóxidos na forma de calor. (SIES, H. et al 1992) Sua deficiência está associada a diminuição da capacidade imunológica, retardo no crescimento e dificuldades visuais. (CORREIA, MITD. 2001) As fontes ricas de βcaroteno incluem cenoura, batata doce, abóbora, espinafre, brócolis e a maioria de vegetais folhosos verde escuros. Não existe uma recomendação dietética para o βcaroteno. (VANNUCCHI, H. et al, 2001)

O β caroteno possui relevante papel no combate ao estresse oxidativo e diversas referências podem ser encontradas discutindo sua ação antioxidante. (KRITCHEVSKY, SB.1999;PALACE, P.et al 1999; SIGNAL, PK. et al ,1998)

A ação antioxidante do β caroteno se deve a sua cadeia hidrofóbica que seqüestra radicais de oxigênio, combina e estabiliza peróxidos e neutraliza certos radicais, em geral, quanto maior sua cadeia, maior será a ação antioxidante e estabilizante. Devido a sua estrutura, o β caroteno pode se auto-oxidar quando a tensão de oxigênio aumenta, portanto é um excelente antioxidante somente nas baixas tensões de oxigênio tipicamente encontradas nos tecidos em níveis fisiológicos. (PALACE, VP. et al, 1999)

Ainda em relação ao β caroteno encontramos controvérsias na literatura que incluem desde o possível papel tóxico dessa vitamina, até seu papel na prevenção dos processos aterosclerótico e de infarto cerebral. (LEPPALA, JM. et al, 2000; GALE, CR. et al, 2001)

Resultados obtidos por Dwyer e Cols. em 2004 sugerem que níveis elevados de carotenóides incluindo o alfa-caroteno possam ser protetores contra o início da aterosclerose.

Se a suplementação desta pró-vitamina for capaz de controlar o estresse oxidativo do AVE, poderá se tornar uma possibilidade de terapia coadjuvante e até subsequente no tratamento do AVE.

Paralelamente, um estudo de meta-análise publicado por Vivekananthan e Cols em 2003, evidenciou um interessante achado por apresentar dados conflitantes em relação a suplementação com β caroteno indicando um pequeno, porém, significativo aumento na

mortalidade global (7,4% contra 7,0%) e na mortalidade por causas cardiovasculares (3,4% contra 3,0%) nos indivíduos suplementados com doses diárias entre 15mg a 50 mg. Aponta o β caroteno como um pobre antioxidante da LDL e, quando associado ao tabagismo, tem sua molécula desestabilizada, resultando numa transformação anormal com aumento de fatores de crescimento associados a gênese de tumores.

O modelo experimental de rato espontaneamente hipertenso (SHR), pode apresentar similaridade com a HAS essencial humana, o que vem sendo amplamente estudado. Hoje, reconhecemos que da mesma forma que alguns grupos populacionais apresentam aumento do conteúdo de sódio (Na) e cálcio (Ca) intracelular, alteração do potencial de membrana e da reatividade vascular, alteração do metabolismo da vitamina D e cálcio, os ratos SHR também apresentam tais anomalias. (BOER HV, et al 2000; VIANNA, LM. et al 1992, 1996, 2002)

Além disso, relatos vêm associando uma lipoperoxidação aumentada com injúria endotelial ao processo etiopatológico das doenças cardiovasculares. (VIANNA LM, 2002) Dessa forma, aumenta consideravelmente o interesse pela investigação da provável ação de vitaminas de poder antioxidantes nesse processo.

No que se refere ao estudo experimental do AVE, a linhagem SHR-sp descrita por Maguire e Cols, em 2004 e Ikeda e Cols, em 2003, vem sendo eleita como modelo experimental de estudo do AVE humano, por desenvolvê-los espontaneamente, resultando em danos cerebrais similares ao do AVE humano e apresentar severa hipertensão, que pode atingir 300 mmHg, em contraste à pressão sanguínea dos ratos normotensos das linhagens Wistar Kyoto (WKY) e Wistar que estabilizam-se entre 140-150 mmHg e 90-110 mmHg respectivamente. (FUKUDA, S et al 2004)

A hipertensão nessa linhagem de ratos ocorre em torno da oitava semana de idade, e vai se acentuando à medida que os animais se tornam adultos, chegando os machos a atingir aproximadamente 250 mmHg de pressão sistólica, sendo mais hipertensos do que o SHR. (NOGUCHI, T. et al, 2003) Estudos têm mostrado que a suscetibilidade ao AVE nesse modelo também está associada a fatores genéticos independentes da pressão sistólica, motivo pelo qual usa-se essa linhagem preferencialmente ao SHR na investigação da doença cerebral. (IKEDA, K. et al 2003; YAMORI, Y. 1991, 1999, 2004; TAKEMORI, K. 1996)

II – OBJETIVOS

II.1 – OBJETIVO GERAL

- Investigar o efeito da administração suprafisiológica de β caroteno sobre os parâmetros biológicos gerais dos ratos SHR e SHR-sp.

II.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Monitorar as alterações dos níveis de pressão sistólica de ratos SHR-sp em função da suplementação suprafisiológica de β caroteno;
- Investigar o efeito do tratamento nos níveis séricos de malondialdeído;
- Observar a integridade morfológica das artérias carótidas dos animais controle e tratados;
- Investigar a possibilidade de ocorrência de efeitos tóxicos.

III – MÉTODOS

III.1 – ANIMAIS

Para realização deste estudo experimental foram utilizados 36 ratos machos jovens, pesando entre 272 g e 356 g distribuídos em três grupos distintos, contendo cada um 12 ratos das raças Wistar, SHR e SHR-sp respectivamente, sendo que cada grupo era composto por seis animais controles e seis tratados escolhidos aleatoriamente, obtidos de colônias mantidas pelo Biotério da Escola de Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. No início do experimento a faixa etária dos animais foi de aproximadamente sete semanas em ambos os grupos atingindo respectivamente 28 semanas ao final da pesquisa.

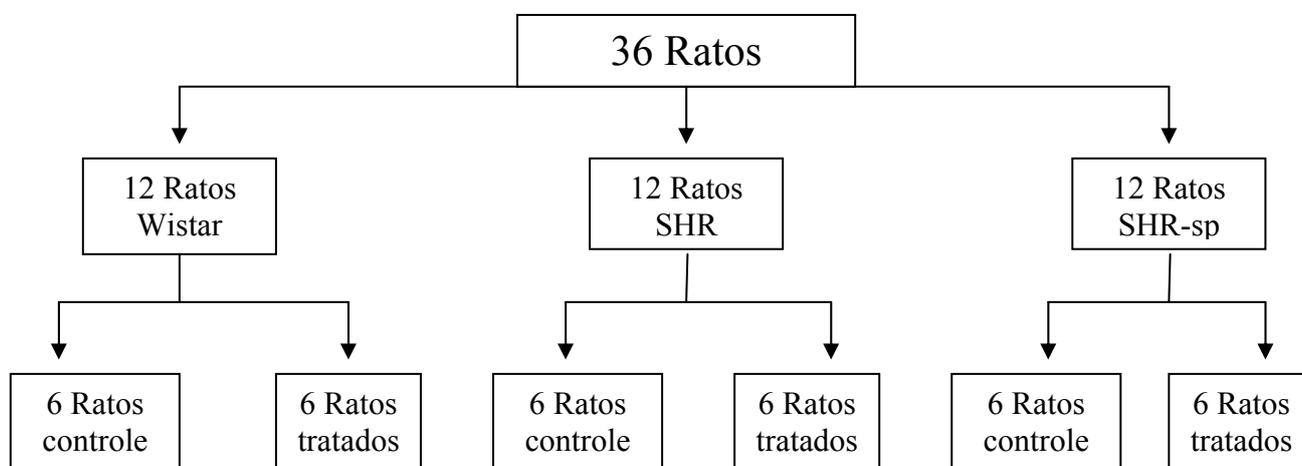


Figura 5. Esquema de representação da metodologia.

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com “Principles of Laboratory Animal Care” (NIH publication nº 85-23 revised 1985). Os protocolos

experimentais utilizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética para experiência com animais, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro e os ensaios foram realizados nos Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônicas Degenerativas e no Laboratório de Anatomia Patológica, ambos da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

III.2 – CONDIÇÕES AMBIENTAIS

Os animais foram mantidos em biotério com condições controladas de luminosidade (ciclo claro-escuro/12hs), temperatura ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade ($60\pm 10\%$) e ciclo de exaustão de ar (15 min/h), em gaiolas metabólicas individuais (Figura 6).

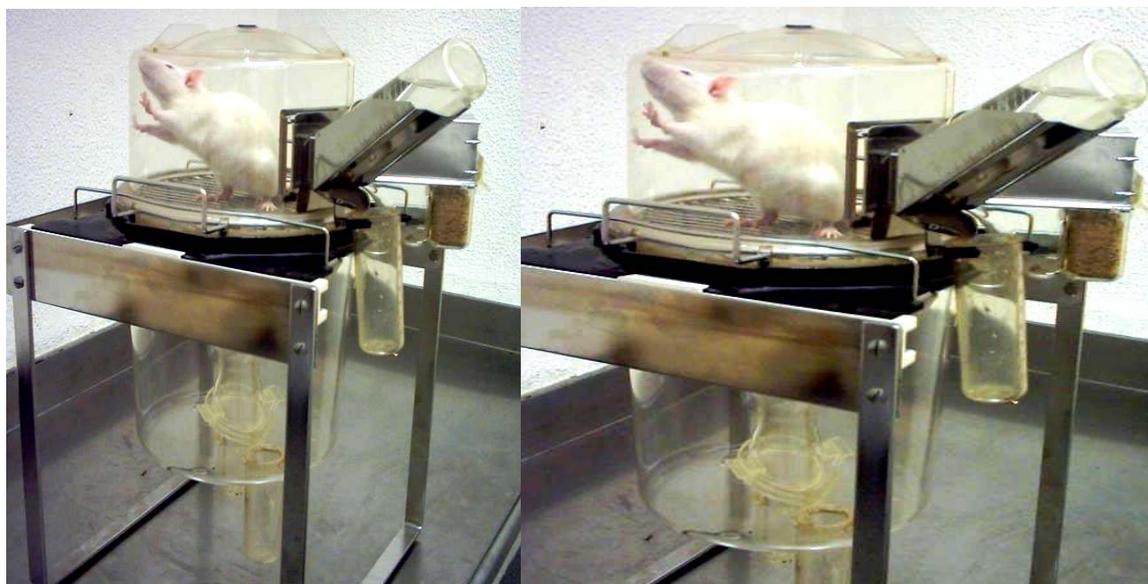


Figura 6. Gaiola metabólica.

III.3 – DIETA E SUPLEMENTAÇÃO

Os animais receberam ração Nuvilab da Nuvital^R e água *ad libitum* e após um período basal de dez dias foram submetidas à suplementação suprafisiológica de β caroteno ou veículo por gavagem oral via sonda de polietileno PE 190. Inicialmente, foi estabelecida a curva dose-efeito para os ratos das linhagens Wistar e SHR. Os animais dos grupos Wistar e SHR tratados foram suplementados com doses crescentes de β caroteno (C-9750 Sigma, St. Louis, MO), de 2,5 a 5 mg/dia, diluídos em 0,3 ml de óleo de coco (Florasil Produtos Vegetais e Farmacêuticos LTDA). Cada dose foi administrada pelo período de dez semanas. O tratamento foi dividido em duas fases, com interrupção de uma semana para estabelecer a cinética do β caroteno. Concomitantemente, foi feita a suplementação do grupo SHR-sp tratado com administração de β caroteno na dose de 5 a 20 mg. A dose inicial neste grupo foi a mesma que apresentou resultado hipotensor na linhagem de ratos SHR, isto é, 5 mg. Os animais dos grupos controle foram suplementados apenas com óleo de coco (Figura 7).



Figura 7. Procedimento de Gavagem.

III.4 – ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS GERAIS

Diariamente os animais foram submetidos a exame físico, seguindo protocolo do laboratório LINDCD (VIANNA LM, 2005) para detecção da ocorrência de sinais de toxicidade ou de interação entre nutrientes. Concomitantemente, foram avaliados os parâmetros biológicos gerais (ingesta de ração, água, diurese, fezes e peso corporal).

III.5 – PLETISMOGRAFIA

A pressão sistólica foi aferida através de pletismógrafo (Bio-oficina ®, Br), mensurada duas vezes na semana, seguindo metodologia de Magaldi e Cols. modificada por Vianna e Cols. em 1992 apresentada aqui, de modo resumido. A artéria caudal posicionada no pletismógrafo, sofre uma pressão externa que colaba suas paredes cessando o fluxo sanguíneo; ao descomprimir lentamente o manguito, a pressão sanguínea atinge um nível suficiente para forçar um jato de sangue que será registrado como pressão sistólica, e que será lida na coluna líquida do aparelho que se modificou mediante a alteração de volume. A mensuração da pressão sanguínea é feita duas vezes por semana mantendo-se sempre o mesmo horário para evitar alterações provenientes do ritmo circadiano. A pletismografia foi realizada no período basal e ao longo do experimento (Figura 8).

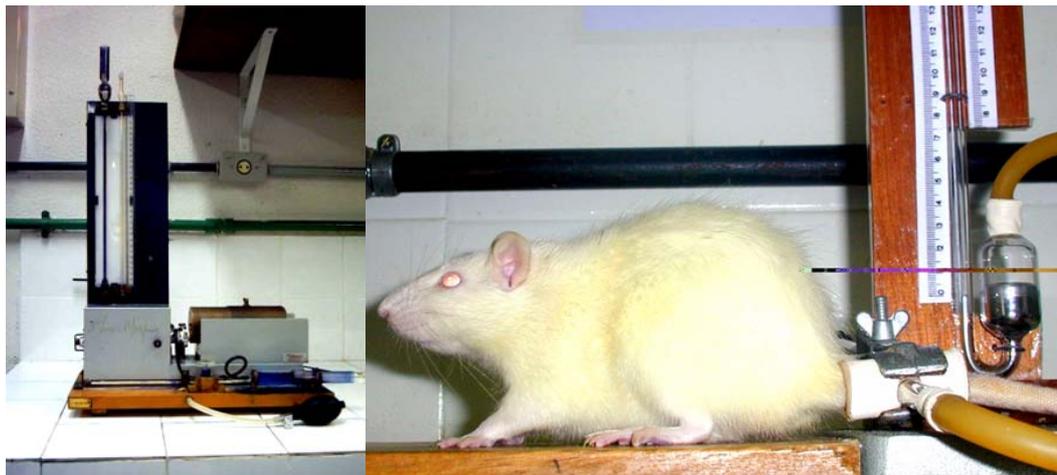


Figura 8. Pletismógrafo e demonstração do procedimento de pletismografia.

III.6 – ANÁLISE DE MALONDIALDEÍDO (MDA)

O material utilizado para a dosagem de Malondialdeído foi o soro, obtido a partir da centrifugação do sangue colhido em tubo descartável, sem anticoagulante durante o sacrifício do animal. O sangue centrifugado em centrífuga CELM modelo Kombat (aferição e calibração Control-Lab) a 3500 rpm por 15 minutos. O soro, separado dos componentes celulares pela centrifugação, foi retirado do tubo primário por pipetagem com ponteiros descartáveis e acondicionado em tubos secundários, identificados e estéreis. O soro foi conservado em refrigerador com temperatura controlada de 8°C. Foi utilizado o método colorimétrico para a dosagem de MDA, utilizando o equipamento Micronal B442 e o ácido tiobarbitúrico. A concentração de malondialdeído foi calculada pela absorção a 532 nm e os resultados expressos em nmol.

III.7 – SACRIFÍCIO E COLETA DE MATERIAL

Os animais foram anestesiados via indução de coma profundo, por anestesia inalatória com éter sulfúrico e administração de barbitúrico (tiopental sódico), via intra peritoneal com doses superiores a 25 mg/kg.

O animal anestesiado foi então fixado através das patas em posição dorsal. A via de acesso cirúrgico utilizada foi uma cervico–esterno–laparotomia com ampla abertura das cavidades torácica e abdominal. Realizou-se a dissecação para obter acesso até os grandes vasos abdominais, colheita de 05 ml de sangue por punção cardíaca para dosagem de MDA e morte por exanguinação do animal através da secção da aorta. Logo em seguida, efetuou-se a dissecação e ressecção das artérias carótidas direita e esquerda, do bloco cardio-aórtico e do fígado dos animais. Todo material foi armazenado em solução de formol a 10% e enviado para análise histológica, realizada no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (Figura 9).

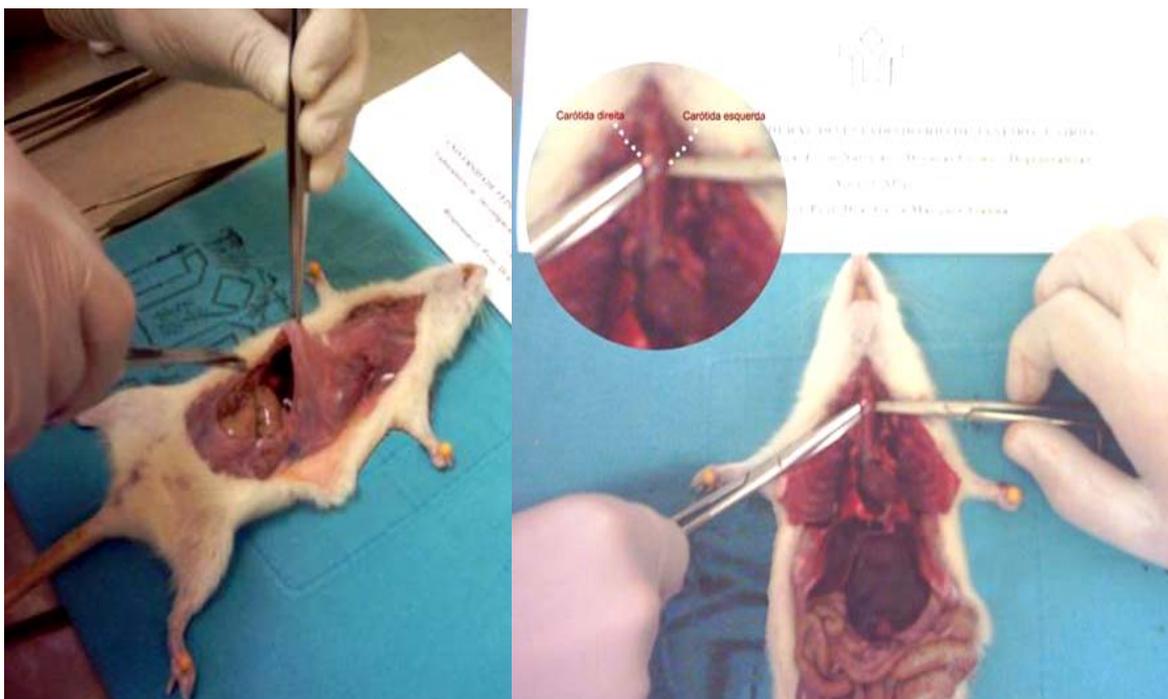


Figura 9. Extração de artérias carótidas e aorta.

Com o material (carótidas direita e esquerda, aorta, coração e fígado) enviado para o Laboratório de Anatomia Patológica, foram preparadas as lâminas para análise histológica das artérias carótidas, sendo realizado corte de 5 micra de espessura, no micrótomo Gung, RM.2025 (Leica). As peças foram coradas por Hematoxilina-eosina, ou por Orceína e Tricrômico de Massom. A análise morfométrica foi realizada utilizando-se um microscópio óptico (Zeiss Axioplan, Zeiss, Alemanha), sob aumentos de 10X, 40X, 100X, 160X e 200X.

A determinação do peso do fígado foi realizada usando o método de Scherle, que se baseia no Princípio de Arquimedes (SCHERLE, 1970); o órgão removido é suspenso por um fio e imerso em solução salina fisiológica dentro de um Becker, sem tocar as paredes, esse sistema encontra-se sobre uma balança analítica de acurácia de 0,001g.

III.8 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizado ANOVA *One Way* para avaliar a significância dos resultados obtidos com as diferentes doses administradas, considerando $p < 0,05$ como significância. Para comparações de valores entre grupos distintos (controle x tratado) utilizamos test T-student.

IV – RESULTADOS

A avaliação dos exames físicos dos animais não atestou ocorrência de alterações nos parâmetros biológicos gerais: peso, ingestão hídrica e de ração, diurese e excreção fecal. Observou-se apenas alteração na coloração do pêlo dos animais, o qual retornava à coloração normal durante período de interrupção do tratamento. Da mesma forma, mantiveram-se a coordenação motora e o comportamento dos animais dentro dos padrões de normalidade. Quanto ao peso do fígado, obtivemos peso médio do órgão igual a $7,25 \pm 3,2$ g e relação entre a média do peso do fígado e o corpóreo igual a 0,0192g configurando que não ocorreu hepatotoxicidade.

Quanto aos valores da pressão arterial sistólica, o grupo tratado SHR-sp não apresentou redução dos valores de pressão arterial sistólica, no decurso do tratamento com as doses de 5mg e 10mg de β -caroteno, entretanto, ao receber a suplementação com 20 mg de β -caroteno, apresentou decréscimo significativo ($p < 0,0001$) da pressão de $233,7 \pm 1,39$ mmHg para $227,5 \pm 1,96$ mmHg na primeira suplementação com essa dose. A interrupção do tratamento por sete dias evidenciou um aumento do valor de pressão arterial sistólica, que atingiu $252,3 \pm 0,36$ mmHg, porém com o reinício da suplementação este valor apresentou uma queda significativa ($p < 0,0001$) para $232,08 \pm 1,34$ mmHg. Estas variações podem ser observadas no Gráfico 1.

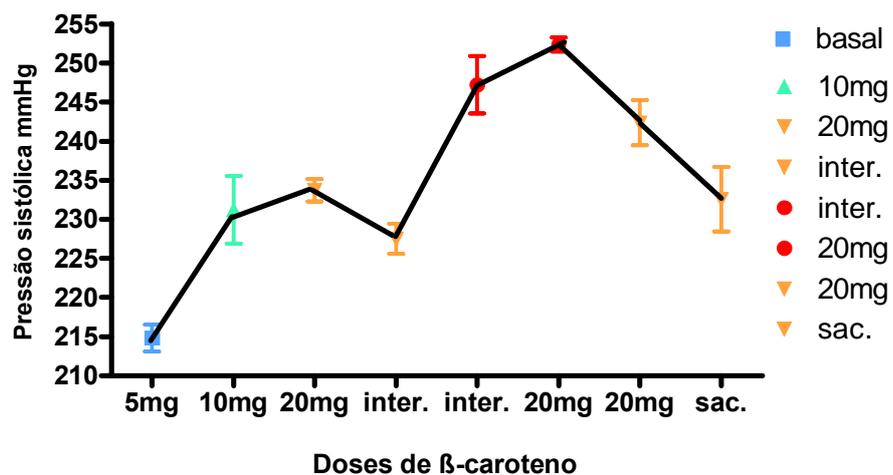


Gráfico 1: Os valores representam a $X \pm SD$ da pressão sistólica de ratos SHR-sp ($n=12$).

Significância $p < 0,05$.

A dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico revelou que os níveis séricos de malondialdeído (MDA) foram significativamente ($p < 0,05$) menores nos ratos tratados com β -caroteno ($1,97 \pm 0,32$ nmol) em comparação com os animais dos grupos controles ($3,50 \pm 1,19$ nmol) (Gráfico 2).

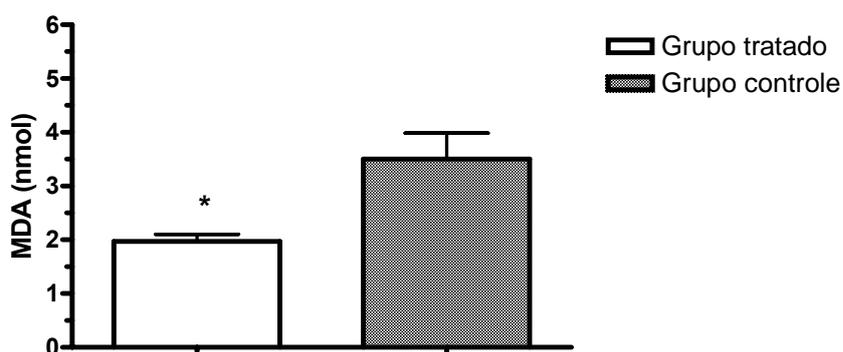


Gráfico 2: Os valores representam a $X \pm SD$ dos níveis séricos de Malondialdeído dos ratos SHR-sp.

A análise histológica evidenciou que a estrutura do fígado estava conservada, sem esteatose ou qualquer outra particularidade (Figura 10 A e B). A avaliação morfológica das artérias carótidas evidenciou diferenciação estrutural entre grupos controle e tratado. Em ambos os grupos não se observou a presença de infiltrado inflamatório na parede das artérias, assim como não foi detectada formação de placas ateromatosas. Entretanto, foi observado um aumento discreto da quantidade de fibras elásticas que constituem a parede das artérias carótidas dos ratos SHR e SHR-sp do grupo controle em comparação aos ratos Wistar normotensos (Figuras 11A, 11B, 11C e 11D).

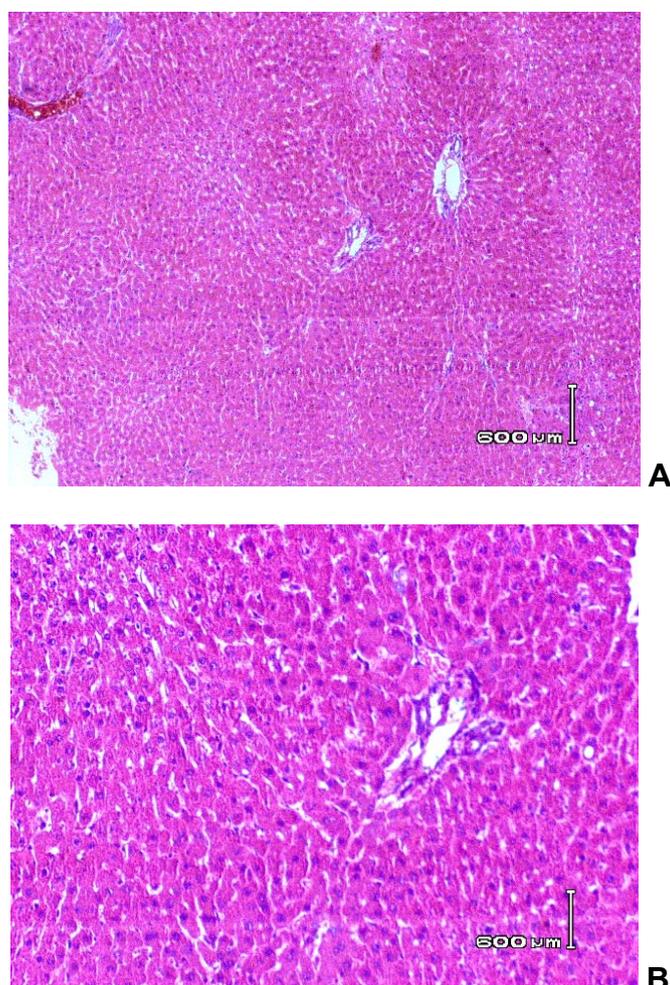


Figura 10. Parênquima hepático, ampliação 40 x (A) e 160 x (B).

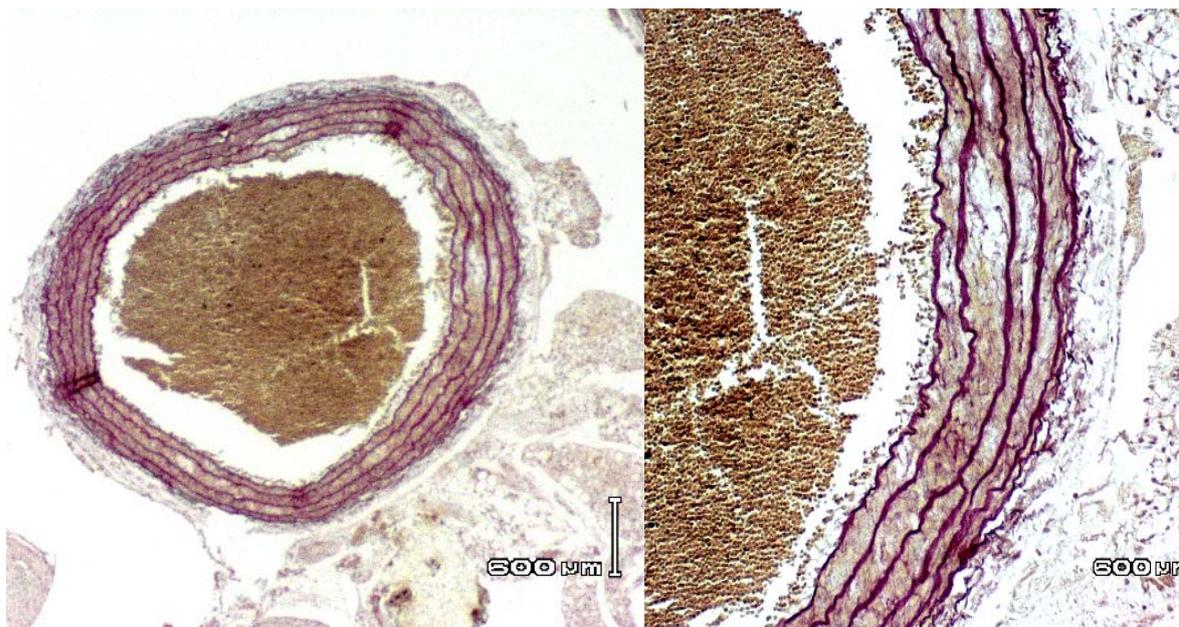


Figura 11 A. Artéria carótida sem anormalidades (ratos Wistar); Orceína, 10x e 100 x.

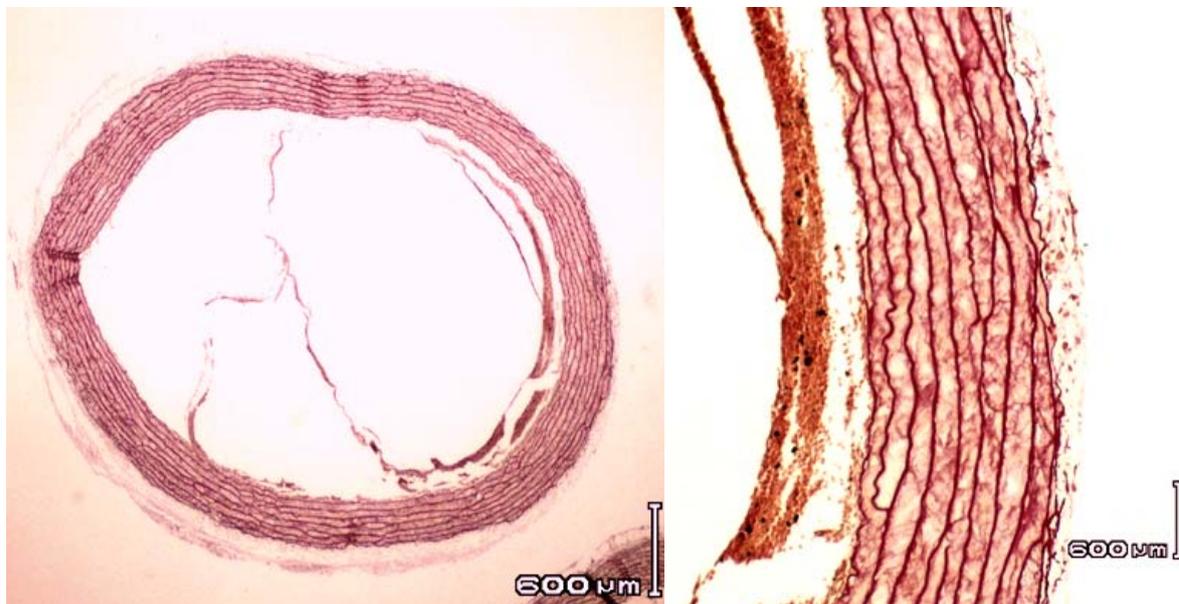


Figura 11 B. Artéria carótida com elastose (ratos SHR e SHR-sp); Orceína, 10x e 100x.

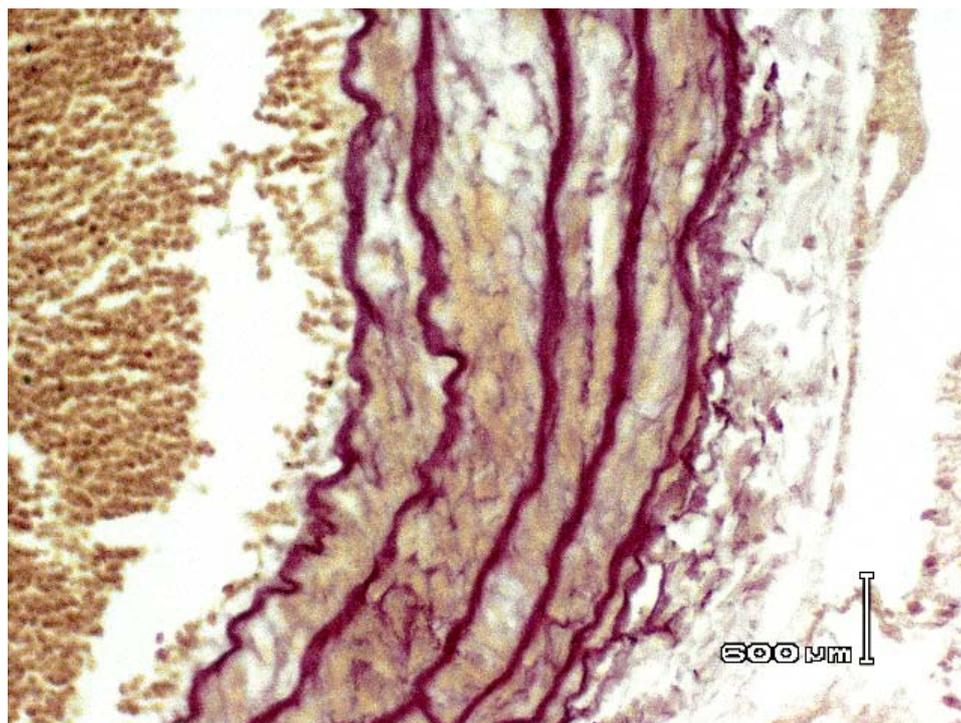


Figura 11 C. Parede da Artéria carótida com 5 camadas de fibras elásticas, sem anormalidades (ratos Wistar); Orceína, 200x.

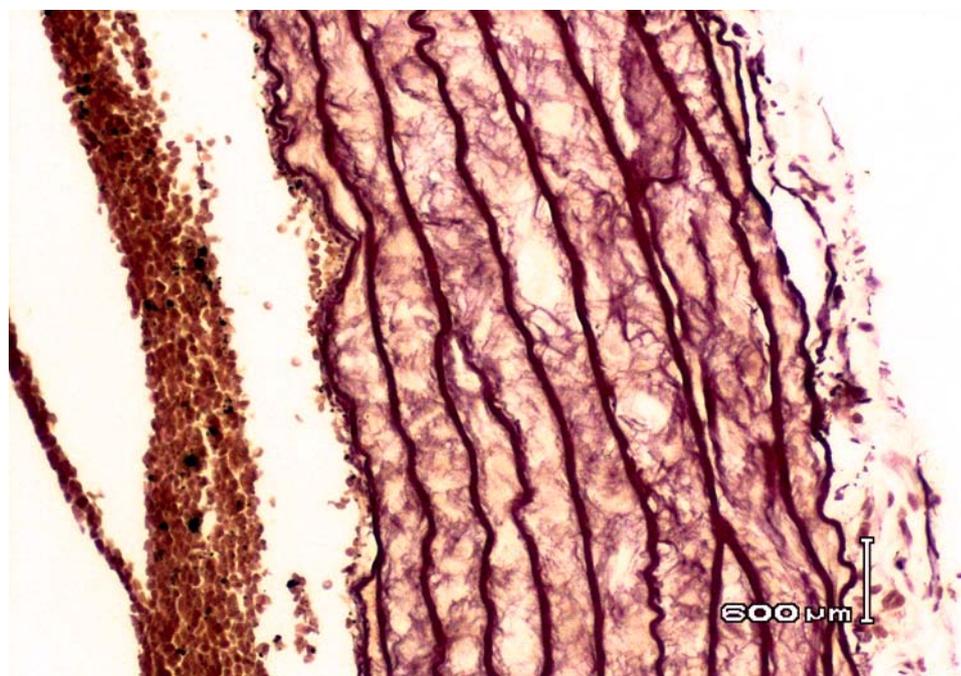


Figura 11 D. Parede da Artéria carótida com 9 camadas de fibras elásticas: elastose (ratos SHR-sp); Orceína, 200x.

V – DISCUSSÃO

Relatos de hepatotoxicidade resultante da administração crônica de vitamina A em doses suprafisiológicas, entre eles: hepatomegalia (com hipertrofia e hiperplasia) e fibrose portal e peri-portal vêm sendo encontrados na literatura. Croquet e Cols., em 2000, também relataram hepatotoxicidade, que foi caracterizada por hipertensão portal, mesmo após cinco anos de interrupção da suplementação com a vitamina A. Ainda em relação ao uso excessivo dessa vitamina, encontramos citações referentes a sintomas respiratórios causados por hidrotórax hepático, o que sugere a existência de outras manifestações clínicas. (MIKSAD R. et al, 2002)

Nagai K, e Cols., em 1999, igualmente relataram sinais de toxicidade relacionados a vitamina A e ao β caroteno, curiosamente enfatizando que tais efeitos podem ser oriundos de fonte alimentar e não de suplementação.

Entretanto, nosso trabalho demonstrou que mesmo com o uso de doses suprafisiológicas, não houve efeitos colaterais. O estudo do parênquima hepático, visando verificar potencial infiltração gordurosa ou desenvolvimento de tecido fibroso, não evidenciou nenhuma alteração ou presença de esteatose nos ratos tratados. A análise macroscópica do fígado dos animais, também não evidenciou alterações, corroborando resultados prévios de nosso laboratório (OLIVEIRA, GS. et al 2004), uma vez que o peso médio do órgão e a média da relação peso/órgão e peso corpóreo estavam dentro dos padrões de normalidade, isto é, 4g para cada 100g de peso corpóreo. (BAKER H. et al, 1980)

Prévios trabalhos que atingiram até 10 mg de β caroteno/dia (BANDO N. et al, 2003), também não relataram toxicidade. Discute-se também que os supostos efeitos tóxicos relacionados ao β caroteno poderiam estar associados a sua conversão em vitamina A.

Entretanto, recente estudo de sua cinética, realizado por Barua e Cols., em 2003, sugere que sua toxicidade deve ser muito reduzida, uma vez que altas doses são necessárias para manutenção do status nutricional da vitamina A, e tem sido inclusive atribuído ao β caroteno, um efeito hepatoprotetor em animais portadores de fibrose hepática. (SEIFERT WF et al, 1995) Adicionalmente, a administração das doses supra-fisiológicas de β caroteno não provocou alterações dos parâmetros biológicos gerais, descartando assim, a ocorrência de possível interação entre vitaminas lipossolúveis.

Em relação ao efeito modulador do β caroteno sobre a pressão arterial, os resultados aqui apresentados mostram importante efeito hipotensor da suplementação de β caroteno com doses de 20mg/dia durante três semanas com os ratos da linhagem SHR-sp, confirmando estudos anteriores descritos por Oliveira e Vianna em 2004, com ratos da linhagem SHR, que também apresentaram resposta positiva em relação ao efeito hipotensor do β caroteno, porém, com doses de 5mg, o que demonstra maior resistência ao tratamento pela linhagem SHR-sp. A avaliação da cinética do β caroteno apresentou resposta semelhante aquela observada com outras vitaminas lipossolúveis. (VIANNA LM, 1992, 2005)

Na realidade, embora vitaminas lipossolúveis sejam metabolizadas mais lentamente e, portanto, tenham vida média útil mais longa que substâncias hidrossolúveis, a manutenção de seus efeitos fisiológicos também demanda sua administração contínua,

uma vez que é descrito que a interrupção da administração das vitaminas por três semanas (VIANNA, LM. et al, 1996), provocaria um aumento gradativo da pressão arterial sistólica, corroborando os achados deste trabalho que utilizou uma semana de interrupção.

O mecanismo de ação associado ao efeito hipotensor do β caroteno, provavelmente se liga a sua atividade antioxidante, uma vez que foram significativamente reduzidos os níveis séricos de malondialdeído. Estudos em que o estresse oxidativo (ERO), foi experimentalmente induzido, indicaram aumento do radical superóxido (O_2^-), do radical hidroxila (OH) e da HAS. Por outro lado, o tratamento com antioxidantes diminuiu a pressão sangüínea e o elevado nível de óxido nítrico biodisponível. Estes resultados proporcionaram fortes evidências do papel das espécies reativas de oxigênio (ERO) tanto no início quanto na sustentação da HAS (MANNING Jr, RD. et al, 2005) e sinalizam para o importante papel de nutrientes antioxidantes no controle da pressão arterial.

No que se refere à característica morfológica das preparações, já foi observado que o arranjo morfológico das células do músculo liso vascular está desorganizado na artéria basilar dos ratos SHR e SHR-sp, quando comparado com os ratos Wistar. Esta alteração estrutural no sistema vascular cerebral dos ratos SHR-sp pode contribuir para a suscetibilidade ao AVE, influenciando a circulação colateral, causando modificações na reologia do fluxo sangüíneo ou vulnerabilidade da parede arterial à alta pressão arterial.

Além disso, há relatos que o AVE nessa linhagem não se dá devido a lesões ateromatosas, mas sim, por necrose fibrinóide das pequenas artérias e edema severo, similar às lesões observadas em humanos com hipertensão maligna, sugerindo que este modelo (SHR- sp) é útil para estudos de fatores genéticos, os quais são causa comum para hemorragia intracerebral e infarto lacunar. (OGATA, J. et al, 1981)

A análise histológica das carótidas dos grupos controle e tratado não revelou formação de placas ateromatosas nem a presença de infiltrado inflamatório, contrariando a idéia proposta de que a linhagem SHR-sp, por apresentar severa hipertensão teria alterações morfológicas inflamatórias nas preparações parietais vasculares, por outro lado, confirma a inexistência de lesão ateromatosa nessa linhagem corroborando aos achados de OGATA e Cols.

Entretanto, morfometricamente, foi observado que o número de fibras elásticas que constituem a parede dos vasos carotídeos na linhagem SHR e SHR-sp apresentaram discreto aumento, caracterizando uma elastose da camada muscular em comparação a linhagem normotensa.

Ainda que o tratamento com β caroteno tenha resultado em modificação da pressão arterial sistólica, não foi capaz de prevenir a elastose na artéria carótida dos ratos espontaneamente hipertensos. Acreditamos, que o efeito hipotensor do β caroteno esteja positivamente associado a sua ação antioxidante e não descartamos a possibilidade de que esse tratamento intensificado, possa prevenir as alterações morfológicas das artérias observadas nas linhagens hipertensas.

VI – CONCLUSÕES

- Nossos achados não confirmaram a presença de efeitos tóxicos gerais e/ou hepáticos atribuídos à suplementação suprafisiológica de β caroteno;
- A suplementação de β caroteno apresentou resposta positiva na modulação da pressão arterial e provocou diminuição na concentração sérica de malondialdeído, o que provavelmente explica seu efeito hipotensor;
- Não foram encontradas alterações morfológicas significativas entre os diferentes grupos estudados, exceto um discreto aumento no número de fibras elásticas da camada muscular carotídea sugerindo elastose nos ratos SHR e SHR-sp controle e tratados em relação a linhagem normotensa.

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistics – 2005 Update. Dallas, Texas. <http://www.americanheart.org/>. American Heart Association, 2005.

APPEL, LJ et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. **N Engl J Med**, Apr. 1997, vol. 336, n. 16, p. 1117-1124.

ASCHERIO A, RIMM EB, HERNÁN MA, GIOVANNUCCI E, KAWACHI J, STAMPFER MJ, WILLETT WC. Relation of consumption of vitamin E, vitamin C and carotenoids to risk for stroke among men in the United States. **Ann Intern Med** 1999; 130: 963-970.

ASPLUND K. Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review. **J Intern Med** 2002; 251 (5): 372-392.

BAÉZ, P. et al. Accidente cerebrovascular: análisis de la casuística en el servicio de medicina de un hospital de baja complejidad. **Bol. Hosp. Viña del Mar**, jun. 2004, vol 60, n. 2, p. 91-97.

BAKER H, LINDSEY RJ. **The Laboratory Rat**. CPR. Press 1998.

BANDO N, YAMANISHI R, TERAOKA J. Inhibition of immunoglobulin E production in allergic model mice by supplementation with vitamin E and beta-carotene. **Biosci Biotechnol** 2003; 67(10): 2176-82.

BARUA AB. Absorption and conversion of a single oral dose of beta-carotene in corn oil to vitamin A in Sprague-Dawley rats with low reserve of vitamin A. **Int J Vitam Nutr Res** 2003;73(4): 267-73

BIANCHI, MLP; ANTUNES, LMG. Radicais livres e os principios antioxidantes da dieta. **Rev Nutr**, maio/ago. 1999, vol.12, n.2, p.123-130.

BOER, H. V, PAIVA, T. B, VIANNA, L. M. Esteróides sexuais e não sexuais na hipertensão arterial da menopausa. **Cadernos NEPEN** 2000; 9: 7-11.

BURTON G W. Antioxidant action of carotenoids. **J Nutrition** 1989; 119: 109-11.

CAMPOS, BAG; PEREIRA FILHO, WC. Estenose de carótida extracraniana. **Arq. Bras. Cardiol.**, dez. 2004, vol.83, n.6, p.528-532.

CHEN J et al. Serum antioxidant vitamins and blood pressure in the United States population. **Hypertension**, Dec. 2002, vol.40, n.6, p.810-816.

CLARKE, R; ARMITAGE, J. Antioxidant vitamins and risk of cardiovascular disease. Review of large-scale randomized trials. **Cardiovasc Drugs and Therapy**, Sep.2002, vol.16, n.5, p.411-415.

CROQUET V et al. Hepatic hyper-vitaminosis A: important of retinyl ester level determination. **Eur J Gastroenterol Hepatol** 2000 Mar; 12(3): 361-4

CZERNICHOW, S; BLACHER, J; HERCBERG, S. Antioxidant vitamins and blood pressure. **Curr Hypertens Rep.**, Feb. 2004, vol.6, n.1, p.27-30.

CORREIA, M I T D. Antioxidação- O papel das Vitaminas. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica** 2001; 16: 74-8.

DELLARETTI FILHO, MA; de SOUSA, AA; CARVALHO, GT; de CASTRO, MF. Trombose de artéria carótida comum: tratamento cirúrgico com anastomose subclávio-carotídea. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, jun. 2003, vol.61,n.2B, p.453-455.

DEL MAESTRO, RF. Ann Aproach to Free Radicals in Medicine and Biology. **Acta Physiol. Scand.** Suppl.1980. v. 492, pp. 153-168.

DIJK, JM et al. Carotid stiffness indicates risk of ischemic stroke and Tia in patients with internal carotid artery stenosis: the SMART study. **Stroke**, Oct.2004, vol.35, n.10, p.2258-2262.

DEMMIG-ADANS B, GILMORE A M, ADAMS WW,. Carotenoids 3: in vivo function of carotenoids in higher plants. **FASEB J** 1996; 10: 403-412.

DWYER, JH et al. Progression of carotid intima-media thickness and plasma antioxidants: the Los Angeles Atherosclerosis Study. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, Feb.2004, vol.24 n.2, p.313-319.

ELEJALDE GUERRA, JI. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. **An Med Interna**, Jun. 2001, vol.18, n.6, p.326-335.

FUKUDA, S; TSUCHIKURA, S; IIDA, H. Age-Related Changes in Blood Pressure, Hematological Values, Concentrations of Serum Biochemical Constituents and Weights of Organs in the SHR/Izm, SHRSP/Izm and WKY/Izm. **Experimental Animals**, Jan.2004, Vol.53, N.1, p67-72.

FUSTER, V., GOTTO, A. M., LIBBY, P.; et al. Task force 1. Pathogenesis of coronary disease: the biologic role of risk factors. **J Am Coll Cardiol** 1996; 27:964-76.

GALE, CR; ASHURST, HE; POWERS,HJ; MARTYN, CN. Antioxidant vitamin status and carotid atherosclerosis in the elderly. **Am J Clin Nutr.**, Sep. 2001, vol.74, n.3, p.402-408.

GRANGER, D.N.; PARKS, D.A. Ischemia-Reperfusion Injury; Role of Oxygen Derivate Radicals. **Acta Physiol Scand suppl.**1986. v. 548, pp. 47-63.

HABER, F.; WEISS, J. The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxyde by Iron Salts. **Proc. Soc. Lond Serv.** 1954.v., pp. 322-351.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. Free Radicals in Biology and Medicine. **Oxford Univ. Press.** NY. 1999.

IKEDA, K et al. Antioxidant nutrients and hypoxia/ischemia brain injury in rodents. **Toxicology**, Jul. 2003,vol.189, n.1-2, p.55-61.

IRIBARREN, C. et al. Association of serum vitamin levels, LDL susceptibility to oxidation, and autoantibodies against MDA-LDL with carotid atherosclerosis. A case-control study. The ARIC Study Investigators. Atherosclerosis Risk in Communities. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, Jun.1997, vol.17, n.6, p.1171-7.

KIHARA, E N et al. Tratamento endovascular das lesões estenóticas em bifurcação carotídea: estudo retrospectivo de 79 pacientes tratados por “stent” e angioplastia com e sem mecanismos de proteção cerebral. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, dez.2004, vol.62, n.4, p.1012-1015.

KOURY, J C; DONANGELO, C M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev.Nutr.**, out/dez.2003, vol.16, n.4, p.433-441.

KRITCHEVSKY, SB. et al. Dietary antioxidants and carotid artery wall thickness. The ARIC Study. Atherosclerosis Risk in Communities Study. **Circulation**, Oct.1995, vol.92, n.8, p.2142-2150.

KRITCHEVSKY, SB. Beta-Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. **J Nutr.**, Jan.1999, vol.129, n.1, p.5-8.

KLEIN B P, KING D, GROSSMAN S. Cooxidation reactions of lipoxygenase of plant systems. **Adv Free Radical Biol Med** 1985; 1: 309-43.

KRUMMEL, D. Nutrição na Doença Cardiovascular. In: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 9 ed. São Paulo: Roca, 1998.p.525-67.

LEINONEN JS, AHONEN JP, LONNROT K; et al. Low plasma antioxidant activity is associated with high level volume and neurological impairment in stroke. **Stroke**. 2000; 31: 33.

LEVINE, R.L.; WILLIAMS, J.^a; STADTMAM, E.R.; et al. Determination of Carbonyl Content in Oxidatively Modified Proteins. **Methods Enzymol**. 1990.v. 186, pp.464-478.

LEIGHTON, F; URQUIAGA, I. Indicaciones y Utilidad de los Antioxidantes. Sociedad Chilena de Cardiología y Cirugía Cardiovascular Santiago de Chile. Jul.1997.
<http://www.bio.puc.cl/vinsalud/publica.htm#Antioxidantes%20Naturales>

LEPPALA JM et al. Different risk factors for different strokesubtypes association of blood pressure, cholesterol, and antioxidants. **Stroke**, Dez.1999, vol.30, n.12, p.2535-2540.

MAGUIRE, S et al. Stroke-prone rats exhibit prolonged behavioral deficits without increased brain injury: an indication of disrupted post-stroke brain recovery of function. **Neurosci Lett.**, Jan.2004, vol.354, n.3, p.229-233.

MAHAN LK; ESCOTT-STUMP, MA. Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 10 Ed, São Paulo: Editora Roca, 2002, p.914.

MANNING Jr, RD; TIAN N; MENG S. Oxidative Stress and Antioxidant Treatment in Hypertension and the Associated Renal Damage. **American Journal of Nephrology**, Jun. 2005, vol.25, n.4, p.311-317.

MC CORD, J.M.; FRIDOVICH, I. The Redution of Cytochrome by Milk Xanthine Oxydase. **J. Biol. Chem.** 1968.v. 243, pp. 5753-5760.

MIKSAD R, de LÉDINGHEN V, Mc DOUGALL C, FIEL I, ROSEMBERG H. Hepatic hidrotorax associated with vitamin A toxicity. **J Clin Gastroenterol** 2002 Mar; 34(3): 275-9.

MORARD, M.R.S., Efeito de um novo modulador do TNF- α e inibidor de fosfodiesterases (LASSBio 596) sobre a lesão de isquemia-reperfusão pulmonar: estudo experimental. Rio de Janeiro, 2003, Tese (Doutorado em Cirurgia – Setor Torácico). Faculdade de Medicina. UFRJ. p. 158.

NAGAI K, HOSAKA H, KUBO S, NAKABAYASHI T, AMAGASAKI Y, NACAMURA N. Vitamin A toxicity secondary to excessive intake of yellow-green vegetables, liver and laver. **J Hepatol** 1999;31(1): 142-8.

NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION PROGRAM WORKING GROUP REPORT ON PRIMARY PREVENTION OF HYPERTENSION. **Arch Intern Med** 1993; 153-186.

NOGUCHI T, IKEDA K, SASAKY Y, et al. Nutritional prevention on hipertension, cerebral hemodynamics and thrombosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Cell Mol Neurobiol** 2004, 24(5) : 599-638.

OGATA J, FUJISHIMA M, TAKAMI K, et al. Vascular changes underlying cerebral lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Acta Neuropathol** 1981; 54: 183-188.

OKAMOTO K, YAMORI Y, NAGAOKA A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. **Circ Res** 1974; 33/34: 1143-1153.

OLIVEIRA, GS; VIANNA, LMA. Resposta pressórica de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos a suplementação de β -caroteno. **Revista da SOCERJ**, Jun. 2004, vol.17, suplemento A.

PALACE, V; KUMAR, D et al. Regional differences in non-enzymatic antioxidants in the heart under control and oxidative stress conditions. **J Mol Cell Cardiol.**, Jan.1999, vol.31, n.1, p.193-202.

PALACE, VP; KHAPER, N; QIN, Q; SINGAL, PK. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. **Free Radic Biol Med.**, Mar.1999, vol.26, n.5-6, p.746-761.

PARSLOW, RA et al. Associations between plasma antioxidants and hypertension in a community-based sample of 415 Australians aged 60-64. **J Hum Hypertens.**, Mar.2005, vol.19,n.3, p.219-226.

RUSSO, C et al. Anti-oxidant status and lipid peroxidation in patients with essential hypertension. **J Hypertens.**, Sep.1998, vol.16, n.9, p.1276-1271.

SÁNCHEZ, LAR; GALLARDO, AL. Resultados de nuestro trabajo en la unidad de ictus / Our results in Ictus Unit. **Mediciego**, jun.2004, vol.10, n.1.

SCHERLE W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie** 1970;26: 57-60.

SEIFERTY WF et al. Beta-carotene (provitamina A) decreases the severity of CCL4-induced hepatic inflammation and fibrosis in rats. **Liver** 1995; 15(1): 1-8.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DOENÇAS CEREBROVASCULARES. Primeiro consenso brasileiro do tratamento da fase aguda do acidente vascular cerebral. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, dez.2001, vol.59, n. 4, p.972-980.

SINGAL, PK; N. KHAPER; PALACE, V; KUMAR, D. The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. **Cardiovasc Res.**, Dez.1998, vol.40, n.3, p.426-432.

SIES H, STAHL W, SUNDQUIST A R. Antioxidant functions of vitamins: vitamins E and C, beta-carotene and other carotenoids. **Annals of the New York Academy of Science** 1992; 669:7-20.

STAHL W, SIES H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? **Arch Biochem Biophys** 1996 336 (1): 1-9.

TAKEMORI, K; ISHIDA, H; ITO, H. Continuous inhibition of the renin-angiotensin system and protection from hypertensive end-organ damage by brief treatment with angiotensin II type 1 receptor blocker in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Life sciences*, In Press, Corrected Proof, jun.2005.

TARDINI, DMS et al. Avaliação de dois modelos experimentais de isquemia e reperfusão cerebral em ratos com oclusão temporária carotídea associada ou não à oclusão vertebral. **Acta Cir. Bras.**, nov/dez.2003, vol.18, n.6, p.514-517.

VIANNA, L. M. Efeito da administração crônica de colecalciferol a ratos espontaneamente hipertensos. Tese de doutorado apresentada na Escola Paulista de Medicina, 1992.

VIANNA LM. A influência das vitaminas D e E na composição dos fosfolipídios de membrana e sua repercussão sobre a hipertensão arterial. **Nutrição Brasil** 2002; 3: 161-64.

VIVEKANANTHAN, DP et al. Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. **Lancet.**, Jun.2003, vol.361, n.9374, p.2017-2023.

VANNUCCHI H, JORDÃO A J. Radicais Livres, Antioxidantes e Dieta. A importância das frutas e verduras. In: Importância de Alimentos Vegetais na Proteção da Saúde – Fisiologia da Nutrição Protetora e Preventiva de Enfermidades Degenerativas. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu, 2001. p.11-38.

VIANNA L M, GUSMÃO E. G., PAIVA T. B. Effect of treatment with cholecalciferol on the membrane potential and contractility of aortae from Spontaneously Hypertensive Rats. **British Journal of Pharmacology**, 1996.118(6): 1367-1370,.

VIANNA L M, PAIVA, A. C. M., PAIVA, T. B. Treatment with vitamin D3 reduces blood pressure of SHR. **GEN Hypertension** 1992: 218:589-91.

VIANNA LM. Manual de Nutrofisiologia Experimental. Ed. Difusão, Rio de Janeiro, 2005, in press.

ZUREIK, M et al. Effects of long-term daily low-dose supplementation with antioxidant vitamins and minerals on structure and function of large arteries. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, Aug.2004, vol.24, n.8, p.1485-1491.

WAGNER, J. Potential role of retinoids in the therapy of renal disease. **Nephrol Dial Transplant.**, Mar.2001, vol.16, n.3, p.441-444.

WOLZ, M et al. Statement from the National High Blood Pressure Education Program: Prevalence of hypertension. **Am J Hypertens.**, Jan.2000, vol.13, n.1, p.103-104.

WILLIAMS S R. FAT-Soluble Vitamins. In: Williams S R, ed. Nutrition and Diet Therapy. Saint Louis: Mosby, 1997: 159-80.

YAYAMAGATA K, TAGAMI M, NARA Y, et al. Faulty induction of blood-brain barrier functions by astrocytes isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Clin Exp Pharmacol Physiol** 1997; 24:686-91.

YAMORI Y . Studies on spontaneously hypertension – development from animal models toward man. **Clin Exp Hypertens** 1991; 13:631-644.

YAMORI Y. HORIE R, SATO M. et al. Pathogenetic similarity of stroke in stroke-prone SHR and human. **Stroke**, 1999 7: 46-53.

YAMORI Y. The stroke-prone spontaneously hypertensive rats: Contribution to risk factor analysis and prevention of hypertensive diseases. In: NOGUCHI T, IKEDA K, SASAKI Y, YAMORI Y. Nutritional prevention on hypertension, cerebral hemodynamics and thrombosis in Stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Cell Mol Neurobiol** 2004, 24 (5): 599-638.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)