Universidade de São Paulo

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

RAFAELA PRAVATO COLATO

Mecanismos celulares envolvidos na reatividade à angiotensina II, em ratos submetidos à nefrectomia 5/6

Ribeirão Preto

2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

RAFAELA PRAVATO COLATO

Mecanismos celulares envolvidos na reatividade à angiotensina II, em ratos submetidos à nefrectomia 5/6

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Área de concentração: Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria de Oliveira

Ribeirão Preto

2009

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catalogação na Publicação

Serviços de Documentação

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Colato, P. Rafaela

Mecanismos celulares envolvidos na reatividade à angiotensina II em ratos submetidos à nefrectomia 5/6 / Rafaela Pravato Colato; orientadora: Ana Maria de Oliveira – Ribeirão Preto, 2009.

147 f.: fig.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em farmacologia. Área de Concentração: Farmacologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

1. Aterosclerose. 2. Nefrectomia 5/6. 3. Angiotensina II.
4. Reatividade Vascular. 5. Carótida

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autora: Rafaela Pravato Colato

Título: Mecanismos celulares envolvidos na reatividade à angiotensina II, em ratos submetidos à nefrectomia 5/6.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Área de concentração: Farmacologia.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição_____Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição_____Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição_____Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

Primeiramente à Deus, que acima tudo me proporcionou capacidade para desenvolver e concluir este trabalho.

Aos meus pais, Idair e Maria Inês, à minha irmã Mariane, à minha tia Márcia, aos meus primos Vinícius e Vitória. À minha avó, Arides, que está junto de Deus e, sempre se preocupou com o meu sucesso e meu futuro. Obrigada pelo apoio, incentivo, amor, carinho e dedicação.

Aos meus avós Euclydes e Dirce e avô José, e todos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, me encorajando e me ajudando ser uma pessoa melhor. Obrigada pela paciência e por completar a minha vida de forma tão iluminada.

Amo muito todos vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus e Nossa Senhora das Graças por terem me iluminado e capacitado, tornando tudo isto possível!

Aos meus pais, Idair e Maria Inês, por todo amor, dedicação, apoio e compreensão infinitos ao longo de toda minha vida.

À professora Dra. Ana Maria de Oliveira, que além de orientadora desempenhou papel de educadora e amiga, contribuindo muito para minha formação profissional e pessoal. Obrigada por me receber como orientada, pela paciência, apoio, carinho, atenção e confiança.

Ao professor Dr. Fernando Morgan de Aguiar Corrêa, meu assessor, pela atenção e oportunidade de desenvolver parte deste trabalho sob sua orientação.

Ao professor Dr. Sérgio Akira Uyemura, professor da disciplina Bioquímica Clínica da FCFPR-USP, por abrir as portas de seu laboratório, por sua amizade, apoio, atenção e sugestões que enriqueceram este trabalho.

Ao professor Dr. Marcelo Dias Baruffi e ao professor Dr. José Antunes Rodrigues, que disponibilizaram as técnicas de seus laboratórios, para realização de análises bioquímicas.

À professora Dra. Leandra Naira Zambelli Ramalho, e a D. Auristela (Lili) pela contribuição de cunho inestimável para realização deste trabalho

Ao Carlos Crestani, doutorando da FMRP-USP, pelo apoio no desenvolvimento de experimentos que contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

À Mayara Santos Gomes, Miriam Cristina Coutin Melo, Juliana Aparecida Vercesi e Flávia Fiacadori, técnicas do laboratório de Farmacologia da FCFRP-USP, pela amizade, carinho, atenção e disponibilidade para ajudar sempre que foi necessário na realização de cirurgias e experimentos, e ao Antônio, técnico do laboratório de Bioquímica Clínica da FCFRP-USP pelo apoio e ajuda na execução das análises bioquímicas.

À Marlene Rodrigues da Silva, secretária da disciplina de farmacologia da FCFRP-USP, por sua amizade, dedicação, atenção e apoio. A Sônia Maria Stefanelli, Fátima Helena Ferreira Petean e ao José Waldik Ramon, secretários do departamento de Farmacologia da FMRP-USP, pela atenção e generosidade.

À Senhora Aparecida Rosa da Silva (Nina), funcionária do laboratório da disciplina de farmacologia da FCFRP-USP, pela amizade, carinho, e generosidade.

À Larissa, Aline, Lílian, Fernanda, Tamy e Bruno pela amizade, companheirismo, apoio e pelas discussões científicas bastante enriquecedoras.

À Vânia (“tia Vana”) e Daniella Bonaventura (“mãe Dani”) pela amizade, auxílio, discussões e apoio na execução dos experimentos, relatórios e da dissertação.

À Alice, Amanda, Michele, Bruno, José Wilson, Fernanda, Andréa, Denis (Ronaldinho), Lívia, Zezé, Gerson, Renes, David, Daniel, Claure, Fernando, Juliano,

Valquíria, Carol, Kana, Luciana (Lú), Évellyn, amigos de laboratório da FCFRP-USP, pela amizade e convívio muito agradável.

Às professoras Dra. Glória Emília Petto de Souza, Dra. Lusiane Maria Bendhack e Dra. Sâmia Joca, docentes da disciplina de Farmacologia da FCFRP-USP, pela amizade, dedicação, generosidade, atenção e convívio muito agradável.

Ao Rafa Poloni, Lorena, Miltinho, Carol Baldo, Anna Laura e Regina Albuquerque pela amizade, companheirismo, atenção e apoio nos momentos mais difíceis.

Ao Ricco e Ranna, que também fazem parte da minha vida e me fizeram companhia nesta etapa.

Aos professores do departamento de Farmacologia da FMRP-USP pela participação em minha formação científica.

A todos os pós-graduandos do departamento de Farmacologia da FMRP-USP pela convivência agradável.

Aos funcionários do Biotério, Reinaldo e D. Terezinha (FCFRP-USP) pelo cuidado e zelo com meus animais.

À Universidade de São Paulo que através da FCFRP e FMRP, e ao CNPq me forneceram o suporte intelectual e material para a realização deste estudo.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Resumo

O sistema renina-angiotensina (SRA) tem um papel importante na iniciação e progressão da aterosclerose, contribuindo ao desenvolvimento das doenças cardiovasculares (DCV). A renina é uma enzima proteolítica sintetizada como pré-pró renina, que é clivada em pró-renina, e posteriormente em renina ativa, a qual é armazenada e liberada de imediato após estímulo. Quando é liberada na circulação, a renina cliva o angiotensinogênio, formando a angiotensina I (Ang I). A Ang I, por sua vez, em sua passagem pela circulação pulmonar, é clivada pela enzima conversora de angiotensina (ECA), produzindo a angiotensina II, que é um hormônio biologicamente ativo. Pacientes com doença renal crônica, quando comparados à população geral, apresentam maior prevalência de DCV, incluindo doença coronariana, cérebro-vascular, vascular periférica e insuficiência cardíaca.

O presente trabalho mostra através dos parâmetros bioquímicos que os animais que passaram pelo processo cirúrgico desenvolveram insuficiência renal crônica, uma vez que foi observada redução da taxa de filtração glomerular e do clearance de creatinina, bem como o aumento do clearance de proteínas totais.

Observa-se uma diminuição significativa da pressão arterial média (MAP) após infusão de Ang II e fenilefrina (Phe), 28 dias após a nefrectomia 5/6.

O presente estudo mostra que em carótidas de animais com insuficiência renal crônica o efeito máximo (Emax) produzido pela Ang II foi significativamente diminuído, comparado aos sham operados. Na presença do inibidor não seletivo das óxidos nítricos sintases (L-NAME), bem como dos respectivos inibidores seletivos para as isoformas eNOS, iNOS e nNOS, o Emax da Ang II em artérias de animais nefrectomizados foi restabelecido ao nível dos sham, sugerindo que a produção de NO e/ou expressão das NOS podem estar aumentadas no modelo de insuficiência renal crônica, comprometendo o efeito máximo desencadeado pela Ang II.

Os resultados mostram que parece haver participação da enzima ciclooxigenase-1 (COX-1) na diminuição do Emax da Ang II em carótidas de ratos nefrectomizados. Receptores AT_2 também parecem participarem da redução do Emax desencadeado pela Ang II no modelo de insuficiência renal crônica.

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que a remoção endotelial parece não alterar o Emax da Phe e do KCl em carótidas do grupo nefrectomizado, sugerindo um comprometimento da capacidade contrátil em carótida de animais com insuficiência renal crônica, bem como a perda da modulação inibitória do endotélio sobre a vasoconstrição induzida por Phe e KCl.

A integridade endotelial na artéria dos animais nefrectomizados está preservada, pois o relaxamento desencadeado pela Ach foi semelhante tanto em artérias de animais sham, quanto em artérias de animais com insuficiência renal crônica. Esse dado foi confirmado pela análise morfológica dessas artérias que demonstraram similaridade morfológica entre os grupos em estudo.

Abstract

The renin-angiotensin system (RAS) plays an important role in the initiation and progression of atherosclerosis, contributing to the development of cardiovascular disease (CVD). The proteolytic enzyme renin is synthesized as pre-pro renin, which is cleaved in pro-renin, and later in active renin, which is stored and released immediately after stimulation. When released into the circulation, cleaved to the renin angiotensinogen, to form angiotensin I (Ang I). The Ang I, in turn, in its passage through the pulmonary circulation, is cleaved by angiotensin-converting enzyme (ACE), producing angiotensin II, a hormone that is biologically active. Patients with chronic kidney disease, when compared to the general population, have higher prevalence of CVD, including coronary disease, cerebral-vascular, peripheral vascular and heart failure. This paper shows through the biochemical parameters that animals that experienced surgical procedure developed chronic renal failure, since a decrease in glomerular filtration rate and creatinine clearance, and increasing the clearance of total protein. There is a significant reduction in mean arterial pressure (MAP) after infusion of Ang II and phenylephrine (Phe), 28 days after nephrectomy 5/6. This study shows that in carotids from animals with chronic renal failure the maximum effect (Emax) produced by Ang II was significantly decreased, compared to sham operated. In the presence of non-selective inhibitor of nitric oxide synthase (L-NAME) and selective inhibitors of the isoforms for eNOS, iNOS and nNOS, the Emax of Ang II in arteries of animals nefrectomizados was restored to the level of sham, suggesting that the production of NO and / or expression of NOS might be increased in the model of chronic renal failure, affecting the maximum effect triggered by Ang II. The results show that there is involvement of the enzyme cyclooxygenase-1 (COX-1) in the reduction of the Emax of Ang II in the rat carotid nefrectomizados. AT_2 receptors also seem part of the reduction of Emax triggered by Ang II in the model of chronic renal failure. The results of this study show that endothelial removal does not change the Emax of Phe and KCl in the carotid group nefrectomizado, suggesting an impairment of the contractile

capacity in carotid artery of animals with chronic renal failure and the loss of inhibitory modulation of endothelium on vasoconstriction induced by KCl and Phe. The integrity of the artery endothelial nefrectomizados animals is preserved, since the relaxation caused by ACh was similar in both arteries of sham animals, and in arteries of animals with chronic renal failure. This finding was confirmed by morphological analysis of the arteries that showed morphological similarities between the groups under study.

Sumário

Introdução.....16

Estudo da Arte.....17

Aspectos Gerais.....20

Objetivos.....25

Materiais e Métodos.....27

1. Animais.....28

2. Processo Cirúrgico.....28

3. Divisão dos grupos experimentais.....29

4. Histologia.....29

5. Análise bioquímica.....29

5.1 Análise de amostras de urina.....30

5.1.1 Análise da excreção urinária de creatinina.....30

5.1.2 Análise da excreção urinária de proteínas totais.....30

5.1.3 Análise da excreção urinária de sódio.....30

5.1.4 Análise da excreção urinária de potássio.....31

5.2 Análise de amostras de sangue.....31

5.2.1 Análise de creatinina no soro.....31

5.2.2 Análise de Albumina no soro.....31

5.2.3 Análise de proteínas totais no soro.....32

5.2.4 Análise de sódio no soro.....32

5.2.5 Análise de potássio no soro.....32

5.3 Estudo da filtração glomerular.....33

5.4 Estudo do clearance de creatinina.....33

5.5 Estudo do clearance de proteínas totais.....33

6. Estudo da pressão arterial sistólica.....34

7. Estudo da pressão arterial média (MAP)

da freqüência cardíaca (HR).....34

8. Estudo da reatividade vascular a agonistas.....34

8.1 Protocolos experimentais.....35

8.1.1 Reatividade vascular a angiotensina I (Ang I).....35

8.1.2 Reatividade vascular a angiotensina II (Ang II).....35

8.1.3 Estudo da participação do óxido nítrico na resposta contrátil

induzida pela Ang II.....35

8.1.4 Estudo da participação da óxido nítrico sintase neuronal na resposta

contrátil induzida pela AngII.....36

8.1.5 Estudo da participação da óxido nítrico sintase induzida na resposta

contrátil induzida pela Ang II.....36

8.1.6 Estudo da participação da óxido nítrico sintase endotelial na resposta

contrátil induzida pela Ang II.....36

8.1.7 Estudo da participação da ciclooxigenase-1 nas respostas

Vasculares.....37

8.1.8 Estudo da participação da ciclooxigenase-2 nas

respostas vasculares.....37

8.1.9 Estudo da participação dos receptores AT_1 nas respostas

vasculares.....37

8.2 Estudo da participação dos receptores AT_2 nas respostas

vasculares.....37

8.2.1 Estudo da participação do óxido nítrico e dos receptores AT_2

nas respostas vasculares.....38

8.2.2 Estudo da potência dos antagonistas seletivos Losartan

e PD123319.....38

8.2.3 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade

vascular ao KCl.....39

8.2.4 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade

vascular à Fenilefrina (Phe).....39

8.2.5 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade

vascular à acetilcolina (ACh).....39

9. Análise Estatística.....39

Resultados.....40

4. Histologia.....41

5. Análise Bioquímica.....43

5.1 Análise de amostras de urina.....43

5.1.1 Análise da excreção urinária de creatinina.....43

5.1.2 Análise da excreção urinária de proteínas totais.....46

5.1.3 Análise de excreção urinária de sódio.....47

5.1.4 Análise de excreção urinária de potássio.....48

5.2 Análise de amostra de sangue.....49

5.2.1 Análise de creatinina no soro.....41

5.2.2 Análise de albumina no soro.....50

5.2.3 Análise de proteínas totais.....51

5.2.4 Análise de sódio no soro.....52

5.2.5 Análise de potássio no soro.....53

5.3 Estudo da filtração glomerular.....55

5.4 Estudo do clearance de creatinina.....56

5.5 Estudo do clearance de proteínas totais.....57

6. Estudo da pressão arterial sistólica.....59

7. Estudo da pressão arterial média MAP e da freqüência

cardíaca (HR).....61

8. Estudo da reatividade vascular a agonistas.....67

8.1 Protocolos Experimentais.....67

8.1.1 Reatividade vascular a angiotensina I (Ang I).....67

8.1.2 Reatividade vascular a angiotensina II (Ang II).....71

8.1.3 Estudo da participação do óxido nítrico na resposta contrátil induzida pela Ang II.....75

8.1.4 Estudo da participação da óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) na resposta contrátil induzida pela Ang II.....79

8.1.5 Estudo da participação da óxido nítrico sintase induzida (iNOS) na resposta contrátil induzida pela Ang II.....83

8.1.6 Estudo da participação da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) na resposta contrátil induzida pela Ang II.....87

8.1.7 Estudo da participação da ciclooxigenase-1 nas respostas vasculares.....92

8.1.8 Estudo da participação da ciclooxigenase-2 nas respostas vasculares.....96

8.1.9 Estudo da participação dos receptores AT_1 nas respostas vasculares.....100

8.2 Estudo da participação dos receptores AT_2 nas respostas vasculares.....105

8.2.1 Estudo da participação do óxido nítrico e dos receptores AT_2 nas respostas vasculares.....110

8.2.2 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular ao KCl.....115

8.2.3 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular à Fenilefrina (Phe).....119

8.2.4 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular à acetilcolina (ACh).....123

Discussão.....126

Referências Bicliográficas.....135

Introdução

Estado da Arte

Aproximadamente 5% a 10% da população mundial podem ser portadoras de doença renal crônica (DRC) (Serrano et al., 2008). Segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia, o número de pacientes com doença renal em 2003 era na ordem de 54 mil (Cunha et al., 2007), aumentando cerca de 8% ao ano (Lima, 2007; Sesso and Gordan, 2007). A maior causa de morte dos pacientes com DRC é de origem cardiovascular, atingindo um índice anual em torno de, aproximadamente 9%, da população geral, mesmo quando o ajuste é feito para outros fatores de risco, como idade, raça, sexo e presença de diabetes mellitus (Foley et al., 1998; Perico et al., 2008).

Na maioria dos pacientes com DRC observam-se patologias tais como aterosclerose, hipertensão, diabetes (Dummer et al., 2007; Cattai et al., 2007), dislipidemia (Kronenberg et al., 2000), bem como, tabagismo e obesidade (Dummer et al., 2007). Além disso, a insuficiência renal crônica desencadeia toxicidade urêmica, aumento do estresse oxidativo, alterações na cascata de coagulação e alterações lipídicas, contribuindo com a gênese da aterosclerose (Langendorf et al., 1945), problema cardíaco (Stefanski et al., 1996), resistência à insulina (Fliser et al., 1998) e alterações na vasodilatação dependente do endotélio (Annuk et al., 2003), sendo os fatores de risco prevalentes nos pacientes em diálises (Ross et al., 1993; Gensini et al., 1998; Huysmans et al., 1998).

Na DRC, os sintomas manifestam-se lentamente. No estágio inicial, os efeitos sobre o estado geral de saúde são assintomáticos. À medida que a insuficiência renal avança, o indivíduo apresenta sintomas de fadiga, cansaço fácil, espasmos musculares, anemia, retenção de líquidos, redução do volume urinário, falta de ar, inchaço, hipertensão, falta de apetite, náusea, vômitos, confusão mental e coma (Barros et al., 1999).

Pacientes com doença renal crônica, quando comparados à população geral, apresentam maior prevalência de doenças cardiovasculares, tais como coronariana, cérebro-vascular (Prohovnik et al., 2007), vascular periférica e insuficiência cardíaca (Neves et al., 2008). Alguns estudos têm demonstrado o desenvolvimento precoce de doenças cardiovasculares (Canziani et al., 2004), sendo uma das principais incidências de morbidade e mortalidade de pacientes com insuficiência renal crônica (Haktanir et al., 2005).

Alguns estudos têm demonstrado que a insuficiência renal crônica promove alterações no fluxo sanguíneo cerebral (Skinner et al., 2005; Haktanir, et al., 2005; Szprynger, et al., 2000), além de promover prejuízo cognitivo (Murray et al., 2006), podendo apresentar crises convulsivas (Fujimaki et al., 1998; Barros et al., 1999). Entretanto, as causas o os processos que levam a essas alterações ainda não são bem conhecidas (Prohovnik et al., 2007).

A perda aguda do volume intravascular e a mudança de fluídos que ocorrem durante o processo de diálise induzem edema cerebral, diminuindo a pressão sanguínea intracerebral, a velocidade sanguínea e a prefusão cerebral (Murray et al., 2006).

O sistema renina angiotensina participa do processo homeostático do organismo (Brewster et al., 2004), incluindo o coração, rim, vasos sanguíneos, glândulas adrenais e controle cardiovascular (Crowley et al., 2006). A ativação exacerbada dessa cascata promove danos ao rim, decorrente da produção excessiva de angiotensina II (Ang II), levando às patologias associadas com proteinúria, tais como nefropatias diabéticas e não diabéticas (Jacobson, 1991; Hostetter et al., 2001), hipertensão e problemas cardiovasculares (Lonn et al., 1994). A síntese de Ang II pode ocorrer de maneira local e/ou sistêmica (Engeli et al., 2000; Martin et al., 2006), podendo produzir efeitos autócrinos ou parácrinos (Dzau, 1988).

Brown e Maegraith (1941) e Goldenberg et al., (1948), estudando a resposta da artéria renal à ação da adrenalina, tiramina e acetilcolina, após a indução de glomerulonefrite, observaram um aumento da resposta vasoconstritora às catecolaminas, porém uma redução da resposta vasodilatadora à acetilcolina, resultante da constrição do leito estudado. (Brown and Maegraith, 1941; Goldenberg et al., 1948).

Brown e Maegraith (1941), Goldenberg et al. (1948), Kelleher et al. (1987), Cusi e Bianchi, (1991) observaram aumento na reatividade à catecolaminas, em artéria renal de animais com insuficiência renal crônica (Kelleher et al., 1987; Cusi and Bianchi, 1991), resultado da diminuição do fluxo sanguíneo renal e diminuição do fluxo tubular (Adams et al., 1980). O aumento na reatividade à catecolaminas é conseqüente ao aumento na atividade do sistema simpático renal (Cusi and Bianchi, 1991). Além das alterações nas respostas vasoconstritoras, tem sido relatado também um comprometimento no vasorelaxamento dependente do endotélio e síntese de óxido nítrico (Coats et al., 2001).

Embora tenha sido descrita sobre a reatividade da artéria renal, é importante estudar a reatividade da artéria carótida, que é um dos principais vasos responsáveis pela irrigação do sistema nervoso central (Prohovnik et al., 2007), frente aos conhecimentos sobre as alterações do fluxo sanguíneo cerebral promovidas pela insuficiência renal crônica. É importante ainda conhecer os mecanismos celulares envolvidos na reatividade à Ang II, devido a sua participação no desencadeamento e progressão da doença renal (Jacobson, 1991; Hostetter et al., 2001).

Aspectos Gerais

O sistema renina-angiotensina (SRA) tem um papel importante na iniciação e progressão da aterosclerose, contribuindo ao desenvolvimento das doenças cardiovasculares (DCV). Este corresponde a um complexo sistema hormonal, cujo papel fundamental está relacionado com a homeostasia hidroeletrolítica do organismo e o controle da pressão arterial (PA) (Menard et al., 1993), estimulando também a liberação de aldosterona pelo córtex da supra renal. No entendimento clássico do SRA, a substância ativa Ang II é a responsável pela maioria dos efeitos fisiológicos observados e exerce suas ações em órgãos-alvo, distantes do local de produção (Dzau et al., 1986; Martin et al., 2006).

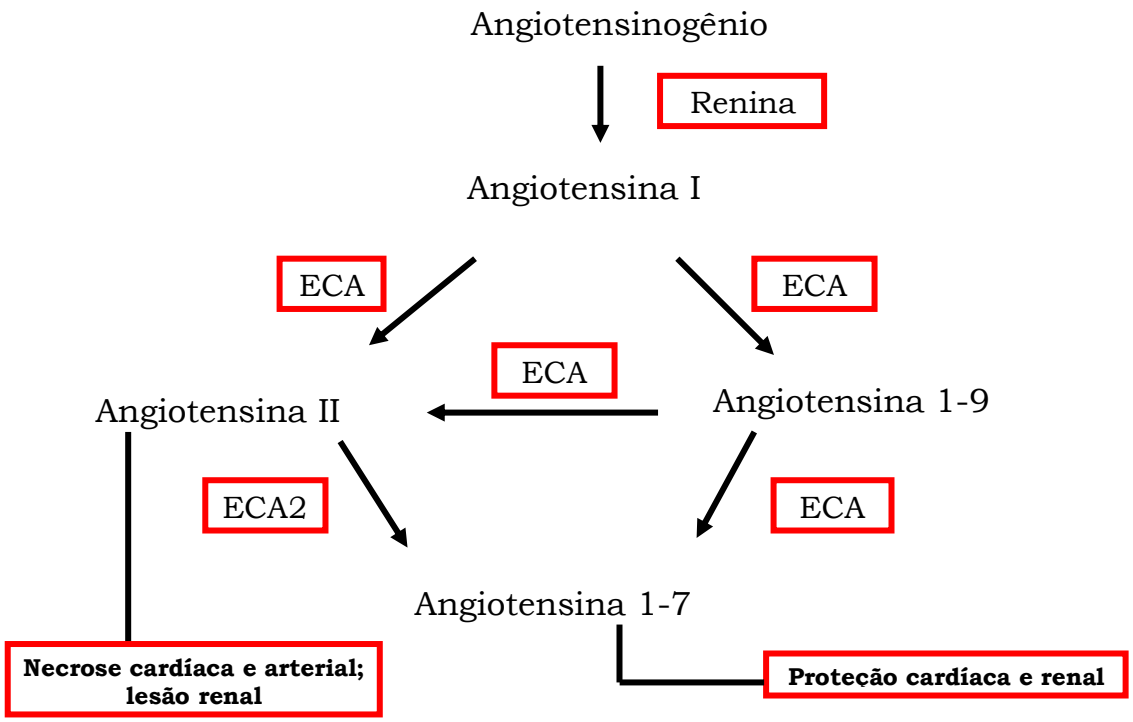
Existe uma grande relação entre a função renal e a hipertensão arterial e tem sido amplamente estudado. Dados da literatura consideraram o rim como um determinante final da pressão sanguínea, devido sua função na regulação do volume do fluído extracelular (Guyton et al., 1972). A hipertensão severa agride inevitavelmente o rim, agravando a doença renal crônica (Klag et al., 1996). Em 1988, Brenner e colaboradores propuseram uma hipótese alternativa que implica a deficiência renal, isto é, o número de néfrons como defeito (Brenner et al., 1988).

Trabalhos experimentais em ratos revelaram que a retirada de parte da massa renal promove mudanças estruturais e funcionais nos néfrons remanescentes caracterizadas por hipertrofia e hipertensão glomerular, proteinúria, esclerose glomerular progressiva e azotemia. Tais achados caracterizam o estado de hiperfiltração glomerular superimposto à massa residual (Ferreira et al., 2006).

A importância do rim na hipertensão surgiu após os primeiros experimentos, realizados por Robert Tigerstedt e Peter Bergman, em 1898, demonstrando que o extrato renal possuía uma substância capaz de elevar a pressão arterial (Tigerstedt e Bergman, 1898; Inagami et al., 1998). O envolvimento da PA no controle da liberação de renina foi

mostrado pela primeira vez pelo grupo de Goldblatt, em 1934, quando ficou estabelecido que uma substância vasopressora era liberada pelo rim em resposta a hipovolemia e/ou hipotensão. Esta substância foi posteriormente identificada como sendo a renina liberada pelo aparelho juxtaglomerular (Goldblatt et al., 1934). A renina é uma enzima proteolítica sintetizada como pré-pró renina, que é clivada em pró-renina, e posteriormente em renina ativa, a qual é armazenada e liberada de imediato após estímulo. Quando é liberada na circulação, a renina cliva o angiotensinogênio, formando a angiotensina I (Ang I). A Ang I, por sua vez, em sua passagem pela circulação pulmonar, é clivada pela enzima conversora de angiotensina (ECA), produzindo a angiotensina II, que é um hormônio biologicamente ativo (Phillips et al., 1999; Tamura et al., 1995). Apesar da angiotensina II ser a substância ativa mais importante do SRA, outras angiotensinas produzidas têm ações específicas e, entre as melhores caracterizadas até o momento, estão as angiotensinas III, IV e a angiotensina (1-7) (Santos et al., 2000). Todas estas angiotensinas podem ser produzidas a partir do mesmo precursor, o angiotensinogênio, por ação da renina e outras reações enzimáticas (Vianna et al., 2004; Martin et al., 2006)

Cascata do Sistema Renina-Angiotensina



A Ang II é um vasoconstritor extremamente potente, atuando de maneira direta sobre o músculo liso, principalmente de arteríolas, além de atuar sobre o córtex da supra renal, acarretando a liberação de aldosterona, com conseqüente aumento da reabsorção de sais e água pelos túbulos renais (Queiroz et al., 2001; Quan et al., 1996).

A rápida expansão das técnicas de biologia molecular permitiu que os componentes do SRA fossem clonados e seqüenciados, o que possibilitou a determinação da distribuição tecidual de seus componentes. Por isso, de modo diferente visão endócrina clássica, hoje se fala em sistemas renina-angiotensina teciduais, com funções parácrinas, autócrinas e epícrinas, A produção de Ang II também foi reconhecida em órgãos diferentes, como vasos, rim e coração (Queiroz et al., 2001; Nishiyama et al., 2002; Danser et al., 1999) entre outros, contudo, esta produção local da mesma e dos outros componentes do sistema renina-angiotensina parece não ter conexão com sua liberação sistêmica (Danser et al., 1999; Warnock et al., 2001). A Ang II formada nestes tecidos regula a expressão de fatores de crescimento, citocinas e moléculas de adesão,

as quais estão envolvidas no crescimento celular/apoptose, na fibrose e inflamação (Vianna et al., 2004).

A Ang II estimula a aterosclerose através de vários processos como a disfunção endotelial, a proliferação celular e a inflamação. Muitos destes efeitos aterogênicos da Ang II são mediados pela reativação do oxigênio. A inflamação induzida pelo sistema renina-angiotensina pode esclarecer a causa da patofisiologia das doenças ateroscleróticas (Fukuda et al., 2006).

Há décadas a Ang II é estudada, e acreditava-se que seu efeito fosse mediado por um único receptor. No final dos anos 80, estudos com antagonistas específicos identificaram os subtipos AT_1 e AT_2 (Carey et al., 2000). Até o início da década de 90, as ações da angiotensina II eram atribuídas ao receptor AT_1, sendo as funções do AT_2 pouco conhecidas (Ardaillou, 1999). Em 1992, Sasamura e colaboradores clonaram (Sasamura et al., 1994) e caracterizaram duas isoformas do AT_1: AT_{1A} e AT_{1B}. Hoje sabemos que existem vários tipos de receptores AT envolvidos em ações específicas da Ang II ou das outras angiotensinas.

Algumas ações dos receptores AT_2 funcionalmente se opõem às ações dos receptores AT_1 (Navar et al., 2000) podendo a própria Ang II agir de modo simultâneo sobre ambos os receptores, de modo a permitir uma modulação de seus efeitos (Arima et al., 2001). Além disso, evidências indicam que a ativação de receptores AT_2 contribui de forma importante na manutenção da homeostase cardiovascular e renal, bem como aumentam a expressão cardiovascular em situações patológicas (Schulman, et al., 2008).

A pressão arterial elevada é tanto uma causa quanto uma conseqüência da doença renal crônica. Como conseqüência, a hipertensão pode se desenvolver no início da doença renal crônica e está associada, particularmente com a perda mais rápida da função renal e desenvolvimento de DCV (Bastos et al., 2004).

Os efeitos benéficos dos bloqueadores do sistema renina-angiotensina podem ser uma conseqüência da redução da pressão capilar intraglomerular (Anderson et al., 1985) e também um efeito antiprotéico (Weidmann et al., 1995), antiinflamatório (Wu et al., 1997) antiproliferativo (Wolf et al., 1992) e antifibrótico (Peters et al., 1998; Oikawa et al., 1999).

Os inibidores da ECA pertencem a uma categoria de drogas com uso crescente em uma variedade de doenças, incluindo hipertensão, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, nefropatia diabética e outras formas de nefropatia. Além de converter Ang I em Ang II, a ECA também inativa as cininas, portanto os inibidores da ECA aumentam os níveis de bradicinina, o que contribui para seu efeito anti-hipertensivo. Além de reduzir a pressão arterial, os inibidores da ECA promovem regressão da hipertrofia ventricular, melhoram a disfunção endotelial, diminuem a morbi-mortalidade associada à insuficiência cardíaca, reduzem a mortalidade e melhoram a função cardíaca pós-infarto e reduzem a progressão da nefropatia diabética e de outras nefropatias (Cheung et al., 2002).

Embora o uso de drogas bloqueadoras do sistema renina angiotensina tenha sido empregada na clínica, é importante o conhecimento das conseqüências sobre os aspectos celulares que são afetados pela insuficiência renal, e outras vias e enzimas que podem modular os efeitos da Ang II (Burrel et al., 2004), abrindo novas alternativas no tratamento da hipertensão, levando em consideração que as doenças cardiovasculares serão em 2020 as principais causas de morte no país (Rigatto et al., 2004).

Palavras-chave:

Aterosclerose, nefrectomia 5/6, angiotensina II, reatividade vascular, carótida.

Objetivos

Objetivo Geral:

Estudar as conseqüências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular a Ang II em carótida de ratos.

Objetivos Específicos:

- Estudar as conseqüências da nefrectomia 5/6 na morfologia de artérias carótidas;
- Estudar a influência da insuficiência renal crônica nos parâmetros metabólitos;
- Estudar as conseqüências da insuficiência renal crônica na pressão arterial sistólica e pressão arterial média (MAP);
- Estudar a participação do óxido nítrico, bem como as isoformas da óxido nítrico sintase na modulação da contração induzida por Ang II em carótidas, após a nefrectomina 5/6;
- Estudar a participação de prostanóides na resposta contrátil induzida por Ang II em carótidas;
- Estudar a ativação dos receptores AT_1 e AT_2 na artéria carótida após nefrectomia 5/6;
- Estudar a influência da insuficiência renal crônica no vasorelaxamento dependente de endotélio em artérias carótidas;
- Estudar a capacidade contrátil das artérias carótidas por via independente de receptores.

Materiais e Métodos

1. Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos adultos, com idade média de 90 dias, provenientes do Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.

Os animais foram mantidos com livre acesso à água e alimento, em temperatura constante de 22ºC e em ciclo de luz de 12 horas (claro/escuro).

2. Processo Cirúrgico – Indução da insuficiência renal crônica

Os animais foram anestesiados com Ketamina (100 mg/Kg) e Xylazina (100 mg/Kg), através da administração intraperitonial.

Na primeira cirurgia foi removido dois terços do rim direito, através de uma incisão lateral. Foi utilizado adesivo de pele de uso veterinário, Vet Bond (3M), para impedir perda de sangue.

Após sete dias foi removido o rim esquerdo, através de uma incisão medial. Foi utilizado fio de nylon para amarrar a artéria renal, antes da remoção do órgão.

Os animais Sham passaram pelo processo cirúrgico fictício e os controles foram animais intactos, sem nenhum tipo de manipulação cirúrgica.

Foi usado 0,2 mL de terramicina, um antibiótico, através da administração intramuscular, para evitar possível infecção.

30 dias após a remoção de 5/6 da massa renal, os animais foram sacrificados e tiveram a artéria carótida isolada e retirada.

3. Divisão dos grupos experimentais

Os animais foram divididos em três grupos, sendo dois grupos controles, um composto de animais submetidos à cirurgia fictícia (Sham), outro composto de animais intactos, e um terceiro grupo, onde foi realizado o procedimento cirúrgico para indução da insuficiência renal crônica. É importante ressaltar que foram utilizados animais da mesma idade, e que o objetivo dos dois grupos controles é verificar se existe diferença entre eles, visto que os animais sham não permaneceram intactos.

4. Histologia

Os segmentos de artérias de animais controle e de animais operados foram removidos e fixados em formol tamponado a 10% durante 24 horas. Esses tecidos foram fixados, desidratados e incluídos em blocos de parafina. Cortes de 4 mm de espessura foram dispostos em lâmina de microscopia. As lâminas foram coradas segundo a técnica de coloração com Hematoxilina/Eosina. Os cortes foram analisados em microscópio Nikon (Japão) com aumento de 40x, e as imagens foram captadas por câmera digital (Coolpix 4500, Roper Scientific, Japão) armazenadas em computados e editadas utilizando o software Adobe PhotoShop 7.0 (Adobe System Inc.; Nasdaq: ADBE; San Jose, CA, USA).

5. Análise Bioquímica

Com o objetivo de caracterizar e validar o método cirúrgico, foram feitas análises bioquímicas temporais de amostra de soro e urina dos animais submetidos à nefrectomia 5/6, dos controles e dos Sham.

Com auxílio de gaiolas metabólicas foram coletadas as amostras de urina em um período de 24 horas. Dia -1 (menos um) foi definido como dia antes do processo cirúrgico. Dia 0 (zero), o dia da segunda operação. Dia 14 (quatorze) e 28 (vinte e oito) como 14 e 28 dias após a cirurgia, respectivamente.

Amostras de sangue foram coletadas da aorta abdominal dos animais, com o cuidado para não ocorrer hemólise, antes do isolamento e retirada da artéria carótida para a realização dos experimentos de reatividade.

5.1 Análise de amostras de urina após nefrectomia 5/6

Foram realizadas análises para quantificar a excreção urinária de creatinina, proteínas totais, sódio e potássio em amostras coletadas em um período de 24 horas.

5.1.1 Análise da excreção urinária de creatinina após nefrectomia 5/6

Primeiramente foi feita a diluição 1:25 da amostra, 1 (uma) parte de urina e 25 partes de água destilada. Em seguida, a amostra foi submetida à análise, com auxílio do aparelho Abba VP e do Kit creatinina K, da Labtest. Foram feitas duplicatas e triplicadas das amostras, para obter um resultado mais preciso da análise, sendo utilizado o valor de suas médias. Os resultados foram expressos em miligramas por decilitro (mg/dL).

5.1.2 Análise da excreção urinária de proteínas totais após nefrectomia 5/6

Foi feita a diluição 1:6 da amostra, 1 (uma) parte de urina e 6 partes de água destilada. A amostra foi submetida à análise, com auxílio do aparelho Abba VP e do Kit Sensiprot, da Labtest. Foram feitas duplicatas e triplicadas das amostras, para obter um resultado mais preciso da análise, sendo utilizado o valor de suas médias. Os resultados foram expressos em gramas por decilitro (g/dL).

5.1.3 Análise da excreção urinária de sódio após nefrectomia 5/6

Foi realizada a diluição 1:100 da amostra, 1 (uma) parte de urina e 100 (cem) partes de água milique (30 µL de urina concentrada e 3 mL de água milique). A amostra foi submetida à análise, com auxílio do fotômetro de chamas. Foi utilizado o volume

urinário e o peso corpóreo de cada animal. Os resultados foram expressos em mili equivalente por litro por 100 gramas de peso corpóreo (mEq/L 100g).

5.1.4 Análise da excreção urinária de potássio após nefrectomia 5/6

Foi realizada a diluição 1:2000 da amostra, 1 (uma) parte de urina e 2000 (duas mil) partes de água milique (100 µL de urina já diluída e 2 mL de água milique). A amostra foi submetida à análise, com auxílio do fotômetro de chamas. Foi utilizado o volume urinário e o peso corpóreo de cada animal. Os resultados foram expressos em mili equivalente por litro por 100 gramas de peso corpóreo (mEq/L 100g).

5.2 Análise de amostras de sangue

Foram realizadas análises para quantificar creatinina, albumina, proteínas totais, sódio e potássio no soro dos animais em estudo, 28 dias após o processo cirúrgico.

5.2.1 Análise de creatinina no soro após nefrectomia 5/6

Após a coleta da amostra de sangue da aorta abnominal dos animais, foi feita a separação do soro, através de centrifugação por 15 minutos, com velocidade de 3,000 rpm, em centrífuga Spin VI, Incibrás. Alíquotas de soro foram analisadas com auxílio do aparelho Abba VP e do Kit Creatinina K, Labtest. Foram feitas duplicatas e triplicadas das amostras, para obter um resultado mais preciso da análise, sendo utilizado o valor de suas médias. Os resultados foram expressos em mg/dL.

5.2.2 Análise de Albumina no soro após nefrectomia 5/6

Após a coleta da amostra de sangue da aorta abnominal dos animais, foi feita a separação do soro, através de centrifugação por 15 minutos, com velocidade de 3,000 rpm, em centrífuga Spin VI, Incibrás. Alíquotas de soro foram analisadas com auxílio do

aparelho Abba VP e do Kit Albumina, Labtest. Foram feitas duplicatas e triplicadas das amostras, para obter um resultado mais preciso da análise, sendo utilizado o valor de suas médias. Os resultados foram expressos em g/dL.

5.2.3 Análise de proteínas totais no soro após nefrectomia 5/6

Após a coleta da amostra de sangue da aorta abnominal dos animais, foi feita a separação do soro, através de centrifugação por 15 minutos, com velocidade de 3,000 rpm, em centrífuga Spin VI, Incibrás. Alíquotas de soro foram analisadas com auxílio do aparelho Abba VP e do Kit Proteínas Totais, Labtest. Foram feitas duplicatas e triplicadas das amostras, para obter um resultado mais preciso da análise, sendo utilizado o valor de suas médias. Os resultados foram expressos em g/dL.

5.2.4 Análise de sódio no soro após nefrectomia 5/6

Após a coleta da amostra de sangue da aorta abnominal dos animais, foi feita a separação do soro, através de centrifugação por 15 minutos, com velocidade de 3,000 rpm, em centrífuga Spin VI, Incibrás. Alíquotas de soro foram analisadas com auxílio do aparelho Wiener Bt 3000 Plus, Eletrodo de referência, analisador automático, utilizando módulo ISE. Os resultados foram expressos em mili equivalente por litro (mEq/L).

5.2.5 Análise de potássio no soro após nefrectomia 5/6

Após a coleta da amostra de sangue da aorta abnominal dos animais, foi feita a separação do soro, através de centrifugação por 15 minutos, com velocidade de 3,000 rpm, em centrífuga Spin VI, Incibrás. Alíquotas de soro foram analisadas com auxílio do aparelho Wiener Bt 3000 Plus, Eletrodo de referência, analisador automático, utilizando módulo ISE. Os resultados foram expressos em mili equivalente por litro (mEq/L).

5.3 Estudo da filtração glomerular após nefrectomia 5/6

Com o objetivo de validar o método cirúrgico, foi avaliada a filtração glomerular dos animais em estudo, através da fórmula $\frac{U_{creatinina} \times V}{P_{creatinina}}$: 1440, onde $U_{creatinina}$ é a excreção urinária de creatinina, em mg/dL, $P_{creatinina}$ é a concentração de creatinina no soro, em mg/dL, V é o volume urinário, em mililitros (mL) e 1440 são os minutos correspondentes a 24 horas. Os resultados foram expressos em mililitros por minuto (mL/min).

5.4 Estudo do clearance de creatinina após nefrectomia 5/6

Com o objetivo de validar o método cirúrgico, foi analisado o clearance (depuração) de creatinina dos animais em estudo, através da fórmula $\frac{U_{creatinina} \times V}{P_{creatinina}}$: 1440, onde $U_{creatinina}$ é a excreção urinária de creatinina, em mg/dL, $P_{creatinina}$ é a concentração de creatinina no soro, em mg/dL, V é o volume urinário, em mL e 1440 são os minutos correspondentes a 24 horas. Os resultados foram expressos em mL/min.

5.5 Estudo do clearance de proteínas totais após nefrectomia 5/6

Com o objetivo de validar o método cirúrgico, foi avaliada o clearance de proteínas totais dos animais em estudo, através da fórmula $\frac{U_{proteínas} \times V}{P_{proteínas}}$: 1440, onde $U_{proteínas}$ é a excreção urinária de proteínas totais, em g/dL, $P_{proteínas}$ é a concentração de creatinina no soro, em g/dL, V é o volume urinário, em mL e 1440 são os minutos correspondentes a 24 horas. Os resultados foram expressos em mL/min.

6. Estudo da pressão arterial sistólica

Como o objetivo de verificar se a insuficiência renal crônica altera a pressão arterial sistólica dos animais, foi realizado um estudo temporal, através de plestimografia da

cauda. Foi chamada de Nx I a primeira cirurgia, ou seja, remoção de dois terços do rim direito, 14 e 28 dias após a remoção de 5/6 da massa renal, foi repetido o estudo. Os dados foram expressos em milímetros de mercúrio (mmHg).

7. Estudo da pressão arterial média (MAP) e freqüência cardíaca (HR) através da canulação da artéria femoral

Com o objetivo de verificar se a insuficiência renal crônica altera a pressão arterial média (MAP) e a freqüência cardíaca (HR) dos animais, foi realizado um estudo temporal, através da canulação da artéria femoral. A canulação da artéria femoral foi realizada para obtenção dos registros da pressão arterial e freqüência cardíaca, enquanto que a infusão dos agonistas foi feita através de um cateter implantado na veia femoral. Os dados da MAP foram expressos em milímetros de mercúrio (mmHg) e da HR em batimentos por minuto (bpm).

8. Estudo da reatividade vascular a agonistas

Após o isolamento, a artéria carótida foi cortada em anéis de 4 mm e dois ganchos de metal foram inseridos no lúmen da mesma para produzir tensão, com o cuidado de não danificar o endotélio. Os anéis foram isolados em cuba de órgão isolado (5 mL), contendo solução de Krebs. Um dos ganchos foi conectado a um suporte fixo ajustável e o outro, a um transdutor para registro da contração isométrica.

Antes do início do protocolo experimental, as preparações permaneceram em repouso sob uma tensão passiva ideal de 1 g, que foi estabelecida pela curva de tensão antes do início dos protocolos experimentais, durante 60 min para estabilização. Após o período de estabilização, a viabilidade da preparação foi testada com KCl 90 mM e Phe (10^{-7} M), até a reprodução da resposta contrátil. A presença do endotélio foi averiguada com a administração de Ach (10^{-6} M), sobre à pré-contração desencadeada pela Phe.

8.1 Protocolos experimentais

Todos os protocolos foram realizados em carótidas de animais controle, Sham e animais submetidos à nefrectomia 5/6.

8.1.1 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular a angiotensina I (Ang I)

Com o objetivo de estudar se há alteração na resposta contrátil da artéria carótida comum a Ang I, foram realizadas curvas concentração-efeito para Ang I (10^{-11} a 10^{-7} M), em artérias na presença (c/e) e ausência de endotélio (s/e).

8.1.2 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular a angiotensina II (Ang II)

Com o objetivo de estudar se há alteração na resposta contrátil da artéria carótida comum a Ang II, foram realizadas curvas concentração-efeito para Ang II (10^{-11} a 10^{-7} M), em artérias na presença (c/e) e ausência de endotélio (s/e).

8.1.3 Estudo da participação do óxido nítrico na resposta contrátil induzida pela Ang II, após nefrectomia 5/6

Para estudarmos a participação do NO na alteração do efeito máximo nas contrações induzidas por Ang II, foi realizada curva concentração-efeito para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e ausência de endotélio, com L-NAME (inibidor da enzima óxido nítrico sintase - NOS, 10^{-4} M, pré-incubados por 30 min).

8.1.4 Estudo da participação da óxido nítrico sintase neuronal na resposta contrátil induzida pela Ang II, após nefrectomia 5/6

Para estudarmos a participação do NO na alteração do efeito máximo nas contrações induzidas por Ang II, foi realizada curva concentração-efeito para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e na ausência de endotélio, com 7-NI (inibidor da enzima óxido nítrico sintase neuronal - nNOS, 10^{-4} M, pré-incubados por 30 min).

8.1.5 Estudo da participação da óxido nítrico sintase induzida na resposta contrátil induzida pela Ang II, após nefrectomia 5/6

Para estudarmos a participação do NO na alteração do efeito máximo nas contrações induzidas por Ang II, foi realizada curva concentração-efeito para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença do endotélio, com 1400W (inibidor da enzima óxido nítrico sintase induzida - iNOS, 10^{-7} M, pré-incubados por 30 min).

8.1.6 Estudo da participação da óxido nítrico sintase endotelial na resposta contrátil induzida pela Ang II, após nefrectomia 5/6

Para estudarmos a participação do NO na alteração do efeito máximo nas contrações induzidas por Ang II, foi realizada curva concentração-efeito para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e na ausência de endotélio, com L-NNA (inibidor da enzima óxido nítrico sintase endotelial - eNOS, 10^{-4} M, pré-incubados por 30 min).

8.1.7 Estudo da participação da ciclooxigenase-1 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Para verificarmos a participação dos produtos do ácido araquidônico na alteração vascular à Ang II, foram realizadas curvas para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e na ausência de endotélio, anteriormente incubadas com SC-560 (inibidor seletivo de COX-1, 10^{-10} M, pré-incubados por 30 min).

8.1.8 Estudo da participação da ciclooxigenase-2 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Para verificarmos a participação dos produtos do ácido araquidônico na alteração vascular à Ang II, foram realizadas curvas para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e na ausência de endotélio, anteriormente incubadas com SC-236 (inibidor seletivo de COX-2, 10^{-10} M, pré-incubados por 30 min).

8.1.9 Estudo da participação dos receptores AT_1 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Para estudarmos a participação dos receptores AT_1 na alteração do efeito máximo nas contrações induzidas por Ang II, foi realizada curva concentração-efeito para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e na ausência de endotélio, com Losartan - LOS (antagonista dos receptores AT_1, 10^{-7} M, pré-incubados por 30 min).

8.2 Estudo da participação dos receptores AT_2 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Para estudarmos a participação dos receptores AT_2 na alteração do efeito máximo nas contrações induzidas por Ang II, foi realizada curva concentração-efeito para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e na ausência de endotélio, com PD123319 (antagonista dos receptores AT_2, 10^{-8} M, pré-incubados por 30 min).

8.2.1 Estudo da participação do óxido nítrico e dos receptores AT_2 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Para estudarmos a participação do óxido nítrico e dos receptores AT_2 na alteração do efeito máximo das contrações induzidas por Ang II, foi realizada curva concentração-efeito para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e na ausência de endotélio, com L-NAME (inibidor da enzima óxido nítrico sintase - NOS, 10^{-4} M) e PD123319 (antagonista dos receptores AT_2, 10^{-8} M), pré-incubados por 30 min.

8.2.2 Estudo da potência dos antagonistas seletivos Losartan e PD123319

Como o objetivo de quantificar a potência dos antagonistas LOS e PD123319 foi realizado o cálculo do pA_2. Entende-se por pA_2 como –log da concentração de antagonista necessária para deslocar a curva concentração-efeito para a direita duas vezes, ou seja, para obter o mesmo efeito na ausência do antagonista é necessário duas vezes a concentração do agonista (Kenakin, 1997). A fórmula do pA_2 foi baseada na equação de Shild (1947).

O cálculo dói realizado segundo a fórmula:

$pA_2 = -\log [B] + \log (CR – 1)$, onde:

B: é a concentração utilizada do antagonista

CR: -log da diferença dos valores de pD_2 do agonista, obtidos na presença e ausência do antagonista.

pD_2: -log $[EC_{50}]$ do agonista

8.2.3 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular ao KCl

Para verificarmos se há alteração na maquinaria contrátil em artéria carótida, foram realizadas curvas concentração-efeito de concentração para KCl (10 a 120 mM), em artérias na presença e ausência de endotélio.

8.2.4 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular à Fenilefrina (Phe)

Com o objetivo de verificar se a insuficiência renal crônica altera a contração induzida pela Phe, foram realizadas curvas concentração-efeito para Phe (10^{-10} a 10^{-5} M), em carótidas na presença e na ausência de endotélio vascular.

8.2.5 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular à acetilcolina (ACh)

Com o objetivo de verificar se a insuficiência renal crônica altera o relaxamento vascular dependente do endotélio, foram realizadas curvas concentração-efeito de relaxamento para ACh (10^{-10} a 10^{-5} M), em carótidas com endotélio vascular.

9. Análise Estatística

Para comparação entre os grupos em estudo foi utilizada a análise de variância variada (ANOVA) “one-way”, seguido do pós-teste de Newman-Keuls, através do programa GraphPad Prism (versão 3.01 Prism, GrapPad, USA).

Para comparação entre os dois grupos (sham e operados), foi utilizado o teste t (e teste não paramétrico), através do programa GraphPad Prism (versão 3.01 Prism, GrapPad, USA).

Resultados

4. Histologia

Morfologia das artérias carótidas

Hematoxilina-eosina:

Os estudos morfológicos foram realizados através da coloração por Hematoxilina-Eosina em artérias carótidas de animais sham e nefrectomizados.

A coloração histológica por Hematoxilina-eosina evidencia na coloração azul (Hematoxilina) estruturas celulares como, núcleo, proteínas ácidas do citoplasma e proteoglicanos. Na coloração rosa (eosina) é possível identificar filamentos protéicos do citoesquesleto, fibras colágenas e proteínas mitocondriais (Olivon, 2006).

Na artéria de animais sham é possível observar três a quatro camadas de células de músculo liso, posicionadas em sentido circular ao lúmem do vaso. Foi observada a presença de fibras de colágeno características da camada adventícia e média. As características morfológicas da artéria de animais nefrectomizados estão semelhantes às observadas em artérias de animais sham (Figura 1, A e B).

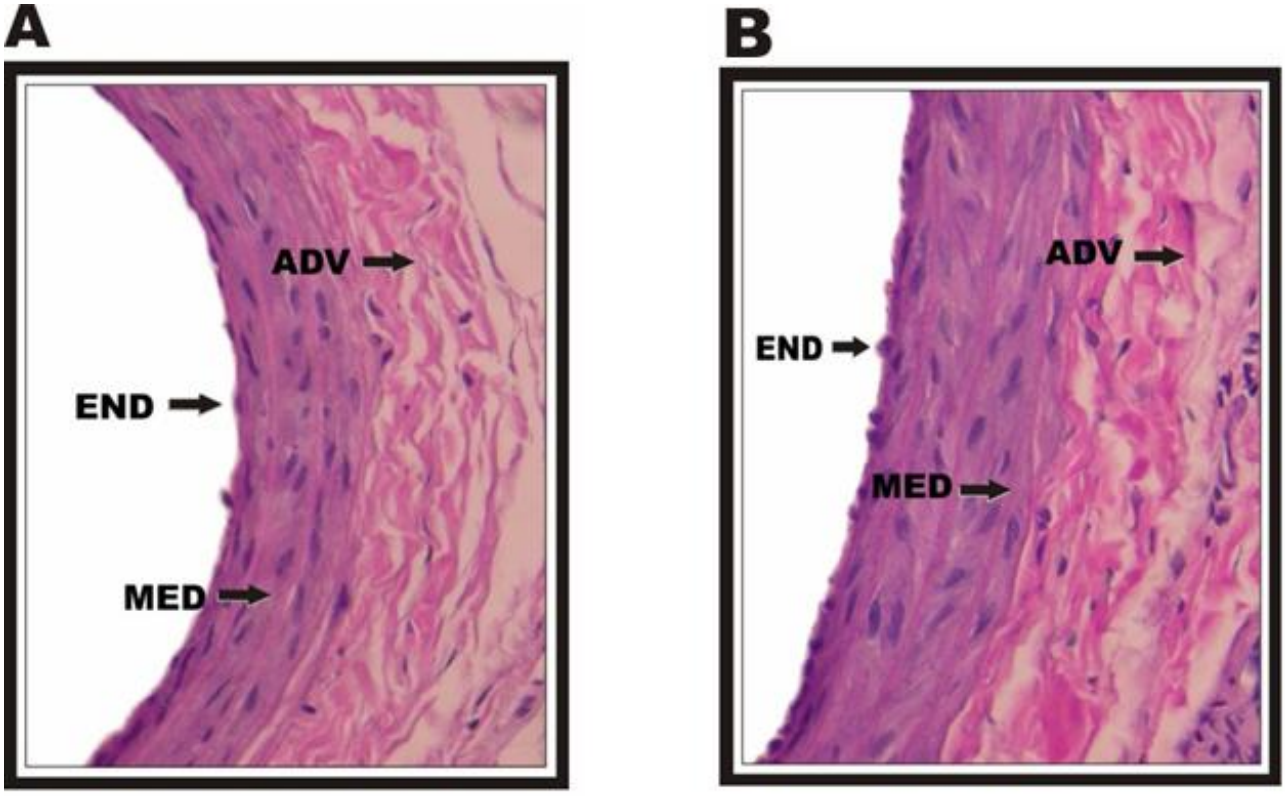


Figura 1: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas de animais sham (figura A) e de animais nefrectomizads (figura B). Coloração: Hematoxilina – Eosina. END: camada endotelial. MED: camada média, ADV: camada adventícia. Objetiva 40x.

5. Análise Bioquímica

5.1 Análise de amostras de urina

Com o objetivo de verificar se a insuficiência renal promove alterações nos parâmetros bioquímicos realizaram-se coletas de amostras para estudo. As amostras de urina foram coletadas em um período de 24 horas, com auxílio de gaiolas metabólicas, para a realização de análises quantitativas da excreção de creatinina, proteínas totais, sódio e potássio.

5.1.1 Análise da excreção urinária de creatinina após nefrectomia 5/6

A excreção de creatinina em amostras de urina, 28 dias após a nefrectomia dos animais sham foi de 44,06 ± 6,46 mg/dL de creatinina, enquanto que dos animais nefrectomizados foi de 22,31 ± 3,38 mg/dL. Observa-se uma diminuição significativa na excreção de creatinina no grupo dos animais nefrectomizados, quando comparados aos sham, com p<0,001. Não foi observada diferença significativa nos demais tempos estudados.

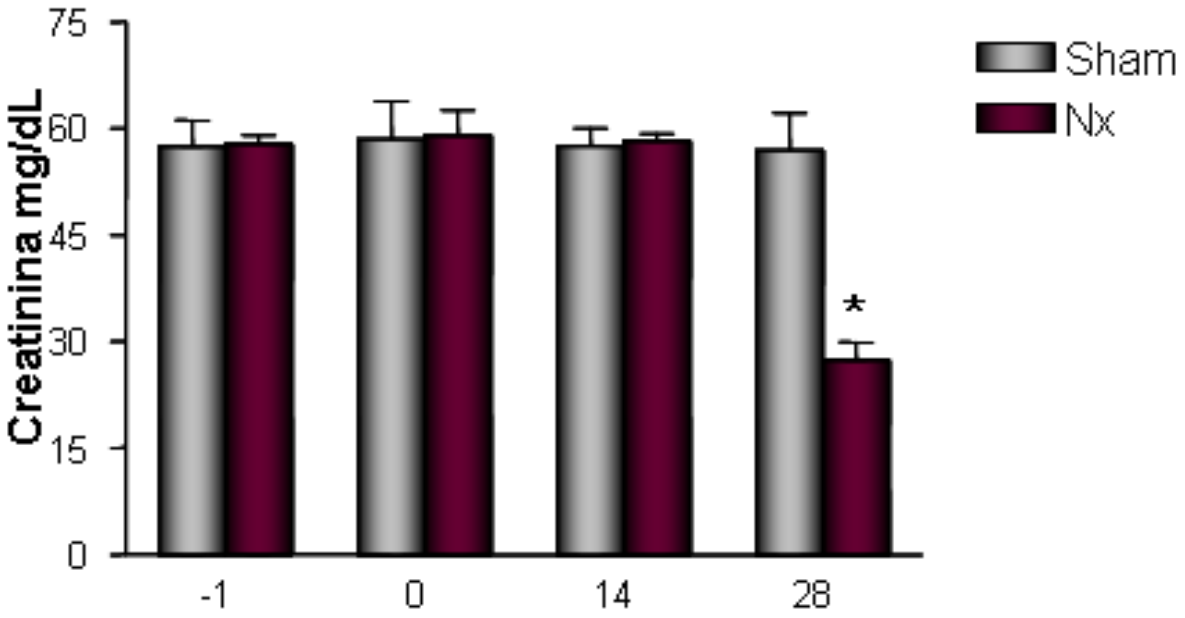


Figura 2: Excreção urinária de creatinina. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), com p<0,001 comparado ao grupo sham. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao grupo e sham, 28 dias após o processo cirúrgico. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 1 – Excreção urinária de creatinina

Grupos experimentais	-1	0	14	28
Sham	57,48 ± 1,41 (6)	58,45 ± 2,33 (6)	57,55 ± 1,09 (6)	56,88 ± 2,36 (6)
Nefrectomizado (Nx)	57,79 ± 1,29 (6)	59,04 ± 3,5 (6)	58,2 ± 1,1 (6)	27,31 ± 2,57 (6) *

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa, do grupo nefrectomizado, com $p<0,001$, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

✓ A cirurgia promoveu diminuição na excreção urinária de creatinina, 28 dias após a nefrectomia 5/6, indicando alteração na filtração glomerular, uma vez que a creatinina seria normalmente filtrada e excretada pelos rins.

5.1.2 Análise da excreção urinária de proteínas totais após nefrectomia 5/6

O estudo temporal da excreção de proteínas totais em amostras de urina, revela que 28 dias após o processo cirúrgico, os animais sham apresentaram uma excreção de 245,56 ± 19,68 g/dL de proteínas totais, enquanto que os animais nefrectomizados apresentaram uma excreção de 625,92 ± 62,83 g/dL. Observa-se um aumento significativo na excreção de proteínas totais no grupo dos animais nefrectomizados, quando comparados aos sham, com p<0,001. Essa diferença não foi observada nos demais tempos.

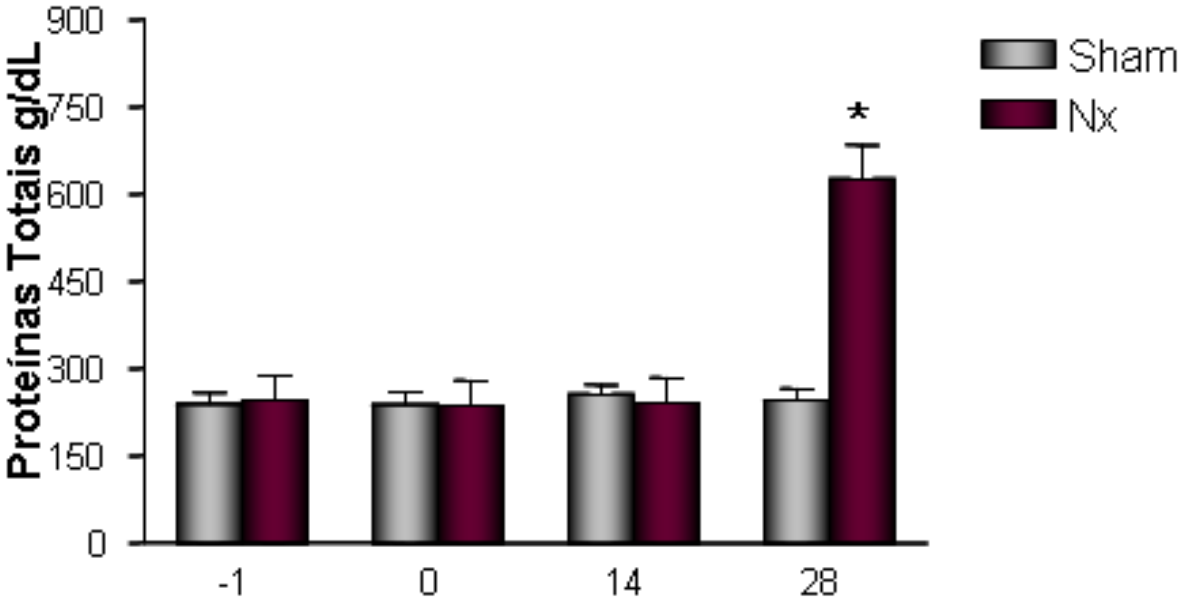


Figura 3: Excreção urinária de proteínas totais. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), com p<0,001 comparado ao grupo sham. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 2 – Excreção urinária de proteínas totais

Grupos experimentais	-1	0	14	28
Sham	238,7 ± 20,1 (6)	238,2 ± 21,4 (6)	255,2 ± 16,6 (6)	245,5 ± 19,6 (6)
Nefrectomizado (Nx)	245,2 ± 16,4 (6)	236,2 ± 16,9 (6)	241,2 ± 16,5 (6)	625,9 ± 62,8 (6) *

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, com $p<0,001$, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

✓ A cirurgia promoveu aumento na excreção urinária de proteínas totais, 28 dias após a nefrectomia 5/6, indicando aumento da permeabilidade da membrana dos capilares glomerulares às proteínas, sendo um indicativo de doença renal.

5.1.3 Análise de excreção urinária de sódio após nefrectomia 5/6

Analisando a excreção urinária de sódio, 28 dias após a nefrectomia 5/6, observa-se que os animais sham apresentaram uma excreção de 308,7 ± 79,9 mEq/L 100g, enquanto os animais nefrectomizados apresentaram 619,92 ± 137,9 mEq/L 100g de sódio. Observa-se um aumento significativo, com $p<0,05$ na excreção urinária de sódio dos animais nefrectomizados, quando comparados aos sham.

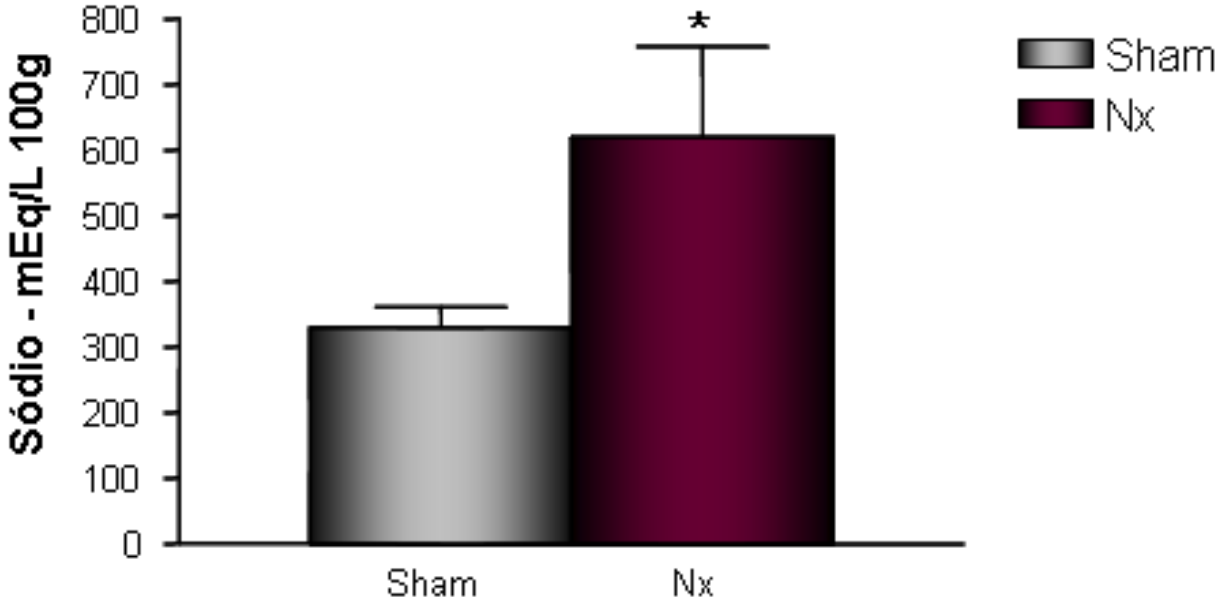


Figura 4: Excreção urinária de Sódio. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), 28 dias após o processo cirúrgico. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao sham, $p<0,05$. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

- ✓ A cirurgia promoveu aumento na excreção urinária de sódio, 28 dias após a nefrectomia 5/6, indicando uma deficiência na reabsorção tubular renal.

5.1.4 Análise de excreção urinária de potássio após nefrectomia 5/6

Os resultados indicam que aos 28 dias após a nefrectomia 5/6, os animais sham apresentaram 33,53 ± 10,77 mEq/L 100g de potássio, enquanto os animais nefrectomizados apresentaram 46,46 ± 13,92 mEq/L 100g. Observa-se um aumento significativo, com $p<0,05$.

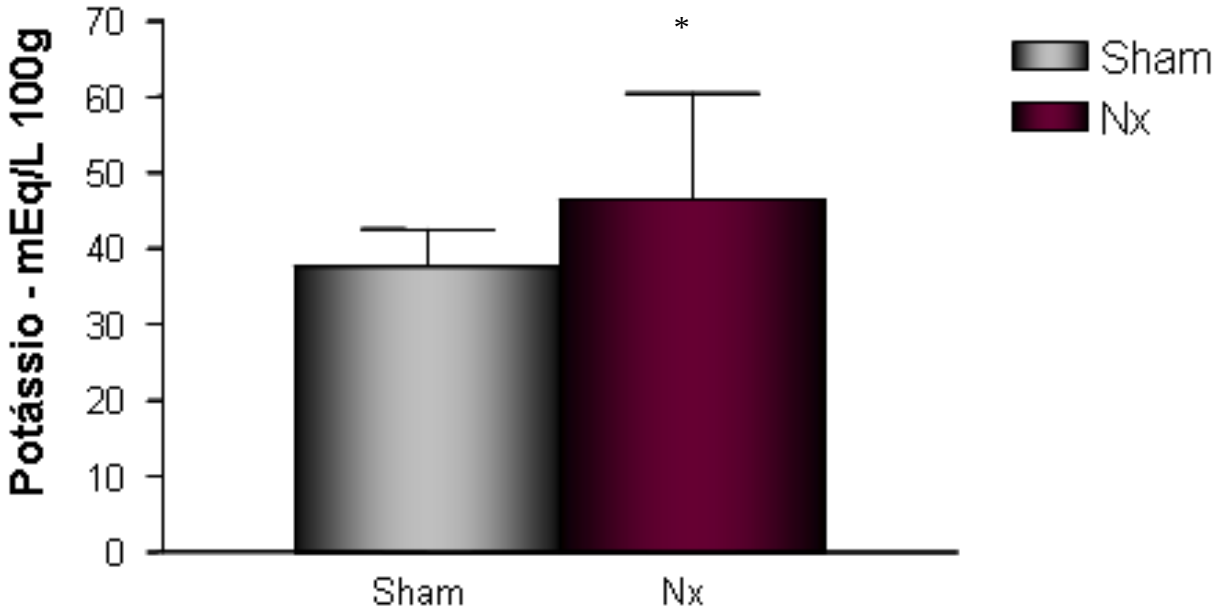


Figura 5: Excreção urinária de Potássio. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), 28 dias após o processo cirúrgico. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao sham, $p<0,05$. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

- ✓ A cirurgia promoveu aumento na excreção urinária de potássio, 28 dias após a nefrectomia 5/6, indicando uma deficiência na reabsorção tubular renal.

5.2 Análise de amostra de sangue

5.2.1 Análise de creatinina no soro após nefrectomia 5/6

Analisando amostras de sangue 28 dias após a nefrectomia 5/6, observou-se que os animais sham apresentaram 0,82 ± 0,01 mg/dL de creatinina, enquanto os animais nefrectomizados apresentaram 1,63 ± 0,04 mg/dL. Observa-se um aumento significativo, com p<0,001, nos grupos em estudo.

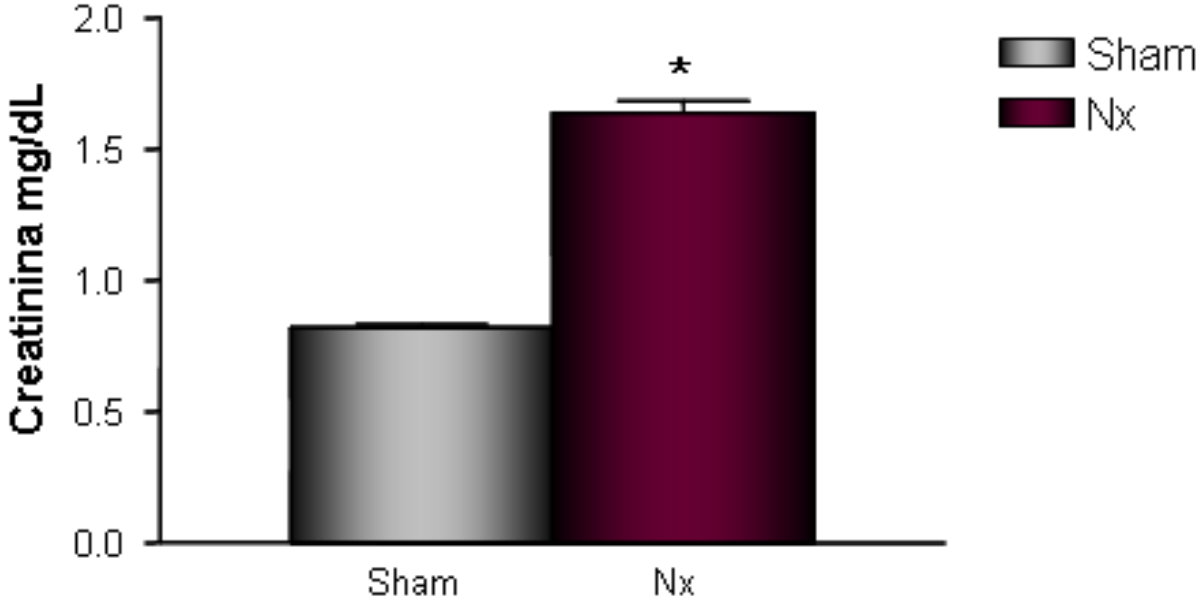


Figura 6: Creatinina no soro. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), com p<0,001 comparado ao grupo sham. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

- ✓ A cirurgia promoveu aumento na concentração de creatinina no soro, 28 dias após a nefrectomia 5/6, indicando deficiência na filtração glomerular, acumulando-se no sangue.

5.2.2 Análise de albumina no soro após nefrectomia 5/6

A análise da concentração de albumina em amostras de sangue 28 dias após a nefrectomia 5/6, não indica que ocorra diferença significativa na concentração de albumina entre os grupos estudados. Os animais sham apresentaram uma concentração de 3,02 ± 0,15 g/dL, enquanto os animais nefrectomizados apresentaram uma concentração de 2,77 ± 0,12 g/dL de albumina no soro, resultados estes que não são significativamente diferentes daqueles observados nos sham.

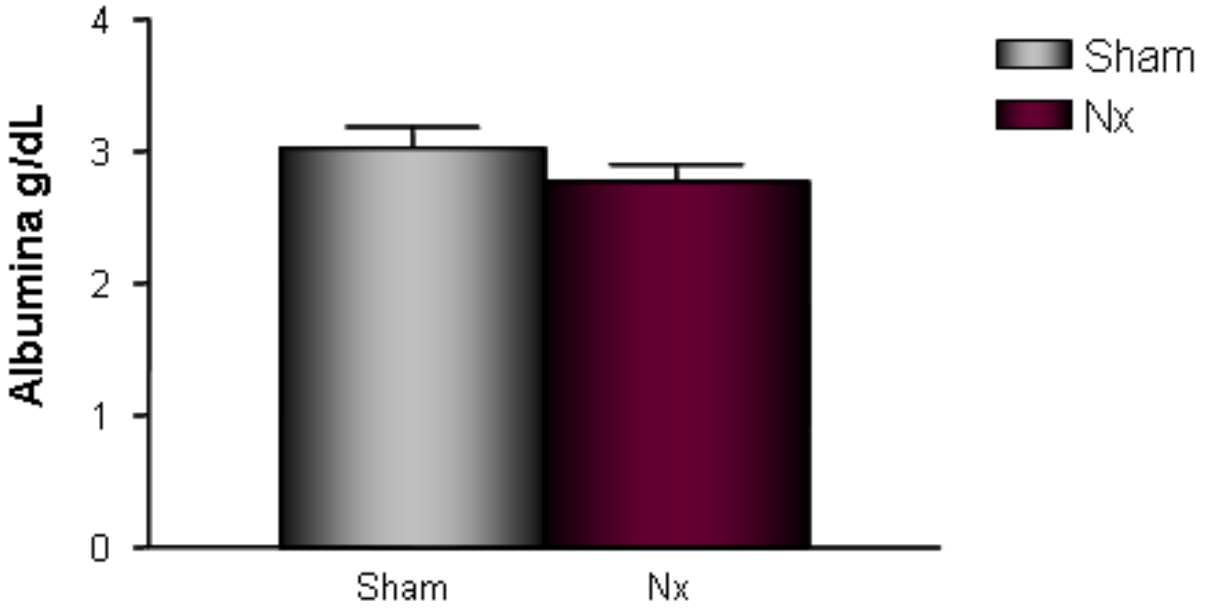


Figura 7: Albumina no soro. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

✓ A nefrectomia 5/6 não altera a concentração de albumina no soro dos animais, nos permitindo inferir que estes animais não se apresentam anêmicos.

5.2.3 Análise de proteínas totais após nefrectomia 5/6

Analisando amostras de sangue 28 dias após a nefrectomia 5/6, não foi observada diferença significativa na concentração de proteínas totais no soro dos animais em estudo. Os animais sham apresentaram uma concentração de 7,22 ± 0,27 g/dL, enquanto os animais nefrectomizados apresentaram uma concentração de 6,63 ± 0,12 g/dL de proteínas totais no soro.

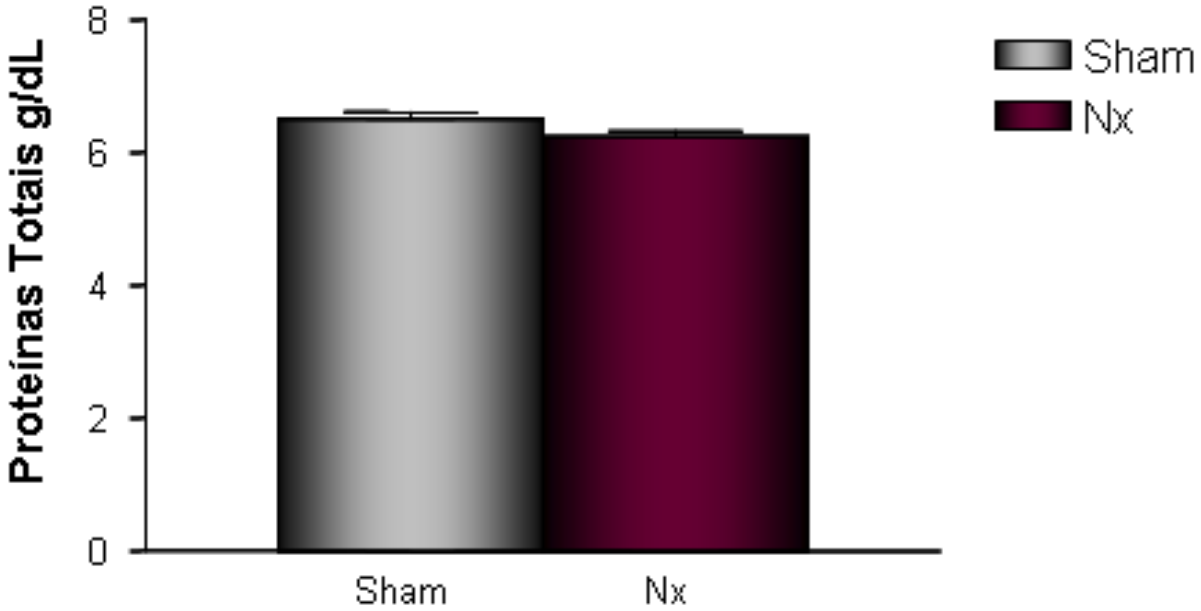


Figura 8: Proteínas totais no soro. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

✓ A nefrectomia 5/6 não altera a concentração de proteínas totais no soro dos animais em estudo, nos permitindo inferir que estes animais não se apresentam anêmicos.

5.2.4 Análise de sódio no soro após nefrectomia 5/6

As amostras de sangue analisadas 28 dias após a nefrectomia 5/6, não indicam diferença significativa na concentração de sódio no soro dos animais em estudo. Os animais sham apresentaram uma concentração de 141 ± 1,01 mEq/L, enquanto os animais nefrectomizados apresentaram uma concentração de 141 ± 0,31 mEq/L de sódio no soro.

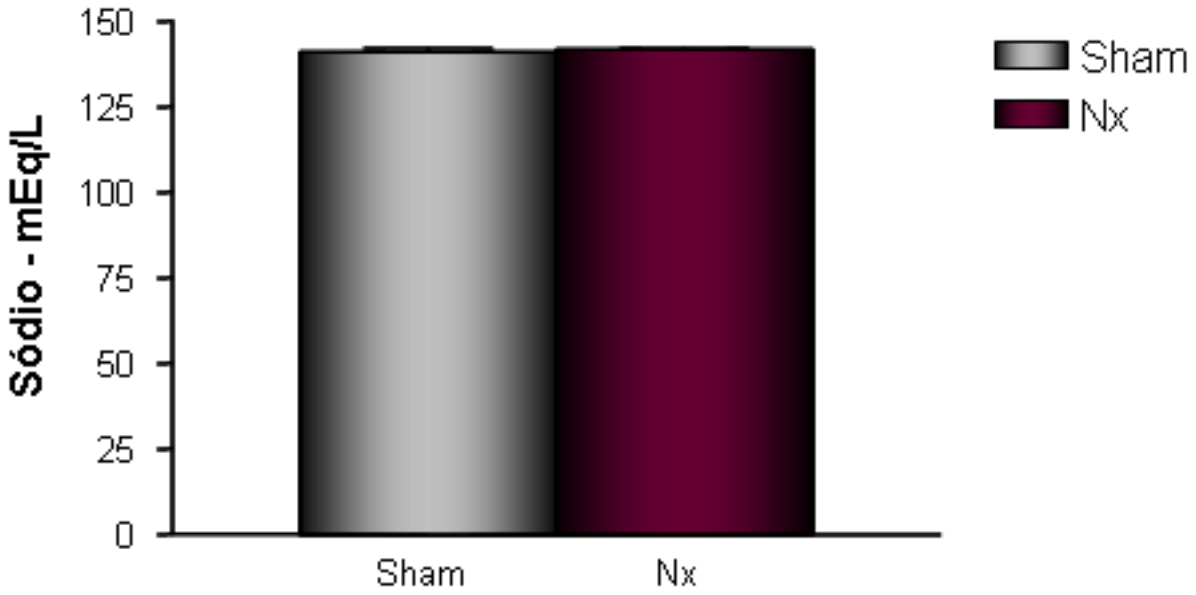


Figura 9: Sódio no soro. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

- ✓ A nefrectomia 5/6 não promove alteração na concentração de sódio no soro dos animais, comparado aos sham.

5.2.5 Análise de potássio no soro após nefrectomia 5/6

A concentração de potássio no soro em amostras de sangue 28 dias após a nefrectomia 5/6, foi de 4,7 ± 012 mEq/L nos animais sham, enquanto os animais nefrectomizados apresentaram uma concentração de 5,35 ± 0,19 mEq/L de potássio no soro. Observa-se um aumento significativo, com $p<0,05$, na concentração de potássio no soro dos animais nefrectomizados, quando comparados aos animais sham.

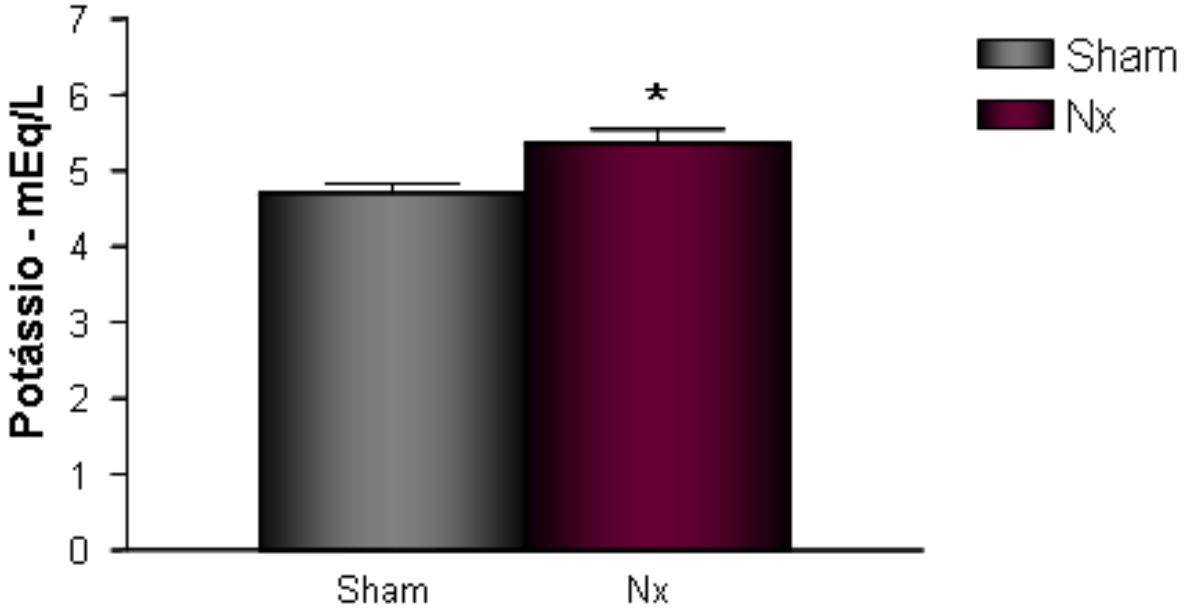


Figura 10: Potássio no soro. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), com $p<0,05$ comparado ao grupo sham. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 3 – Conseqüências da insuficiência renal crônica sobre os elementos séricos

Grupos experimentais	Creatinina (mg/dL)	Albumina (g/dL)	Proteínas Totais (g/dL)	Sódio (mEq/l)	Potássio (mEq/l)
Sham	0,82 ± 0,01 (6)	3,02 ± 0,15 (6)	6,5 ± 0,09 (6)	141 ± 1,01 (6)	4,7 ± 0,12 (6)
Nefrectomizado (Nx)	1,63 ± 0,04 (6) *	2,7 ± 0,12 (6)	6,2 ± 0,08 (6)	141,7 ± 0,3 (6)	5,35 ± 0,19 (6) *

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, com $p<0,05$, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

✓ A cirurgia promoveu aumento na concentração de potássio no soro, 28 dias após a nefrectomia 5/6, indicando alteração na capacidade do rim em eliminar rapidamente este íon, acarretando hipercalemina.

5.3 Estudo da filtração glomerular após a nefrectomina 5/6

A filtração glomerular de ratos controle, sham e com insuficiência renaç crônica são significativamente diferente, p<0,001. Os animais sham apresentaram uma filtração glomerular de 1,53 ± 0,17 mL/min, enquanto a filtração dos animais nefrectomizados foi de 0,46 ± 0,04 mL/min.

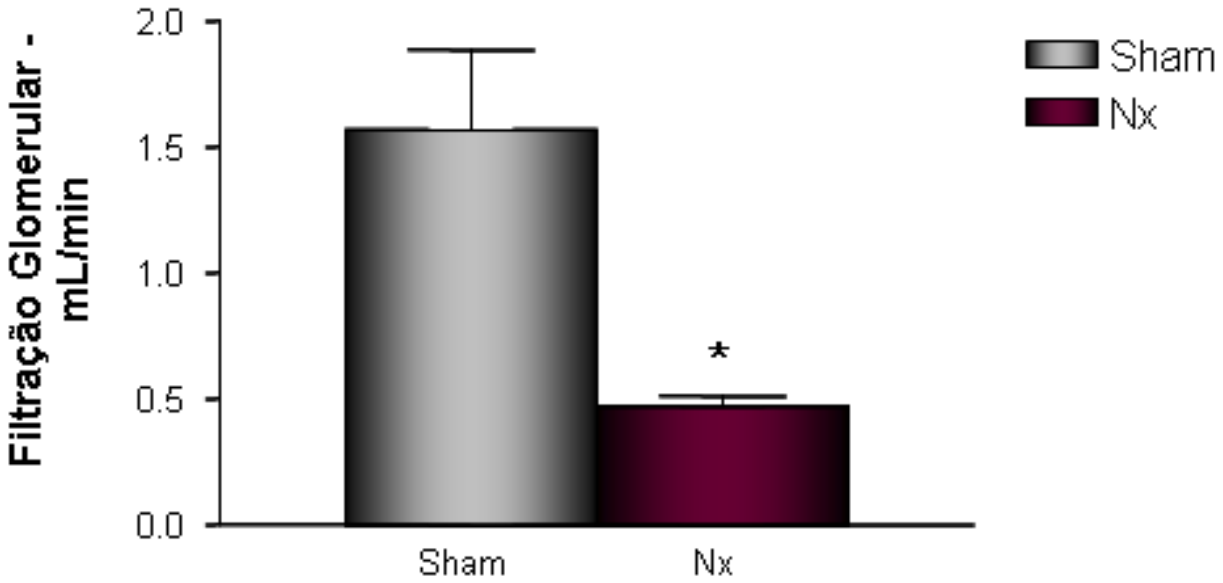


Figura 11: Filtração Glomerular. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), com p<0,001 comparado ao grupo sham. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ A cirurgia promoveu diminuição da filtração glomerular, 28 dias após a nefrectomia 5/6, indicando deficiência da função renal.

5.4 Estudo do clearance de creatinina após a nefrectomia 5/6

Ao realizar a análise do clearance de creatinina, 28 dias após a nefrectomia 5/6, foi observado que o clearance dos animais sham foi de 1,56 ± 0,31 mL/min, enquanto os animais nefrectomizados apresentam um clearance de creatinina de 0,46 ± 0,04 mL/min. Observa-se uma diminuição significativa no clearance de creatinina dos animais nefrectomizados, quando comparados aos sham ($p<0,001$).

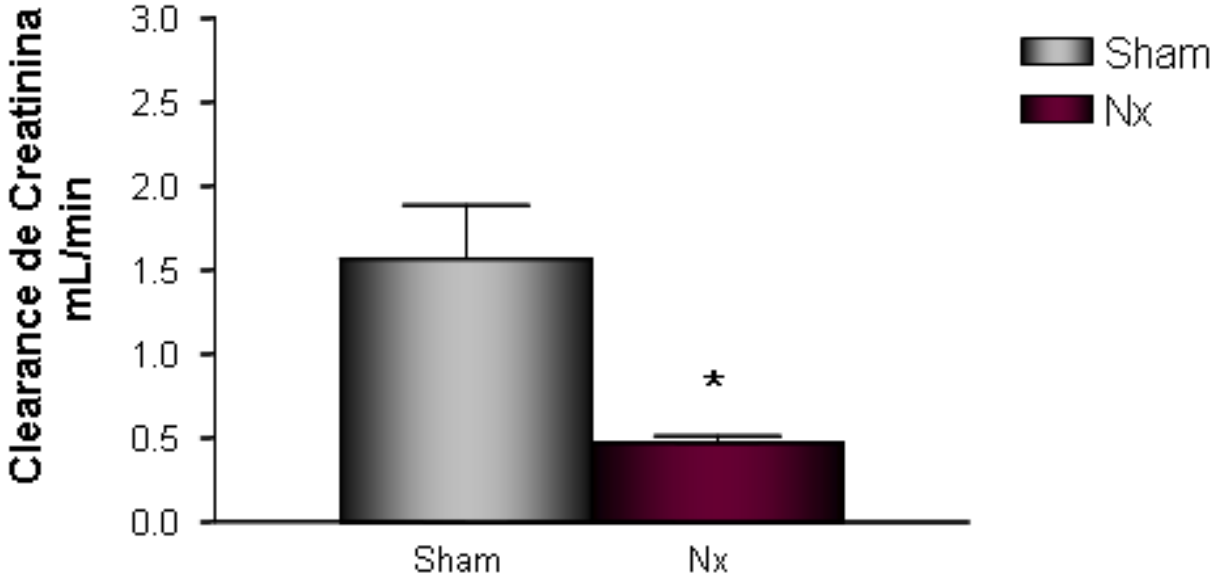


Figura 12: Clearance de creatinina. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), com $p<0,001$ comparado ao grupo sham. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ A nefrectomia 5/6 promoveu diminuição do clearance de creatinina, sendo um indicativo de deficiência na filtração glomerular, uma vez que a creatinina, produto do metabolismo dos músculos, deveria ser excretada na mesma proporção que a encontrada no plasma.

5.5 Estudo do clearance de proteínas totais após a nefrectomia 5/6

Os resultados do presente estudo mostram que o clearance de proteínas totais, 28 dias após a nefrectomia 5/6, nos animais sham foi de 0,59 ± 0,09 mL/min, enquanto no animais nefrectomizados foi de 2,35 ± 0,25 mL/min. Observa-se um aumento significativo no clearance de proteínas totais dos animais nefrectomizados, quando comparados aos sham (p<0,001).

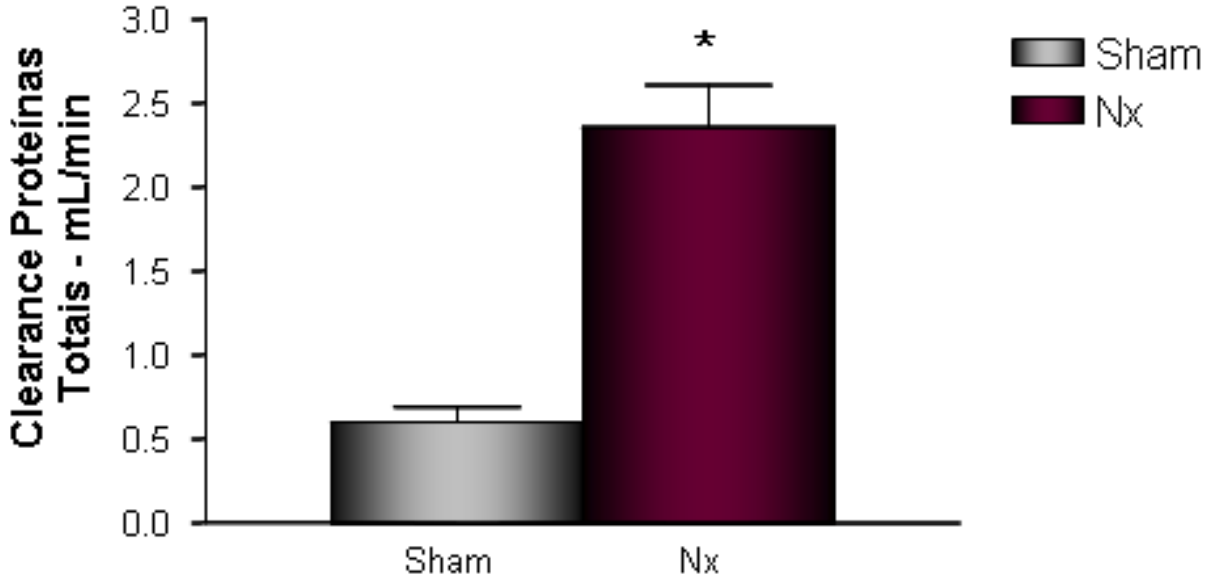


Figura 13: Clearance de proteínas totais. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), com p<0,001 comparado ao grupo sham. * Representa diferença significativa do grupo nefrectomizado, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 4 – Conseqüências da insuficiência renal crônica sobre os parâmetros metabólicos

Grupos Experimentais	Filtração Glomerular (mL/min)	Clearance de creatinina (mL/min)	Clearance de proteínas totais (mL/min)
Sham	1,56 ± 0,31 (6)	1,56 ± 0,31 (6)	0,59 ± 0,09 (6)
Nefrectomizado (Nx)	0,46 ± 0,04 (6)*	0,46 ± 0,04 (6)*	2,35 ± 0,25 (6)*

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa do grupo nefrectomizadoo, quando comparado ao grupo sham, 28 dias após o processo cirúrgico, p<0,001.

Conclusão Parcial:

✓ A insuficiência renal crônica promoveu aumento do clearance de proteínas totais, nos permitindo inferir um aumento na permeabilidade da barreira de filtração glomerular, acarretando consequentemente ao aumento de macromoléculas na urina.

6. Estudo da pressão arterial sistólica após nefrectomia 5/6

O estudo temporal da medida da pressão arterial sistólica através de plestimografia da cauda dos animais, 14 dias após o processo cirúrgico, foi constatado que os animais sham apresentaram uma pressão sistólica de 103 ± 3,2 mmHg, e os animais nefrectomizados 107,5 ± 2,3 mmHg. Aos 28 dias após a nefrectomia 5/6, observou-se que a pressão sistólica dos animais sham foi de 107 ± 2,1 mmHg, enquanto dos animais operados foi de 122 ± 1,6 mmHg. Neste estudo temporal da pressão sistólica não foi observado diferença significativa entre os grupos em estudo.

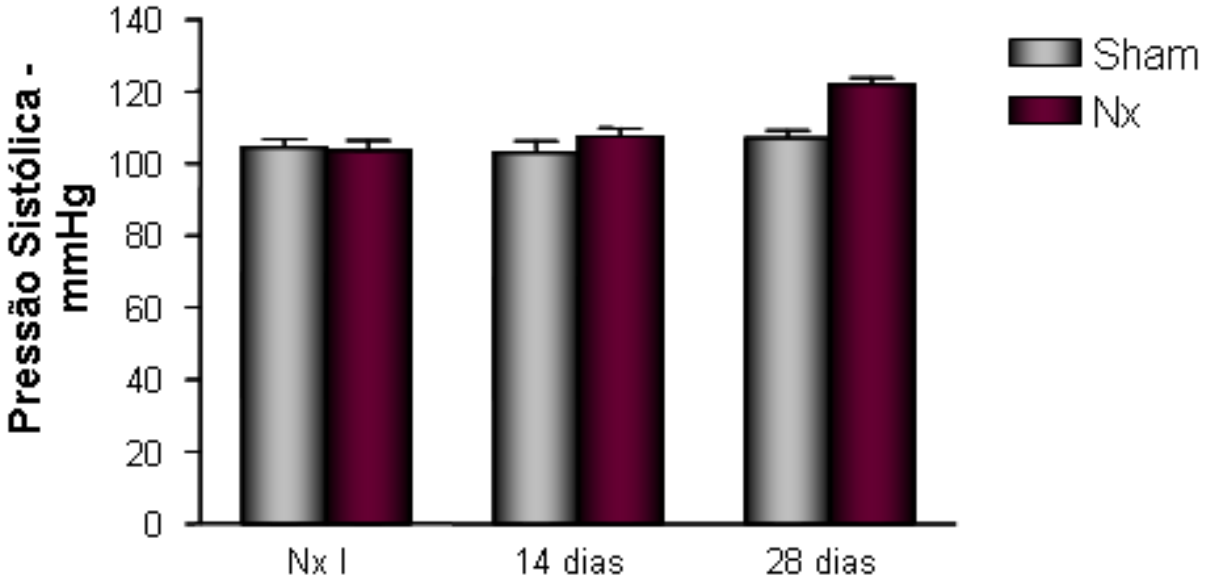


Figura 14: Pressão arterial. Os dados representam a média ± EPM (n = 10) Nx I = primeira cirurgia.

TABELA 5 - Pressão Arterial e Peso corpóreo

Grupos Experimentais	Pressão Arterial Sistólica (mmHg)			Peso corpóreo (g)		
	Nx I	14 dias	28 dias	NX I	14 dias	28 dias
Sham	104,5 ± 2,1 (10)	103 ± 3,2 (10)	107 ± 2,1 (10)	286 ± 8,9 (10)	415 ± 6,9 (10)	495 ± 5 (10)
Nefrectomizado (Nx)	103,5 ± 2,7 (10)	107,5 ± 2,3 (10)	122 ± 1,6 (10)	298 ± 7,7 (10)	360 ± 11,6 (10)	408 ± 13 (10)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

- ✓ A nefrectomia 5/6 não promove alteração na pressão arterial sistólica e peso corpóreo dos animais em estudo.

7. Estudo da Pressão Arterial através da canulação da artéria femoral

7.1 Estudo da pressão arterial média (MAP) e freqüência cardíaca (HR) através da infusão de Fenilefrina, após a nefrectomia 5/6

Com o objetivo de observar as conseqüências da insuficiência renal crônica sobre a responsividade às substâncias adrenomiméticas, foi efetuada a infusão de fenilefrina (Phe) na veia femoral. Os resultados indicam que aos 14 dias após o processo cirúrgico a infusão de Phe causou aumento da MAP na qual não foi diferente daquela observada após infusão nos animais sham (Emax: 47 ± 4 vs 43 ± 5 mmHg, $p>0.05$).

Aos 28 dias após o processo cirúrgico, a infusão de Phe causou aumento da MAP, sendo diferente em animais nefrectomizados, comparados aos sham (Emax: 42 ± 7 vs 22 ± 4 mmHg, $p<0.05$).

A infusão de fenilefrina (Phe) promove uma redução dose dependente da freqüência cardíaca (HR) de forma semelhante em animais sham e animais com insuficiência renal crônica, 28 dias após o processo cirúrgico. Os animais sham apresentaram uma HR de -57 ± 7 bpm, enquanto a HR dos animais nefrectomizados foi de -46 ± 5 bpm. Não há diferença significativa entre os grupos em estudo.

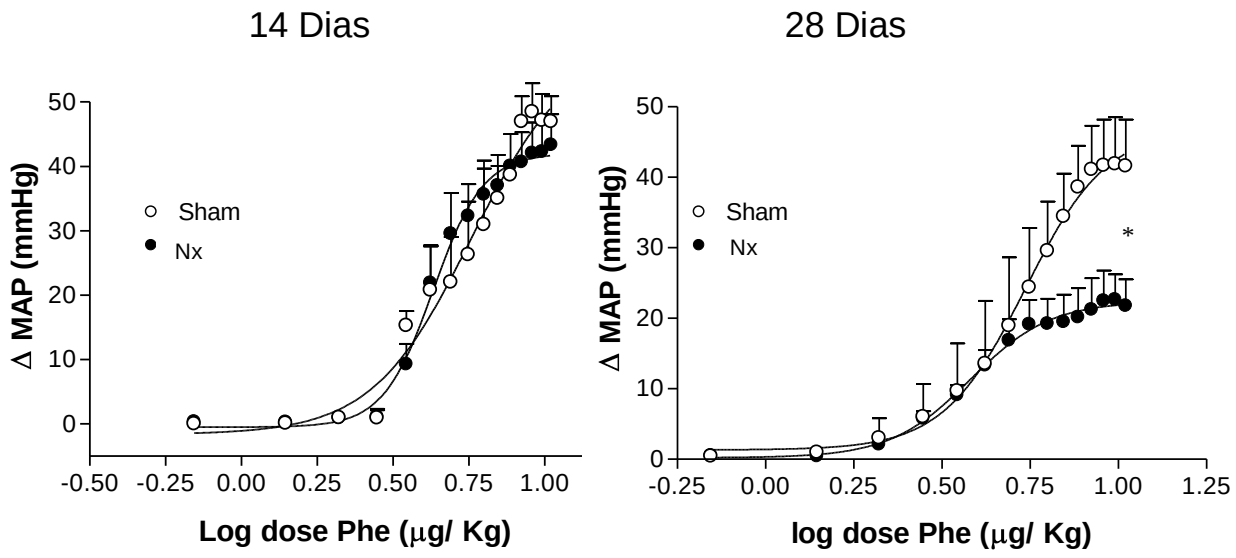


Figura 15: Pressão arterial média. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), após infusão de Phe (µg/Kg) sobre a pressão arterial média (mmHg) de animais sham e nefrectomizados 14 e 28 dias após o processo cirúrgico. * Representa diferença significativa do grupo de animais nefrectomizados quando comparado ao grupo de animais sham, p<0,05. Teste t.

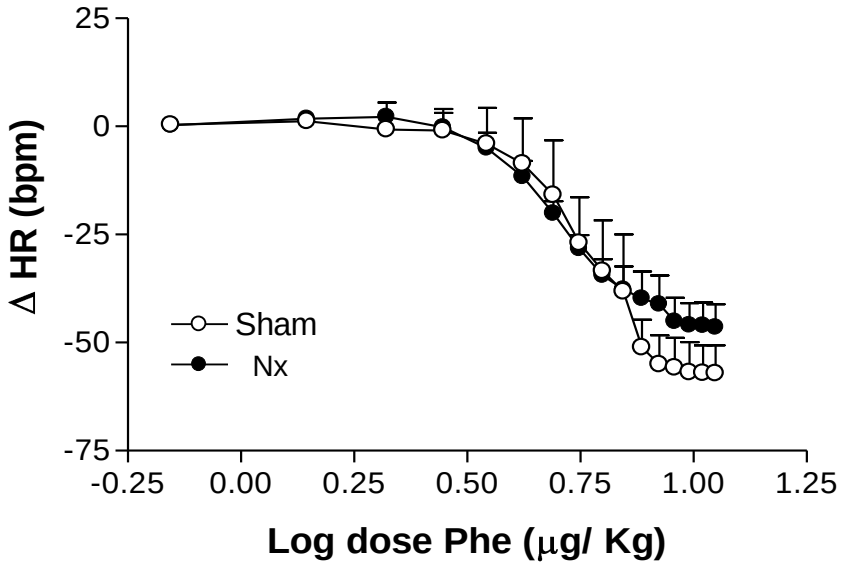


Figura 16: Freqüência cardíaca. Os dados representam a média ± EPM (n = 5), após infusão de Phe (µg/Kg) sobre a freqüência cardíaca (batimentos por minuto - bpm) de animais sham e nefrectomizados, 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

✓ O efeito máximo da Phe na pressão arterial média se encontra reduzido após infusão deste agonista, sem alteração da freqüência cardíaca, 28 dias após a nefrectomia 5/6.

7.2 Estudo da pressão arterial média (MAP) e freqüência cardíaca (HR) através da infusão de Nitroprussiato de Sódio, após a nefrectomia 5/6

O efeito vasodilatador do nitroprussiato de sódio foi estudado com o objetivo de verificar se a insuficiência renal crônica altera o efeito do óxido nítrico. Aos 14 dias após o processo cirúrgico, a infusão de nitroprussiato de sódio promoveu uma queda da MAP de maneira dose dependente (Emax: 38 ± 8 vs 35 ± 4 mmHg, $p>0.05$). Os resultados mostram que não existe diferença significativa entre os grupos em estudo. Aos 28 dias após a nefrectomia, observou-se que a infusão de nitroprussiato de sódio promoveu de forma dose dependente, tanto em animais sham quanto em animais com insuficiência renal queda similar da MAP (Emax: 32 ± 3 vs 34 ± 5 mmHg, $p>0.05$).

Ao realizar o estudo da freqüência cardíaca (HR), após da infusão de nitroprussiato de sódio (NPS), 28 dias após a nefrectomia 5/6, observou-se que tanto em animais sham quanto em animais com insuficiência renal crônica ocorre um aumento similar da HR (figura 18). Não há diferença significativa entre os grupos em estudo (Emax: 88 ± 29 vs 101 ± 11 bpm, $p>0.05$).

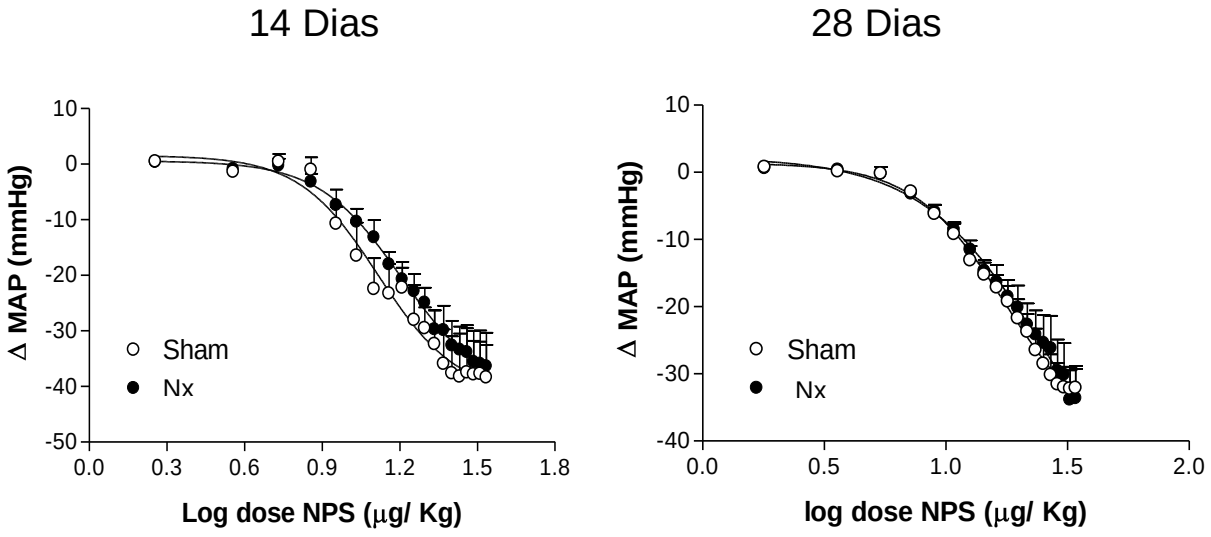


Figura 17: Pressão arterial média. Os dados representam a média ± EPM (n = 5), após infusão de nitroprussiato de sódio (μg/Kg) sobre a pressão arterial média (mmHg) de animais sham e nefrectomizados, 14 e 28 dias após o processo cirúrgico.

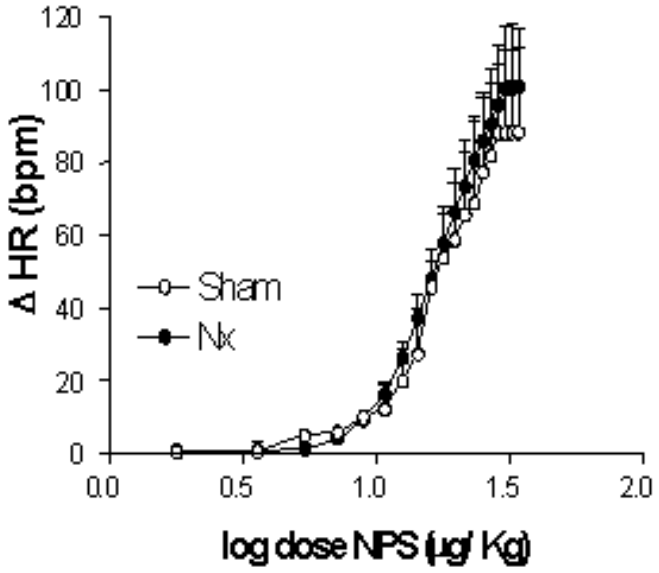


Figura 18: Freqüência cardíaca. Os dados representam a média ± EPM (n = 5), após infusão de nitroprussiato de sódio (μg/Kg) sobre a freqüência cardíaca (batimentos por minuto - bpm) de animais sham e nefrectomizados, 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

✓ A nefrectomia 5/6 promove alteração da pressão arterial média, bem como a freqüência cardíaca, após infusão de NPS nos animais em estudo.

7.3 Estudo da pressão arterial média (MAP) e freqüência cardíaca (HR) através da infusão de Angiotensina II, após a nefrectomia 5/6

Foram estudadas as conseqüências da insuficiência renal crônica sobre a pressão arterial média (MAP), após a perfusão de Angiotensina II (Ang II), 28 dias após a nefrectomia 5/6. Os resultados indicaram que houve uma diminuição significativa do efeito máximo da Ang II sobre a MAP dos animais com insuficiência renal crônica, comparados aos animais sham (Emax: 53 ± 2 vs 38 ± 2 mmHg, $p<0.05$).

O estudo da freqüência cardíaca (HR), após a infusão de Angiotensina II (Ang II), 28 dias após a nefrectomia 5/6, indica que em animais sham o efeito máximo da Ang II na HR foi de -46 ± 2 bpm, enquanto que em animais com insuficiência renal esse valor foi de -45 ± 12 bpm. Esses valores não são estatisticamente diferentes.

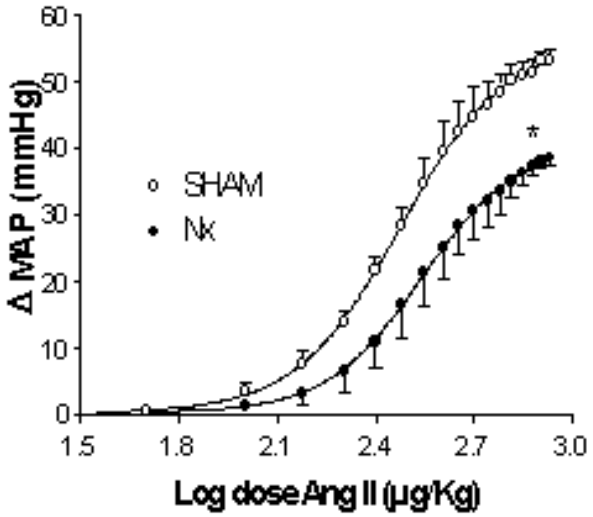


Figura 19: Pressão arterial média. Os dados representam a média ± EPM (n = 6), após infusão de Ang II (µg/Kg) sobre a pressão arterial média (mmHg) de animais sham e operados, 28 dias após o processo cirúrgico. * Representa diferença significativa do grupo de animais nefrectomizados quando comparado ao grupo de animais sham, $p<0,05$. Teste t.

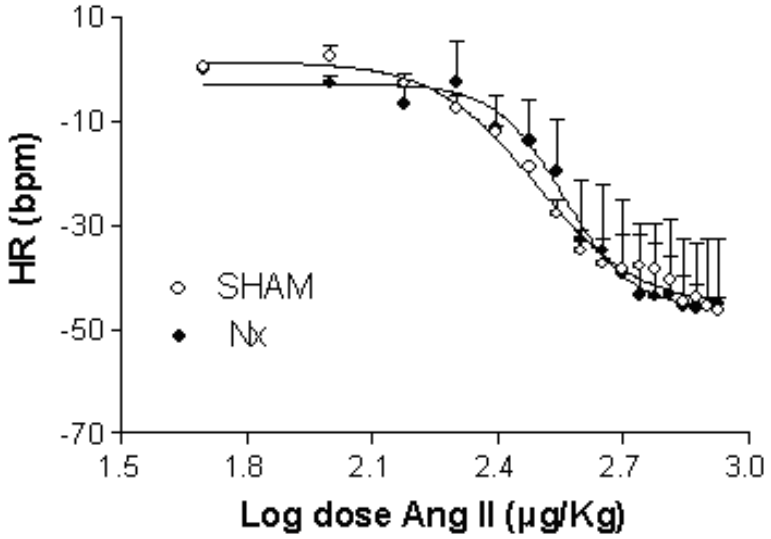


Figura 20: Freqüência cardíaca. Os dados representam a média ± EPM (n = 5), após infusão de angiotensina II (µg/Kg) sobre a freqüência cardíaca (batimentos por minuto - bpm) de animais sham e nefrectomizados, 28 dias após o processo cirúrgico.

Conclusão Parcial:

✓ O efeito máximo da Ang II na pressão arterial média se encontra reduzido, após infusão do peptídeo, sem alteração da freqüência caríaca, 28 dias após a nefrectomia 5/6.

8. Estudo da reatividade vascular a agonistas

8.1 Protocolos Experimentais

8.1.1 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular a angiotensina I (Ang I)

Para estudar a conseqüência da nefrectomia 5/6 na resposta contrátil produzida pela Ang I em carótidas, foram construídas curvas concentração-efeito para Ang I, em artérias na presença (c/e) e na ausência de endotélio (s/e).

Em artérias com endotélio de animais sham, o efeito máximo da Ang I foi de 0,30± 0,010 gramas, enquanto que em artérias de animais nefrectomizados o Emax foi de 0,31 ± 0,01 gramas (figura 21). Observa-se um valor semelhante do efeito máximo nas artérias carótidas na presença de endotélio vascular dos animais nefrectomizados e dos animais sham.

Ao realizar curvas concentração-efeito para Ang I em artérias carótidas, na ausência de endotélio vascular (s/e), observa-se que em artérias de animais sham o efeito máximo da Ang I foi de 0,39 ± 0,05 gramas, enquanto que em artérias de animais nefrectomizados, o efeito máximo foi de 0,34 ± 0,004 gramas (figura 22). A retirada do endotélio acarretou em um aumento do Emax da Ang I em artérias de animais sham, comparativamente ao valor deste parâmetro obtido em artérias com endotélio, $p<0,01$. Por outro lado, em aterias carótidas de animais nefrectomizados, os valores do Emax da Ang I são iguais tanto em artérias com, quanto sem endotélio (figura 22).

Observa-se diferença significativa do pD_2 das artérias carótidas dos animais nefrectomizados, na presença de endotélio quando comparado com os animais sham, também na presença de endotélio, $p<0,001$, bem como das artérias carótidas dos animais nefrectomizados, na ausência de endotélio quando comparado com os animais sham, também na ausência de endotélio, $p<0,001$ (tabela 7).

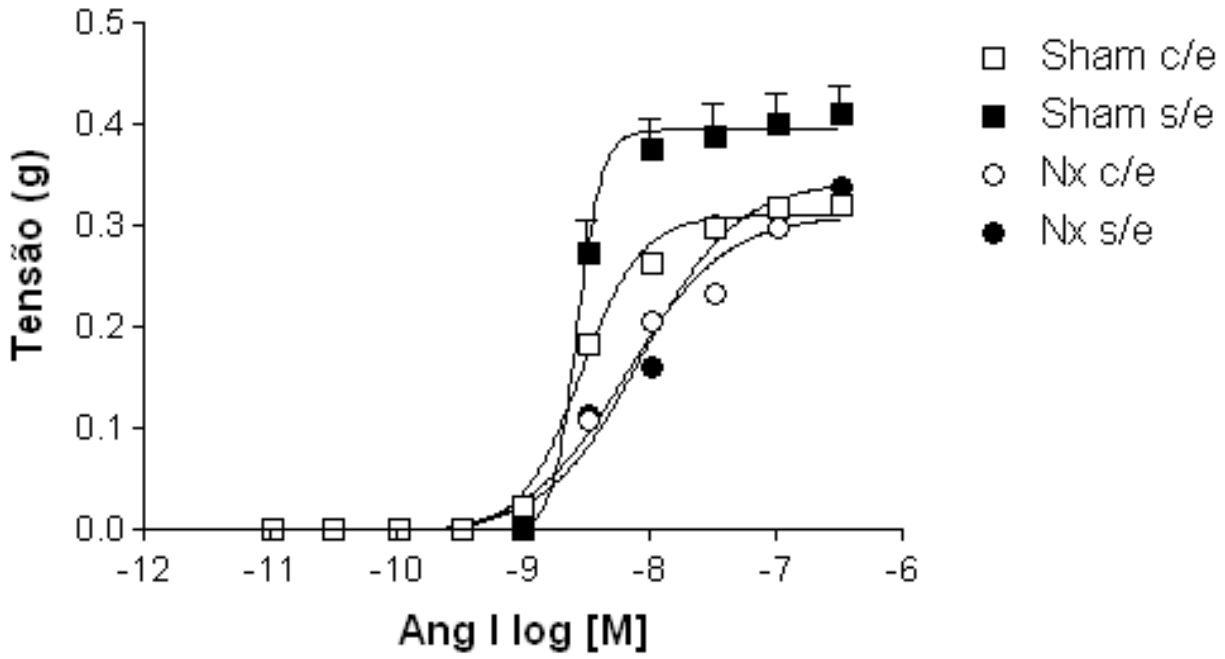


Figura 21: Curva concentração-efeito para Ang I em artérias carótidas, na presença (c/e) e na ausência (s/e) do endotélio vascular. Os dados representam a média ± EPM (n =4-3).

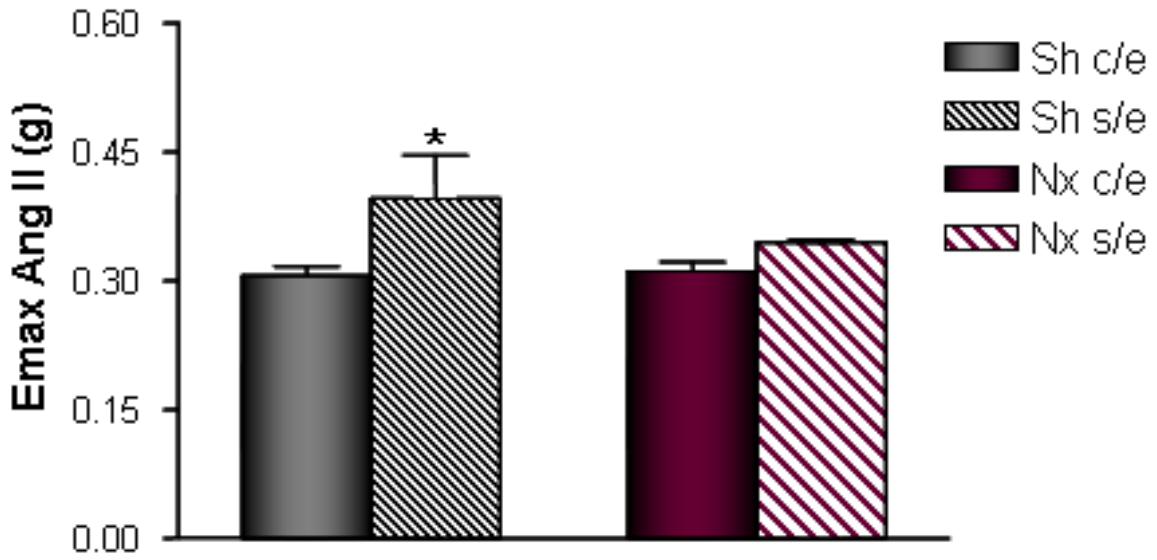


Figura 22: Efeito contrátil da Ang I em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença e na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II em carótidas isolados, na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidos à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n =4-3). * Representa diferença significativa do grupo sham s/e, quando comparados ao sham c/e, p<0,01. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 6: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,30 ± 0,010 (4)	0,39 ± 0,05 (3)*
Nefrectomizado (Nx)	0,31 ± 0,011 (4)	0,34 ± 0,004 (3)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa do Emax das artérias carótidas dos animais sham, na ausência de endotélio quando comparado com os animais sham, na presença de endotélio, $p<0,01$.

TABELA 7: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	8,5 ± 0,02 (4)	8,5 ± 0,04 (3)
Nefrectomizado (Nx)	8,2 ± 0,05 (4)*	8,07 ± 0,04 (3)**

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa do pD_2 das artérias carótidas dos animais nefrectomizados, na presença de endotélio quando comparado com os animais sham, também na presença de endotélio, $p<0,001$. ** Representa diferença significativa do pD_2 das artérias carótidas dos animais nefrectomizados, na ausência de endotélio quando comparado com os animais sham, também na ausência de endotélio, $p<0,001$.

Conclusão Parcial:

- ✓ A retirada do endotélio não promove aumento do efeito máximo da Ang II, após a nefrectomia 5/6.

8.1.2 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular a angiotensina II (Ang II)

Os estudos foram efetuados construindo curvas concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, de animais sham e animais nefrectomizados, 28 dias após o processo cirúrgico.

Em artérias com endotélio de animais sham, o efeito máximo da Ang II foi de 0,369 ± 0,016 gramas, enquanto que em artérias de animais nefrectomizados esse parâmetro foi de 0,19 ± 0,028 gramas (figura 23). Observa-se uma diminuição significativa do efeito máximo nas artérias carótidas na presença de endotélio vascular dos animais nefrectomizados, quando comparado com os sham, $p<0,001$.

Ao realizar curvas concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na ausência de endotélio vascular (s/e), observa-se que em artérias de animais sham o efeito máximo da Ang II foi de 0,48 ± 0,04 gramas, enquanto que em artérias de animais nefrectomizados, o efeito máximo foi de 0,25 ± 0,02 gramas (figuras 23 e 24). A retirada do endotélio acarretou em um aumento do Emax da Ang II em artérias de animais sham, comparativamente ao valor deste parâmetro obtido em artérias com endotélio, $p<0,05$. Por outro lado, observou-se quem em aterias carótidas de animais nefrectomizados, os valores do Emax da Ang II são iguais tanto em artérias com quanto sem endotélio (figuras 23 e 24).

Os valores de pD_2 (-Log da EC_{50}) da Ang II, em artérias carótidas na presença de endotélio vascular de animais sham foram de 8,42 ± 0,14 gramas, enquanto que em artérias de animais nefrectomizados foram de 8,26 ± 0,23 gramas. As artérias carótidas na ausência de endotélio vascular de animais sham observou-se um valor de 8,49 ± 0,2 gramas e as dos animais nefrectomizados de 8,35 ± 0,17 gramas. Não há nenhuma diferença significativa no pD_2 das artérias dos animais em estudo.

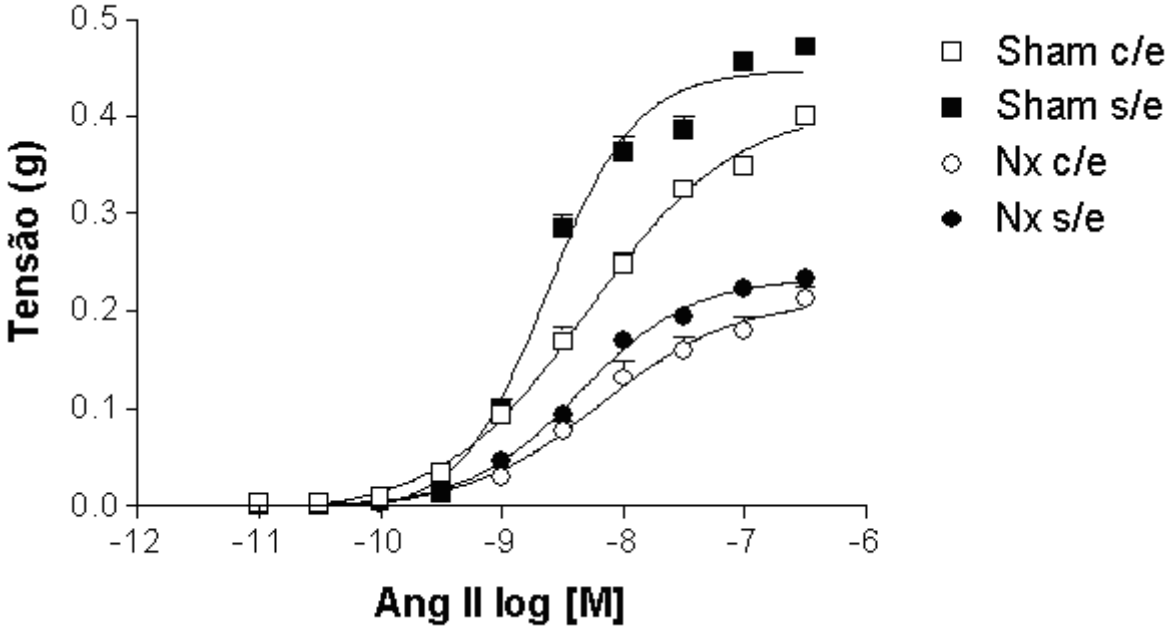


Figura 23: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) e na ausência (s/e) do endotélio vascular. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7).

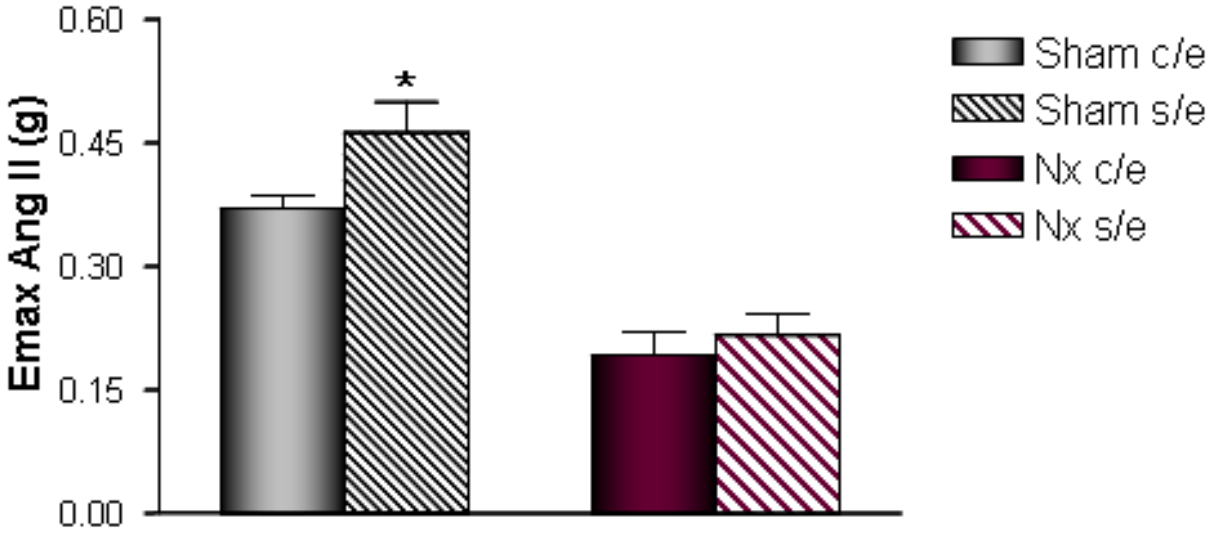


Figura 24: Efeito contrátil da Ang II em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença e na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II em carótidas isolados, na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidos à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). * Representa diferença siginificativa do grupo sham s/e, quando comparados ao sham c/e, $p<0,05$. ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 8: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)*
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)**	0,21 ± 0,02 (7)***

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa do Emax das artérias carótidas dos animais sham, na ausência de endotélio quando comparado com os animais sham, na presença de endotélio, $p<0,05$. ** Representa diferença significativa do Emax das artérias carótidas dos animais nefrectomizados, na presença de endotélio quando comparado com os animais sham, na presença de endotélio, $p<0,01$. *** Representa diferença significativa do Emax das artérias carótidas dos animais nefrectomizados, na ausência de endotélio quando comparado com os animais sham, também na ausência de endotélio, $p<0,001$.

TABELA 9: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

- ✓ A nefrectomia 5/6 promove uma diminuição do efeito máximo produzido pela Ang II, bem como perda da modulação do endotélio vascular.

8.1.3 Estudo da participação do óxido nítrico na resposta contrátil induzida pela Ang II, após nefrectomia 5/6

Para estudar a participação do óxido nítrico na modulação da resposta contrátil produzida pela Ang II em carótidas após a nefrectomia 5/6, foram construídas curvas concentração-efeito para Ang II na presença de L-NAME (inibidor não-seletivo da enzima óxido nítrico sintase), em artérias na presença (c/e) e na ausência de endotélio (s/e).

Na presença de L-NAME, observou-se um aumento do efeito máximo da Ang II, em anéis de carótidas com endotélio tanto no grupo sham quanto no grupo nefrectomizado, $p<0,001$ (figura 25).

Ao realizar curvas concentração-efeito para Ang II na presença de L-NAME, em artérias carótidas sem endotélio, observou-se um aumento do efeito máximo da Ang II no grupo sham e no grupo nefrectomizado, quando comparado ao de artérias na ausência de L-NAME, $p<0,001$ (figura 25).

Não foi observada diferença significativa nos valores de pD_2 (tabela 10).

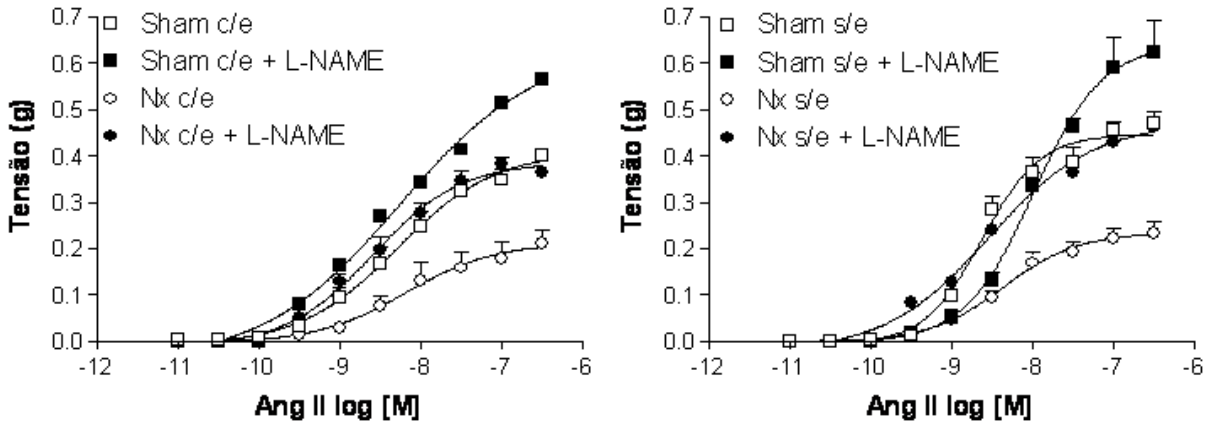


Figura 25: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) e na ausência (s/e) do endotélio vascular, pré-incubadas com L-NAME. Os dados representam a média ± EPM (n = 8-7).

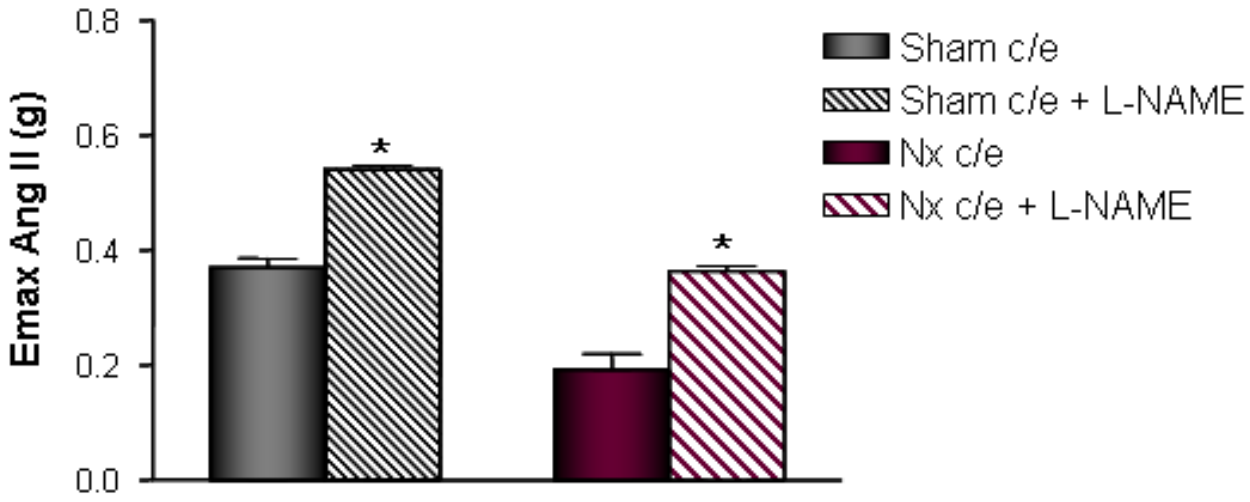


Figura 26: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + L-NAME em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + L-NAME em carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 8-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

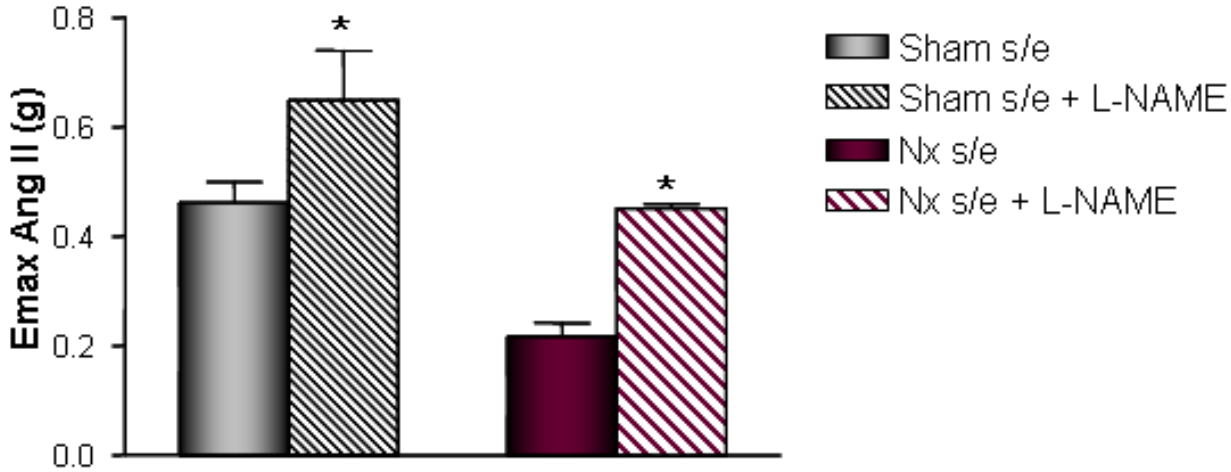


Figura 27: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + L-NAME em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + L-NAME em carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n =8-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 10: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II e Ang II + L-NAME em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com L-NAME.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + L-NAME	0,54 ± 0,007 (6)*	0,64 ± 0,09 (5)
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + L-NAME	0,36 ± 0,008 (8)**	0,45 ± 0,007 (5)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na presença de endotélio, pré-incubadas com L-NAME, quando comparadas às não incubadas $p<0,001$. ** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na presença de endotélio, pré-incubadas com L-NAME, quando comparadas às não incubadas, $p<0,001$.

TABELA 11: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com L-NAME.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + L-NAME	8,49 ± 0,03 (6)	7,99 ± 0,10 (5)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + L-NAME	8,62 ± 0,11 (8)	8,58 ± 0,03 (5)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ A presença de L-NAME foi capaz de restabelecer o efeito máximo da Ang II, sugerindo que a nefrectomia 5/6 promove aumento da participação das óxido nítrico sintases, acarretando na diminuição da resposta contrátil induzida pela Ang II em animais com insuficiência renal crônica.

8.1.4 Estudo da participação da óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) na resposta contrátil induzida pela Ang II, após nefrectomia 5/6

A participação da enzima óxido nítrico sintase neuronal na alteração da reatividade da artéria carótida após a nefrectomia 5/6 foi estudada através da realização de curvas concentração-efeito para Ang II na presença de 7-NI (inibidor da enzima óxido nítrico sintase neuronal), em artérias presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio.

Na presença de endotélio, observou-se um aumento no valor do Emax da Ang II em carótidas do grupo sham e do grupo nefrectomizado na presença do inibidor. Por outro lado, com a retirada do endotélio obsevou-se um aumento no valor do Emax da Ang II em artérias de animais nefrectomizados na presença de 7-NI, o que não foi observado em animais sham.

Não há diferença significativa nos valores de pD_2.

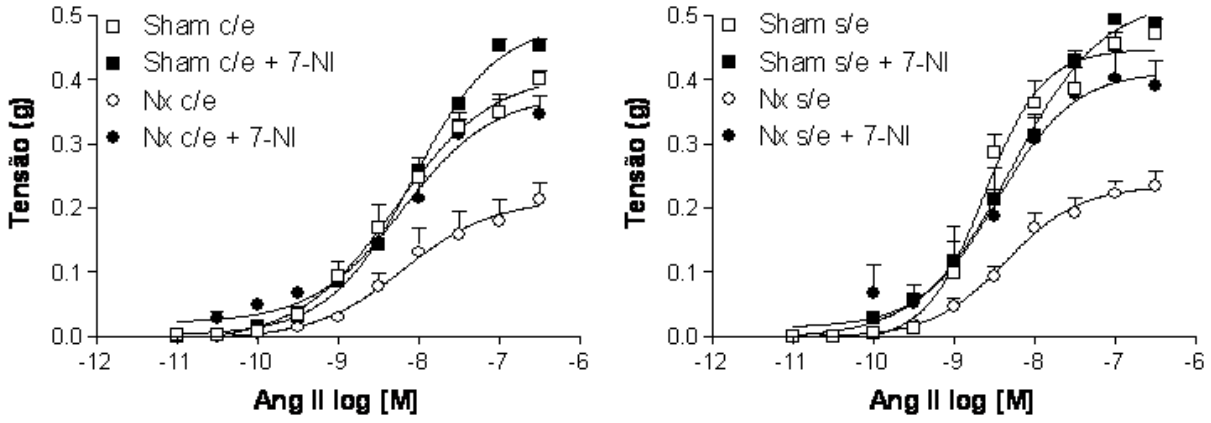


Figura 28: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) e ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com 7-NI. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7)

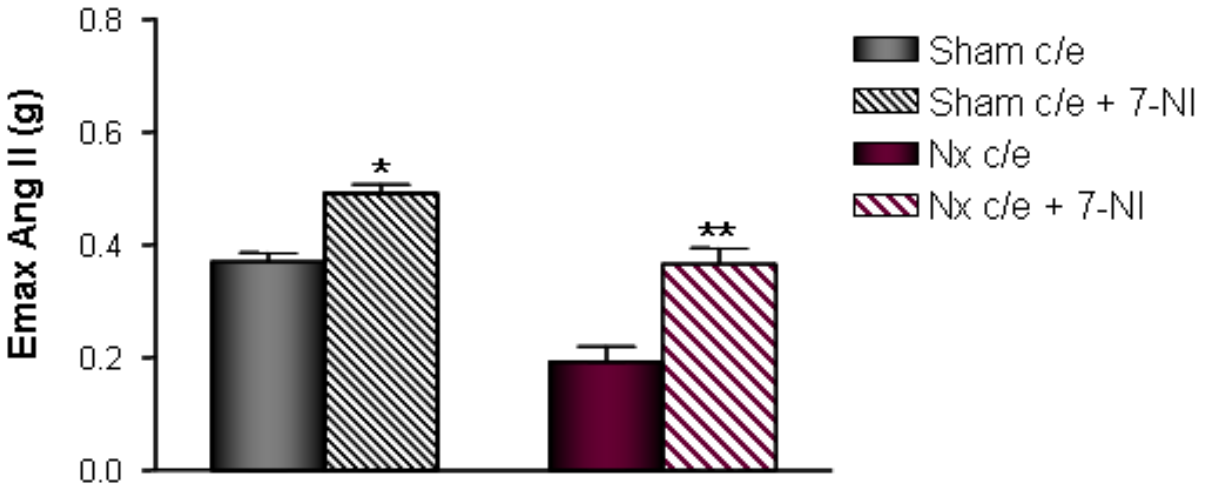


Figura 29: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + 7-NI em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + 7-NI em carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

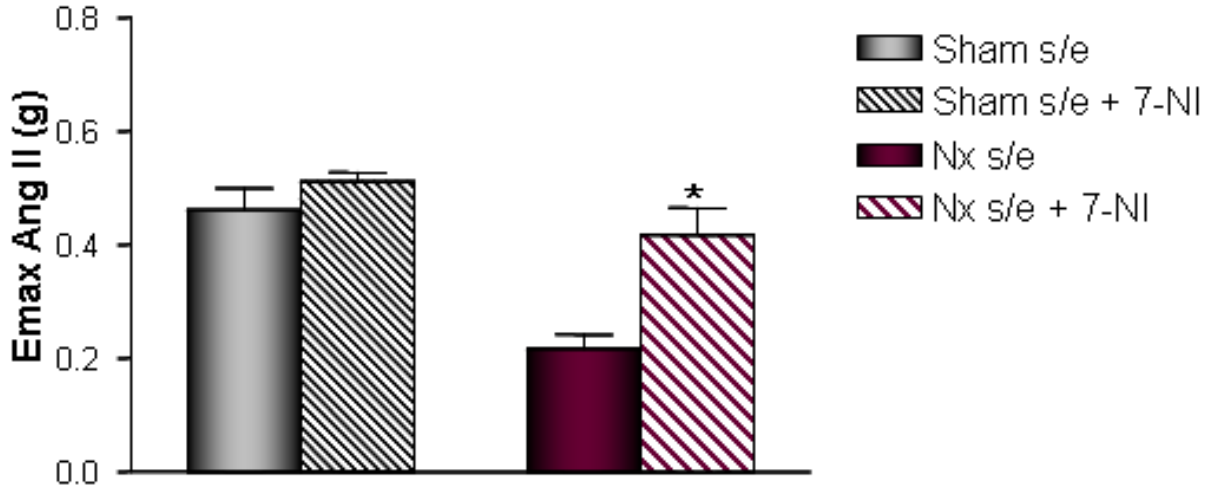


Figura 30: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + 7-NI em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + 7-NI em carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 12: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com 7-NI.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + 7-NI	0,49 ± 0,016 (5)*	0,52 ± 0,015 (4)
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + 7-NI	0,36 ± 0,02 (5)**	0,41 ± 0,04 (5)***

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax da Ang Ii de artérias carótidas de animais sham, na presença de endotélio, pré-incubadas com 7-NI, quando comparadas às não incubadas $p<0,01$. ** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na presença de endotélio, pré-incubadas com 7-NI, quando comparadas às não incubadas, $p<0,001$. *** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na ausência de endotélio, pré-incubadas com 7-NI, quando comparadas às não incubadas, $p<0,001$.

TABELA 13: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com 7-NI.

Grupos experimentais	**pD_2 c/e**	**pD_2 s/e**
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + 7-NI	8,06 ± 0,04 (5)	8,09 ± 0,03 (4)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + 7-NI	8,30 ± 0,19 (5)	8,43 ± 0,11 (5)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ A inibição da óxido nítrico sintase neuronal, com 7-NI restabeleceu a resposta máxima da Ang II em animais com doença renal, sugerindo que a nefrectomia 5/6 aumenta a participação dessa enzima neste processo patológico.

8.1.5 Estudo da participação da óxido nítrico sintase induzida (iNOS) na resposta contrátil induzida pela Ang II, após nefrectomia 5/6

Para verificar a participação da enzima óxido nítrico sintase induzida na alteração da reatividade da artéria carótida, após a nefrectomia 5/6, foram realizadas curvas concentração-efeito para Ang II na presença de 1400W (inibidor da enzima óxido nítrico sintase induzida), em artérias na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio.

Em carótidas de animais nefrectomizados tanto com quanto sem endotélio, na presença de 1400W observou-se um aumento significativo do Emax da Ang II, quando comparado às não incubadas com 1400W. Por outro lado, não foi observada essa diferença no grupo de animais sham.

Não há diferença significativa nos valores de pD_2.

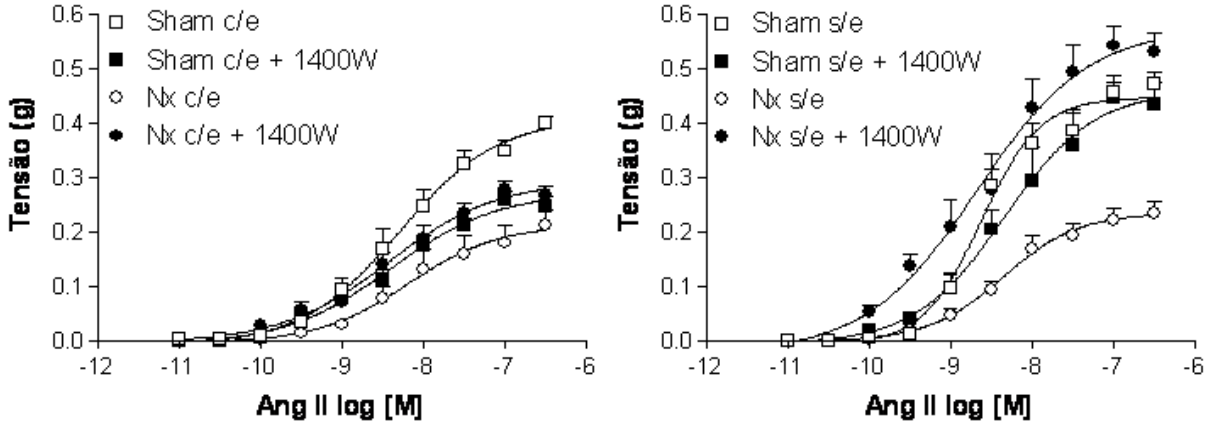


Figura 31: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com 1400W. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-6).

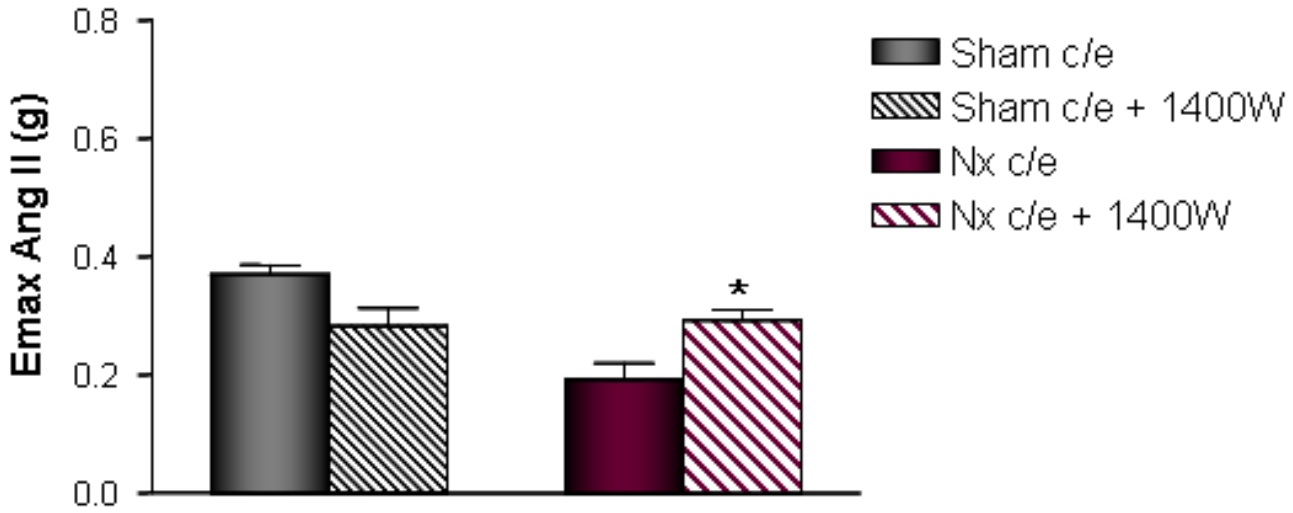


Figura 32: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + 1400W em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + 1400W em carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-6). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

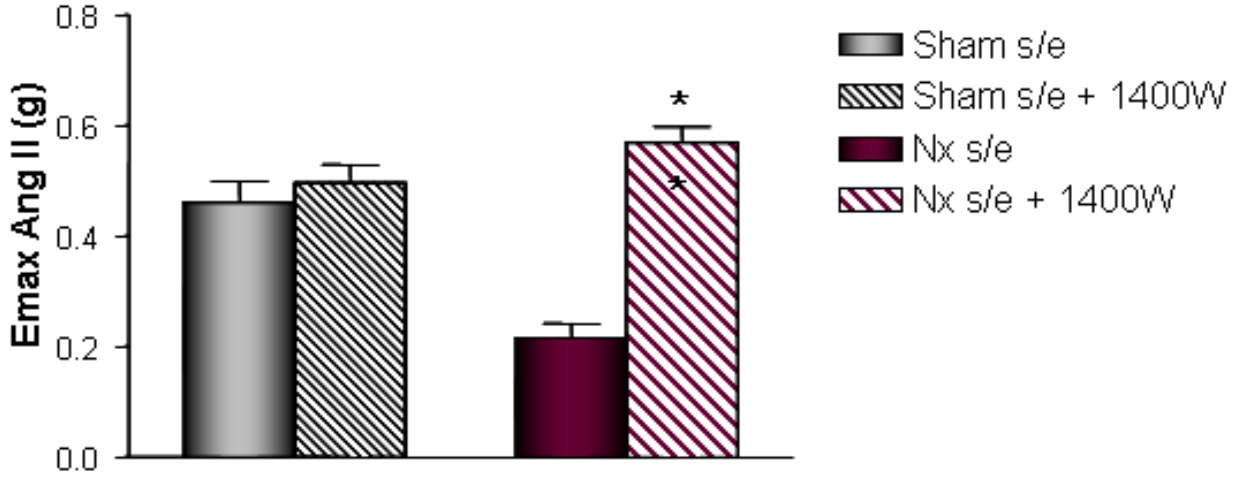


Figura 33: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + 1400W em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + 1400W em carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-6). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 14: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com 1400W.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + 1400W	0,28 ± 0,031 (5)	0,49 ± 0,03 (5)
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + 1400W	0,29 ± 0,018 (6)	0,56 ± 0,02 (5)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 15: Valores de pD_2, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com 1400W.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + 1400W	8,36 ± 0,2 (5)	8,12 ± 0,25 (5)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + 1400W	8,45 ± 0,16 (6)	8,60 ± 0,22 (5)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

- ✓ Os resultados indicam um aumento da participação da óxido nítrico sintase induzida em animais com insuficiência renal crônica, uma vez que o 1400W foi capaz de normalizar a resposta contrátil da Ang II ao nível do animais sham.

8.1.6 Estudo da participação da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) na resposta contrátil induzida pela Ang II, após nefrectomia 5/6

Com o objetivo de estudar a participação da enzima óxido nítrico sintase endotelial na alteração da reatividade da artéria carótida, após a nefrectomia 5/6, foram realizadas curvas concentração-efeito para Ang II na presença de L-NNA (inibidor da enzima óxido nítrico sintase endotelial), em artérias de animais sham e nefrectomizados, com e sem endotélio vascular.

Os resultados mostram que na presença do inibidor da eNOS, observou-se um aumento do Emax da Ang II em artérias com endotélio dos grupos sham e nefrectomizados (figura 34). Por conseguinte, o Emax produzido pela Ang II em artérias sem endotélio de animais nefrectomizados foi aumentado na prenseça de L-NNA, enquanto que de artérias de animais sham, o Emax foi semelhante tanto na presença quanto na ausência do inibidor (figura 34).

Não foi observada diferença significativa nos valores de pD_2.

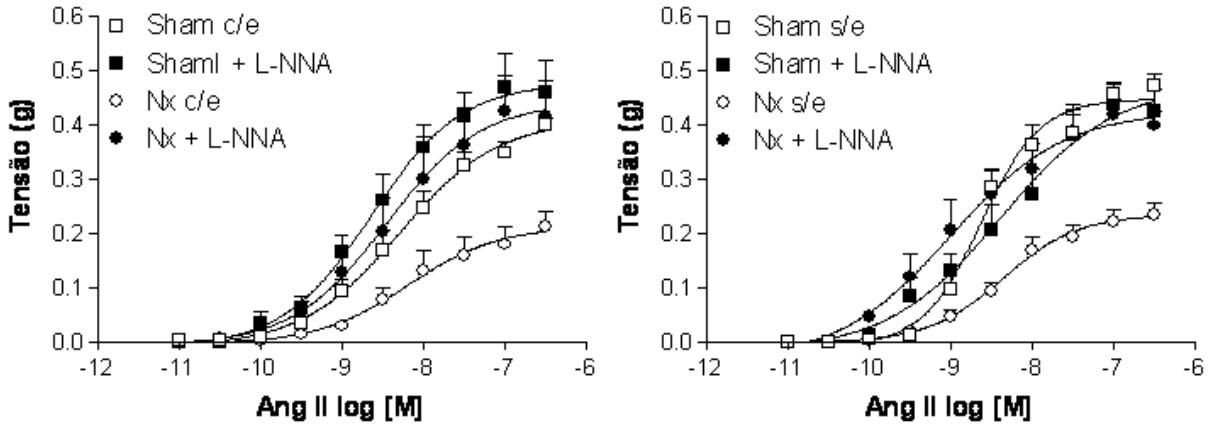


Figura 34: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com L-NNA. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-6).

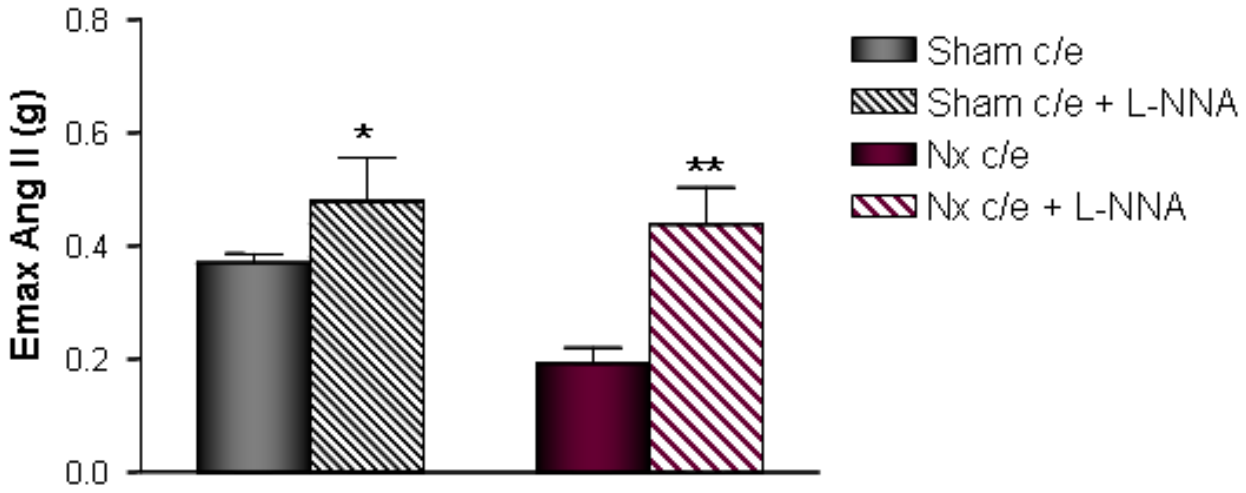


Figura 35: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + L-NNA em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + L-NNA em carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-5). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

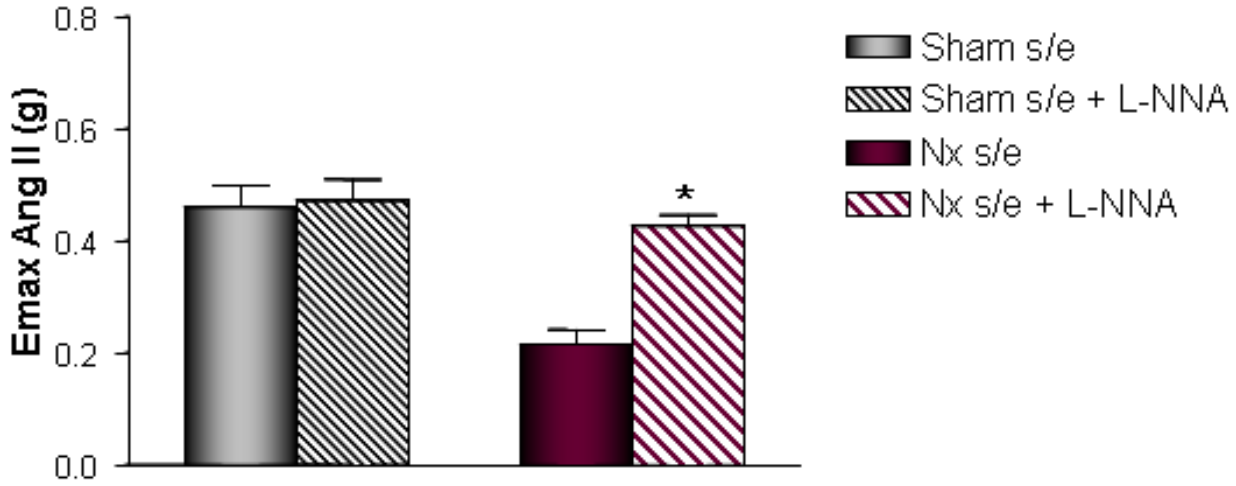


Figura 36: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + L-NNA em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + L-NNA em carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 5-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 16: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com L-NNA.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + L-NNA	0,47 0,076 (5)*	0,47 ± 0,03 (4)
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + L-NNA	0,43 0,06 (5)**	0,42 ± 0,018 (5)***

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na presença de endotélio, pré-incubadas com L-NNA, quando comparadas às não incubadas $p<0,01$. ** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na presença de endotélio, pré-incubadas com L-NNA, quando comparadas às não incubadas, $p<0,001$. *** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na ausência de endotélio, pré-incubadas com L-NNA, quando comparadas às não incubadas, $p<0,001$.

TABELA 17: Valores de pD_2, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com L-NNA.

Grupos experimentais	**pD_2 c/e**	**pD_2 s/e**
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + L-NNA	8,62 ± 0,18 (5)	8,41 ± 0,19 (4)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + L-NNA	8,38 ± 0,23 (5)	8,93 ± 0,21 (5)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ Os dados indicam que a nefrectomia 5/6 aumenta a participação da óxido nítrico sintase endotelial, resultando na redução do efeito máximo da Ang II em animais com doença renal crônica.

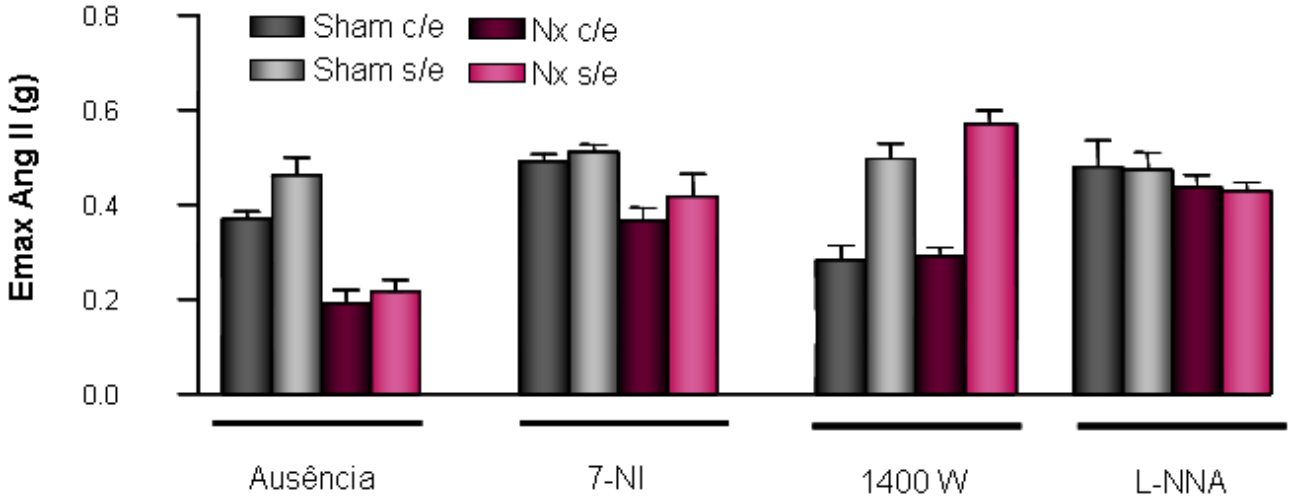


Figura 37: Efeito contrátil da Ang II, Ang II + 7-NI, Ang II + 1400W e Ang II + L-NNA em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença e ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II, Ang II + 7-NI, Ang II + 1400W e Ang II + L-NNA em carótidas isoladas, na presença (c/e) e ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 5-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

8.1.7 Estudo da participação da ciclooxigenase-1 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Para estudar a participação dos prostanóides nas respostas vasculares induzidas pela Ang II após a nefrectomia 5/6, foram realizadas curvas concentração-efeito para este agonista na presença de SC-560 (inibidor da ciclooxigenase-1 – COX-1), em artérias carótidas com (c/e) e sem (s/e) endotélio vascular de animais sham e animais com insuficiência renal crônica.

Os experimentos mostram que na presença de SC-560, o Emax da Ang II em artérias com endotélio de animais sham foi diminuído, enquanto que em artérias de animais nefrectomizados, o Emax foi aumentado (Figura 39).

Em artérias de animais nefrectomizados sem endotélio também na presença de SC-560, o Emax da Ang II encontra-se aumentado, enquanto que o das artérias grupo sham é semelhante, comparativamente as não incubadas com o inibidor da COX-1 (figura 40).

Não há diferença significativa nos valores de pD_2.

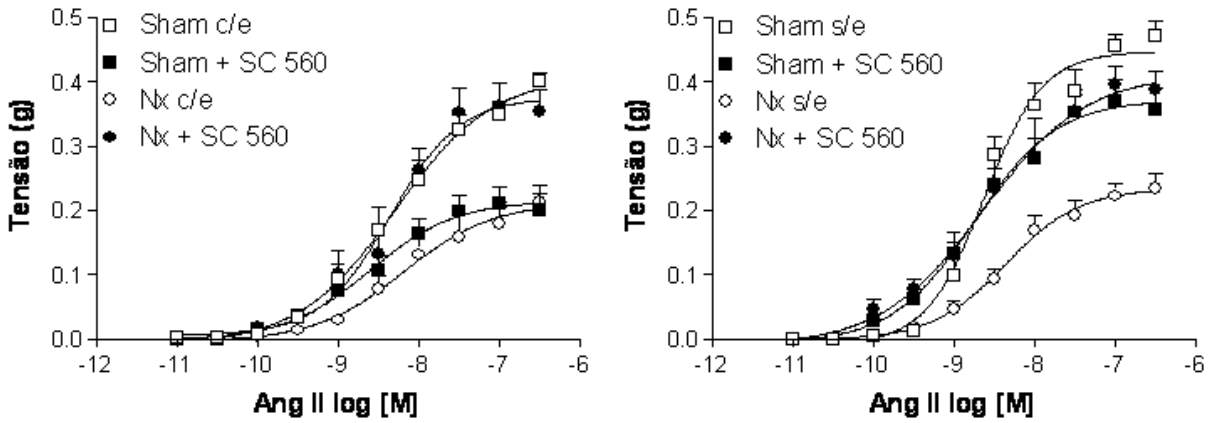


Figura 38: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) e ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com SC-560. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-6).

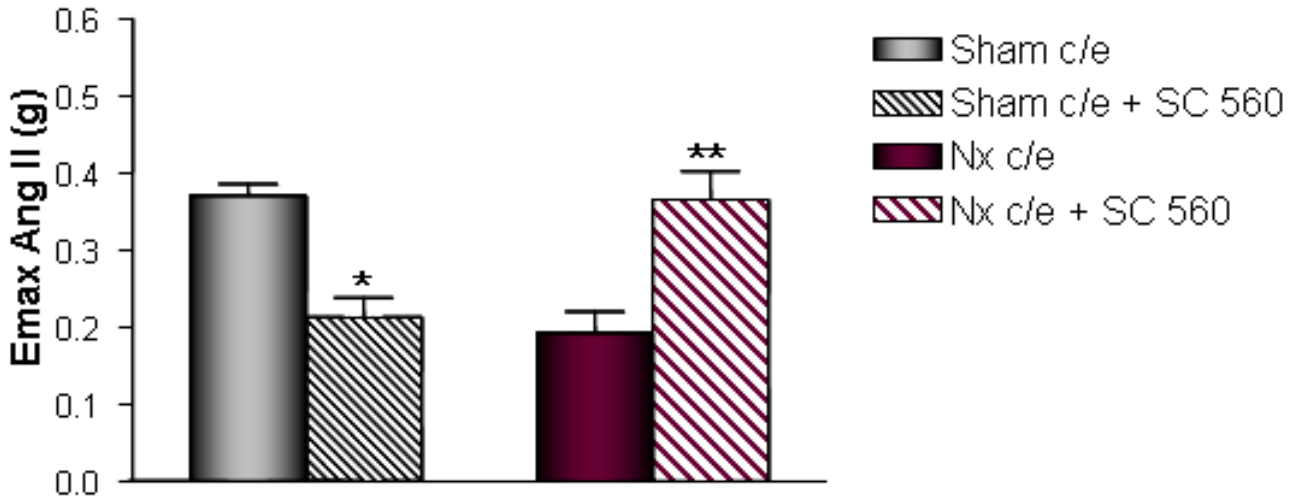


Figura 39: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + SC-560 em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + SC-560 em carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-6). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

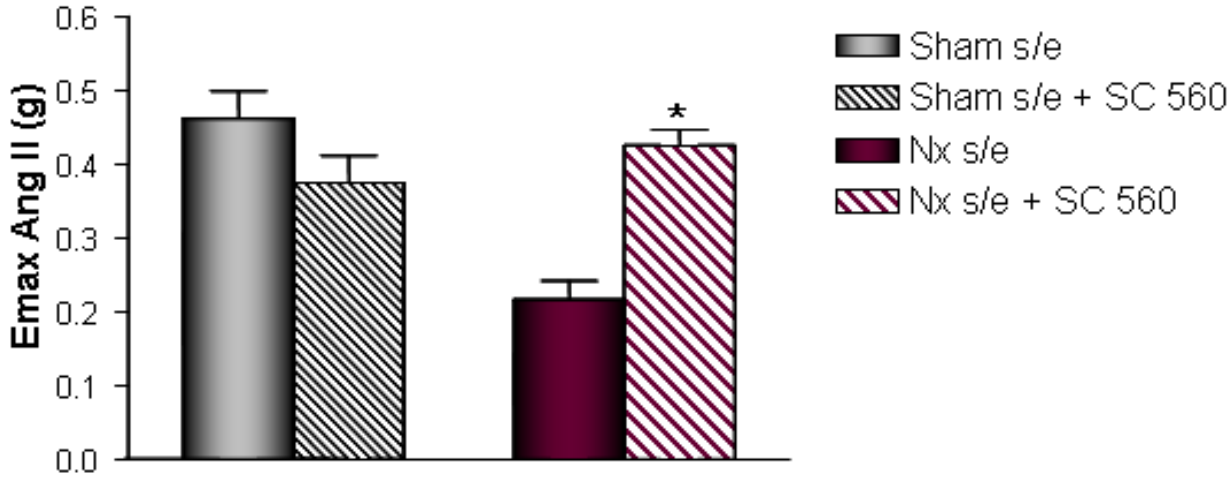


Figura 40: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + SC-560 em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + SC-560 em carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-6). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 18: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com SC-560.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + SC-560	0,21 ± 0,2 (5)*	0,37 ± 0,03 (5)
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + SC-560	0,36 ± 0,03 (5)**	0,42 ± 0,02 (5)***

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na presença de endotélio, pré-incubadas com SC-560, quando comparadas às não incubadas $p<0,01$. ** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na presença de endotélio, pré-incubadas com SC-560, quando comparadas às não incubadas, $p<0,001$. *** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na ausência de endotélio, pré-incubadas com SC-560, quando comparadas às não incubadas, $p<0,001$.

TABELA 19: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com SC-560.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + SC-560	8,60 ± 0,15 (5)	8,57 ± 0,22 (5)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + SC-560	8,35 ± 0,12 (5)	8,67 ± 0,10 (5)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ Os resultados mostram que animais com insuficiência renal a participação da COX-1 se encontra aumentada, ocorrendo assim a diminuição da resposta máxima da Ang II após nefrectomia 5/6.

8.1.8 Estudo da participação da ciclooxigenase-2 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Para verificar a participação dos prostanóides nas respostas vasculares induzidas pela Ang II, foram construídas curvas concentração-efeito para Ang II juntamente com SC-236 (inibidor da ciclooxigenase-2 – COX-2) em carótidas na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio, no grupo de animais sham e nefrectomizados.

Os estudos indicam que na presença de SC-236, o Emax da Ang II em artérias de animais sham com endotélio foi diminuído, enquanto o das artérias dos nefrectomizados foi semelhante ao encontrado no estudo sem o inibidor. Observa-se uma diminuição significativa do Emax da Ang II em artérias sem endotélio do grupo sham, quando incubado com SC-236. Por outro lado, o Emax produzido pela Ang II em carótidas de animais nefrectomizados não foi estatisticamente diferente daquele encontrado no estudo na ausência do inibidor de COX-2.

Os valores de pD_2 não são estatisticamente diferentes.

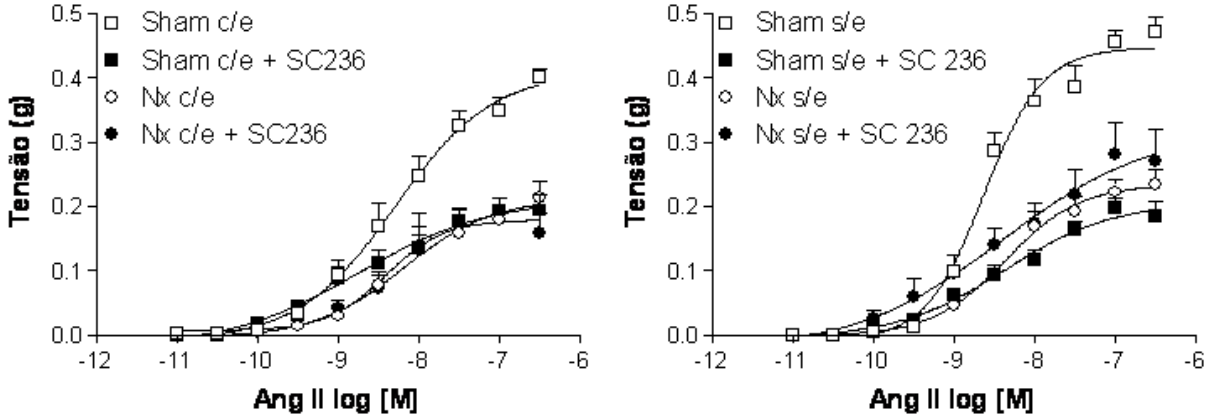


Figura 41: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) e ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com SC-236. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7).

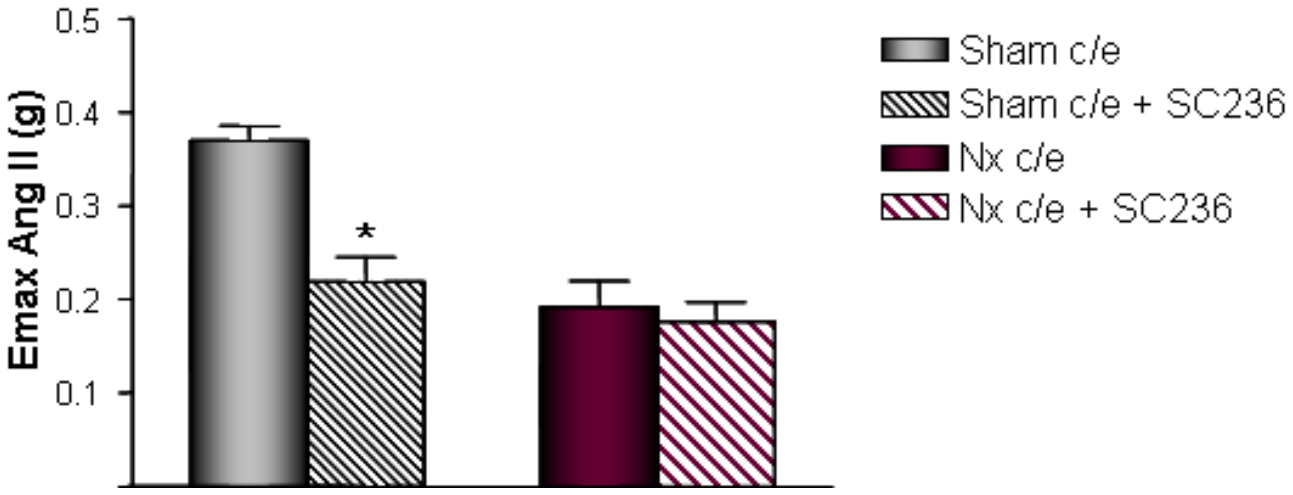


Figura 42: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + SC-236 em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + SC-236 em carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

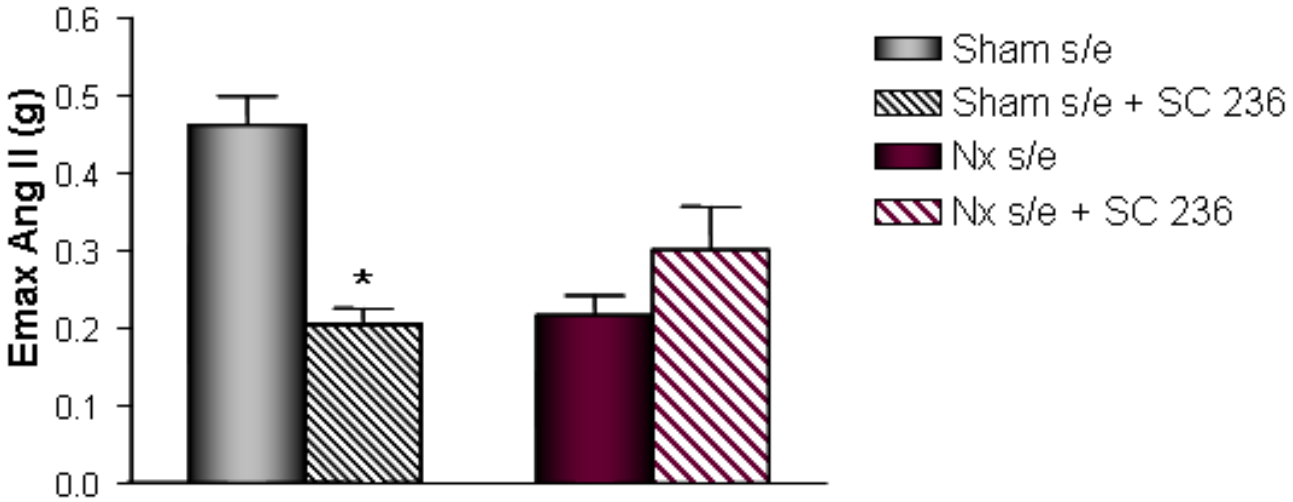


Figura 43: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + SC-236 em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + SC-236 em carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 20: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com SC-236.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + SC-236	0,21 ± 0,2 (5)*	0,20 ± 0,02 (5)**
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + SC-236	0,17 ± 0,02 (5)	0,30 ± 0,05 (6)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na presença de endotélio, pré-incubadas com SC-236, quando comparadas às não incubadas $p<0,001$. ** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na ausência de endotélio, pré-incubadas com SC-236, quando comparadas às não incubadas, $p<0,001$.

TABELA 21: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com SC-236.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + SC-236	8,64 ± 0,13 (5)	8,36 ± 0,11 (5)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + SC-236	8,21 ± 0,10 (5)	8,68 ± 0,31 (6)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ A nefrectomia 5/6 não altera a participação da COX-2, uma vez que o inibidor seletivo para esta enzima não foi capaz de restabelecer o efeito máximo da Ang II em animais com insuficiência renal crônica.

8.1.9 Estudo da participação dos receptores AT_1 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

O estudo funcional dos receptores AT_1 após a nefrectomia 5/6 foi realizado através de curvas concentração-efeito para Ang II na presença de Losartan (LOS) (antagonista de receptores AT_1), em artérias com (c/e) e sem (s/e) endotélio de animais sham e nefrectomizados.

Os resultados mostram que o Emax produzido pela Ang II, em artérias com endotélio de animais sham, foi diminuído de maneira significativa na presença de LOS. Em artérias de animais nefrectomizados, o Emax da Ang II foi semelhante tanto em carótidas com LOS, quanto naquelas que não foram pré-incubadas com o antagonista AT_1 (figura 45 e 46; tabela 22).

Os valores de pD_2 foram estatisticamente diferente nas artérias de animais sham, bem como os nefrectomizados tanto com quanto sem endotélio, pré-incubados com LOS, comparados às não incubadas, $p<0,05$ (tabela 23).

.

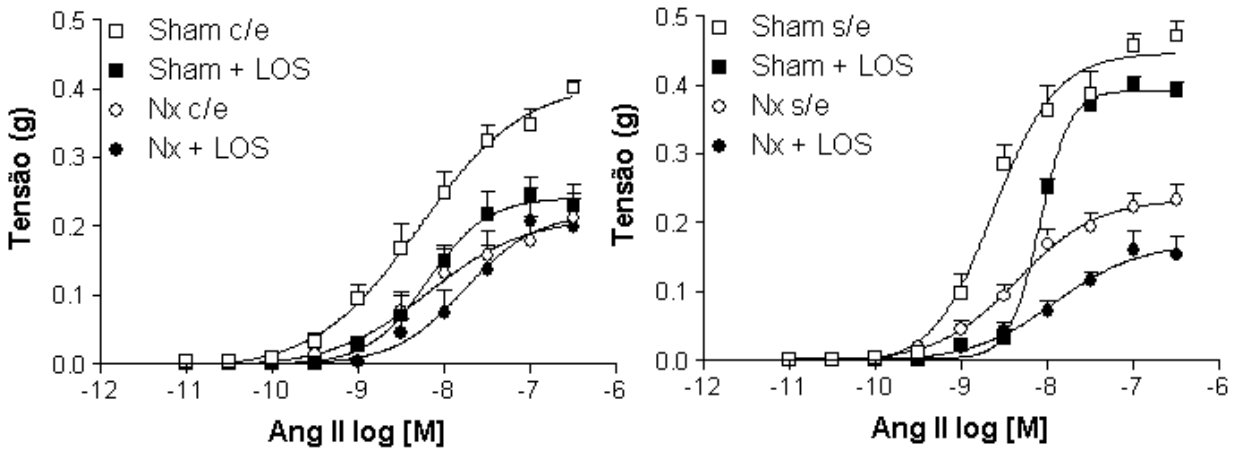


Figura 44: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) e ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com LOS (Losartan). Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7).

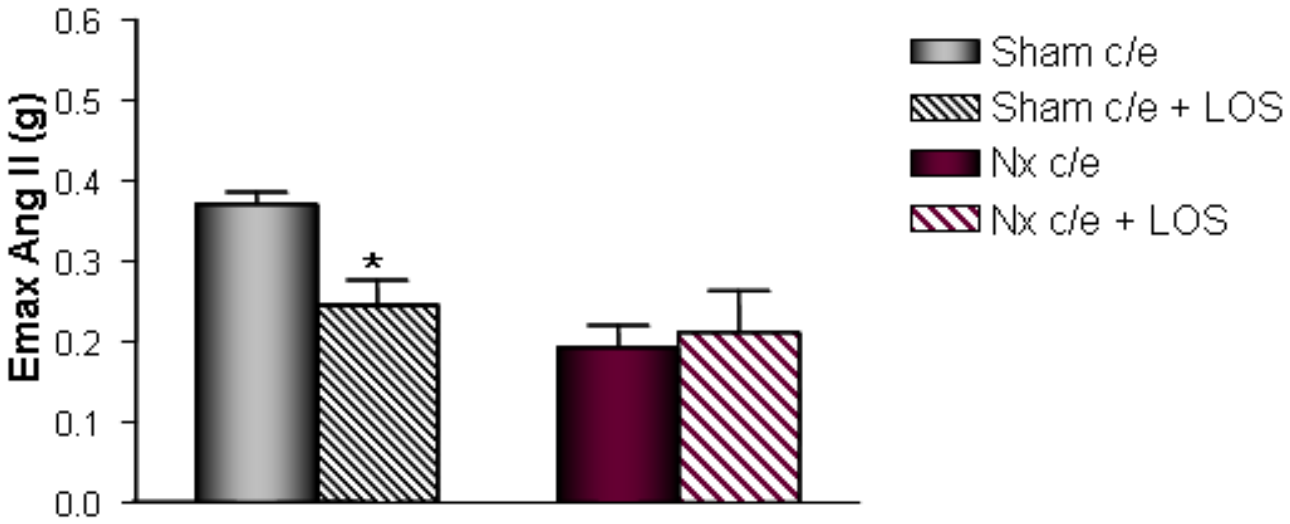


Figura 45: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + LOS (Losartan) em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + LOS em carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

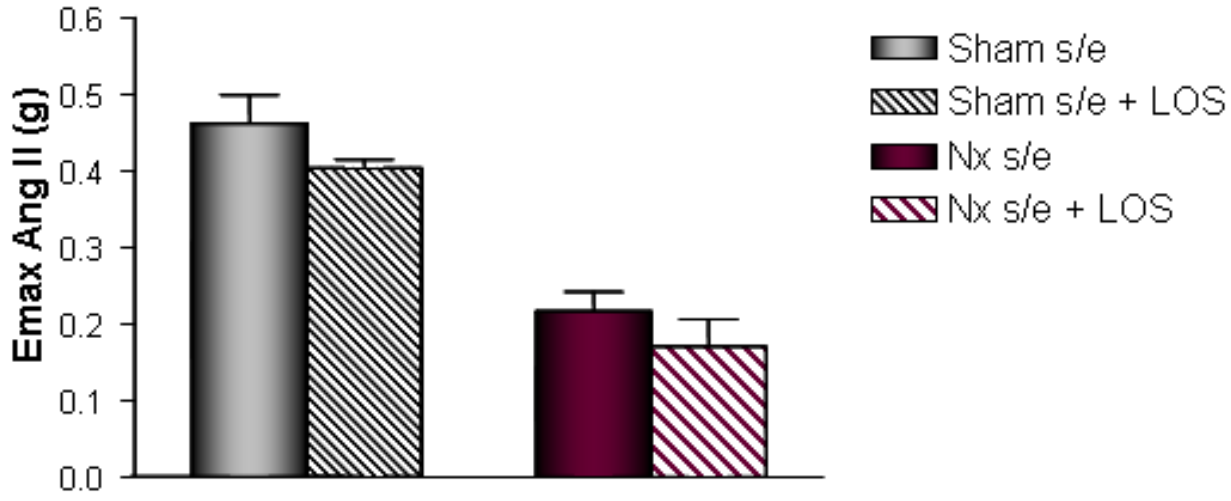


Figura 46: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + LOS (Losartan) artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + LOS carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 22: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com LOS.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + LOS	0,24 ± 0,03 (5)*	0,40 ± 0,01 (4)
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + LOS	0,21 ± 0,05 (5)	0,16 ± 0,03 (5)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na presença de endotélio, pré-incubadas com LOS, quando comparadas às não incubadas $p<0,05$.

TABELA 23: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com LOS.

Grupos experimentais	**pD_2 c/e**	**pD_2 s/e**
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + LOS	8,17 ± 0,03 (5)*	8,09± 0,06 (4)**
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + LOS	8,19 ± 0,11 (5)***	7,96 ± 0,06 (5)#

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa do pD_2 da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na presença de endotélio, pré-incubadas com LOS, quando comparadas às não incubadas $p<0,05$. ** Representa diferença significativa do pD_2 da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na ausência de endotélio, pré-incubadas com LOS, quando comparadas às não incubadas $p<0,05$. ******* Representa diferença significativa do pD_2 da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizado, na presença de endotélio, pré-incubadas com LOS, quando comparadas às não incubadas $p<0,05$. # Representa diferença significativa do pD_2 da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizado, na ausência de endotélio, pré-incubadas com LOS, quando comparadas às não incubadas $p<0,05$.

TABELA 24: Valores de pA_2, para Ang II em artérias carótidas de animais sham e nefrectomizados na ausência e na presença de LOS.

Grupos experimentais	pA_2 c/e	pA_2 s/e
Sham	7,32 ± 0,05 (5)	7,21 ± 0,03 (4)
Nefrectomizado (Nx)	7,10 ± 0,05 (5)*	7,06 ± 0,03 (5)**

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa da potência do LOS em artérias carótidas de animais nefrectomizado, na presença de endotélio, quando comparadas às de sham com endotélio $p<0,01$. ****** Representa diferença significativa da potência do LOS em artérias carótidas de animais nefrectomizado, na ausência de endotélio, quando comparadas às de sham na presença de endotélio $p<0,01$.

Conclusão Parcial:

✓ A nefrectomia 5/6 parece aumentar o número de receptores $AT_{1,}$ ou parece existir outro sistema que se oponha ao efeito contráril aos receptores $AT_{1,}$ uma vez que o pA_2 do Losartan se encontra diminuído em carótidas de animais nefrectomizados.

8.2 Estudo da participação dos receptores AT_2 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Com o objetivo de verificar a função dos receptores AT_2 após a nefrectomia 5/6 foi realizado através de curvas concentração-efeito para Ang II na presença de PD123319 (antagonista de receptores AT_2), em artérias com (c/e) e sem (s/e) endotélio de animais sham e nefrectomizados.

Os estudos revelam que em artérias com endotélio de animais nefrectomizados, o Emax da Ang II apresenta-se significativamente aumentando na presença de PD123319, quando comparado ao das não incubadas com o antagonista AT_2 (figura 48 e 49; tabela 24).

Não existe diferença significativa nos valores de pD_2 no grupo em estudo (tabela 25).

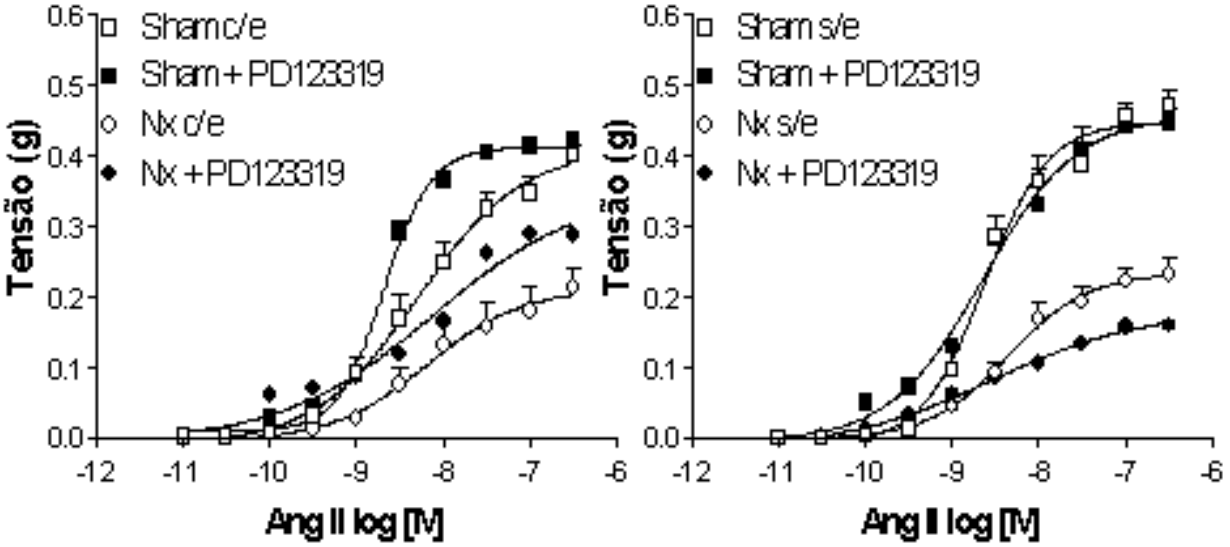


Figura 47: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) e ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com PD123319. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7).

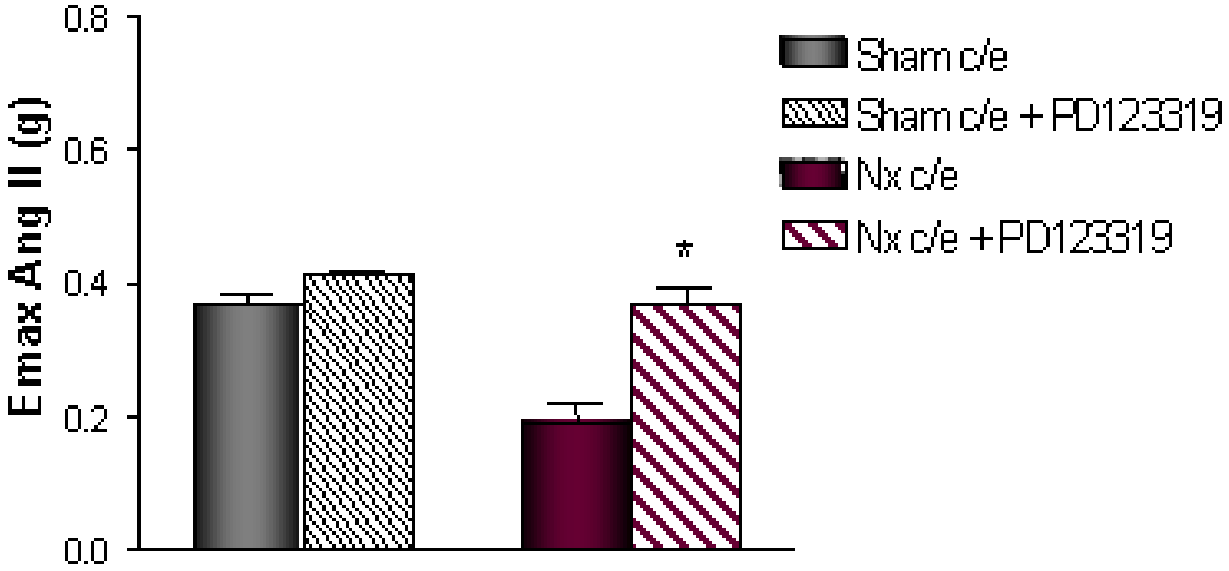


Figura 48: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + PD123319 em artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + PD123319 em carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

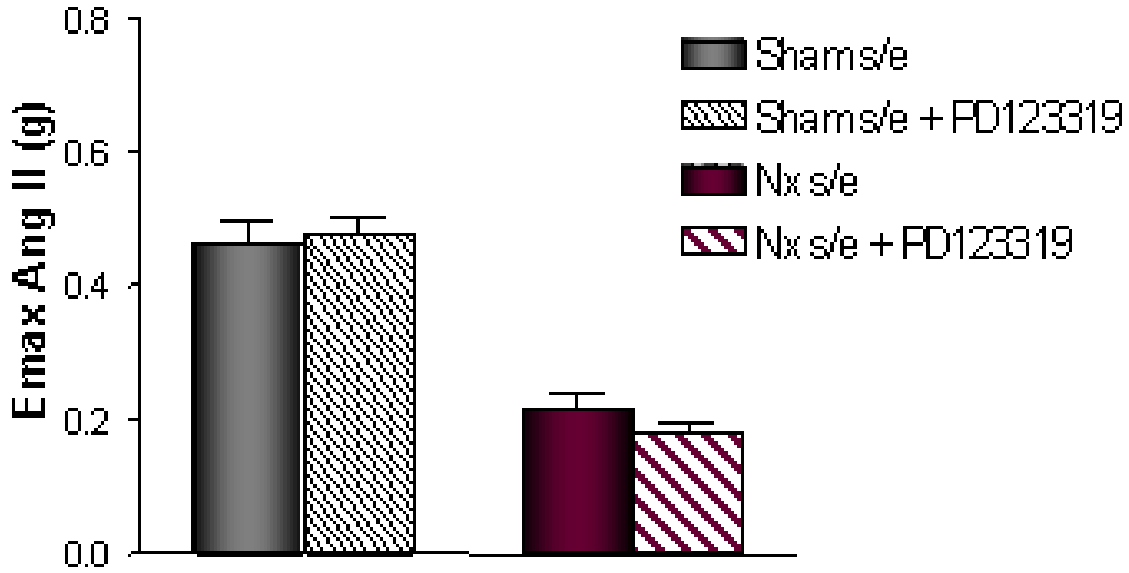


Figura 49: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + PD123319 artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + PD123319 carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6-7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 25: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com PD123319.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + PD123319	0,41 ± 0,006 (4)	0,47 ± 0,02 (4)
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + PD123319	0,36 ± 0,02 (4)*	0,18 ± 0,01 (4)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

* Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na ausência de endotélio, pré-incubadas com PD123319, quando comparadas às não incubadas, $p<0,01$.

TABELA 26: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com PD123319.

Grupos experimentais	**pD_2 c/e**	**pD_2 s/e**
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + PD123319	8,58 ± 0,03 (4)	8,58 ± 0,05 (4)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + PD123319	8,06 ± 0,06 (4)	8,52 ± 0,03 (4)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 27: Valores de pA_2, para Ang II em artérias carótidas de animais sham e nefrectomizados na ausência e na presença de PD123319.

Grupos experimentais	pA_2 c/e	pA_2 s/e
Sham	8,45 ± 0,08 (4)	8,40 ± 0,08 (4)
Nefrectomizado (Nx)	8,25 ± 0,08 (4)	8,33 ± 0,20 (4)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ A insuficiência renal crônica parece não promover mudança no número de receptores AT_2, uma vez que o pA_2 do antagonista PD123319 se encontra semelhante tanto para carótidas de animais nefrectomizados, quanto para os sham.

8.2.1 Estudo da participação do óxido nítrico e dos receptores AT_2 nas respostas vasculares, após nefrectomia 5/6

Para estudarmos a participação do óxido nítrico e dos receptores AT_2 na alteração do efeito máximo das contrações induzidas por Ang II, foi realizada curva concentração-efeito para este agonista (Ang II) em anéis de carótida, na presença e na ausência de endotélio, com L-NAME (inibidor da enzima óxido nítrico sintase - NOS, 10^{-4} M) e PD123319 (antagonista dos receptores AT_2, 10^{-8} M), pré-incubados por 30 min.

Os resultados mostram que tanto em artérias com, quanto as sem endotélio de animais sham, o Emax da Ang II apresenta-se significativamente aumentando na presença de PD123319 + L-NAME. Observa-se um aumento significativo no Emax produzido pela Ang II em carótidas de animais nefrectomizados, com e sem endotélio, pré-incubadas com PD123319 + L-NAME, quando comparado ao das não incubadas com o antagonista AT_2 e o inibidor inespecífico das NOS (figuras 51 e 52; tabela 28).

Não existe diferença significativa nos valores de pD_2 no grupo em estudo (tabela 29).

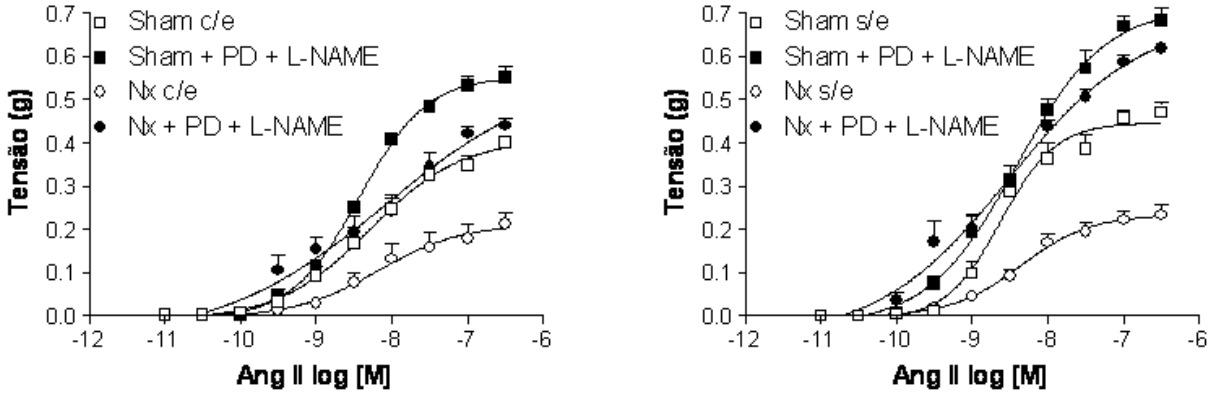


Figura 50: Curva concentração-efeito para Ang II em artérias carótidas, na presença (c/e) e ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com PD123319 + L-NAME. Os dados representam a média ± EPM (n =7-4).

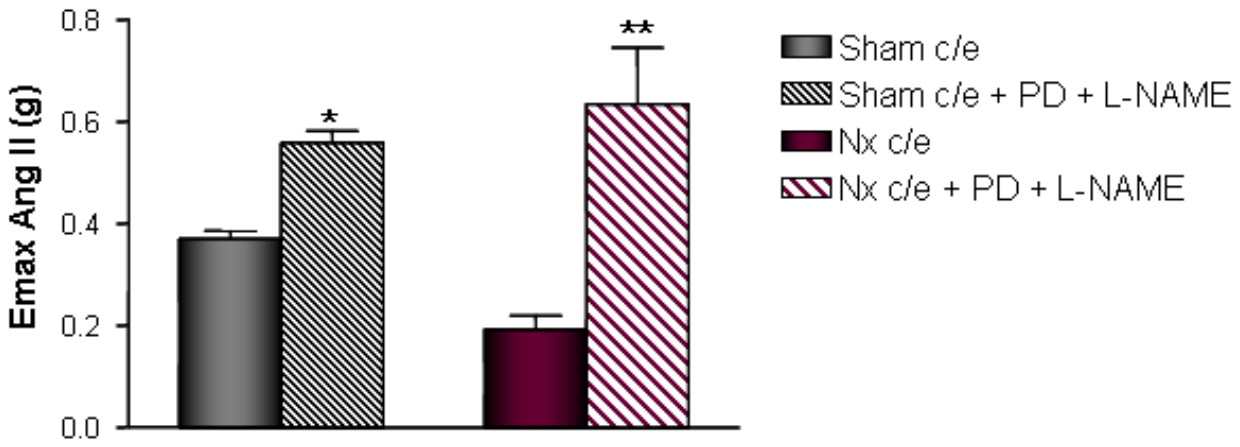


Figura 51: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + PD123319 + L-NAME artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + PD123319 + L-NAME carótidas isoladas, na presença (c/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-4). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

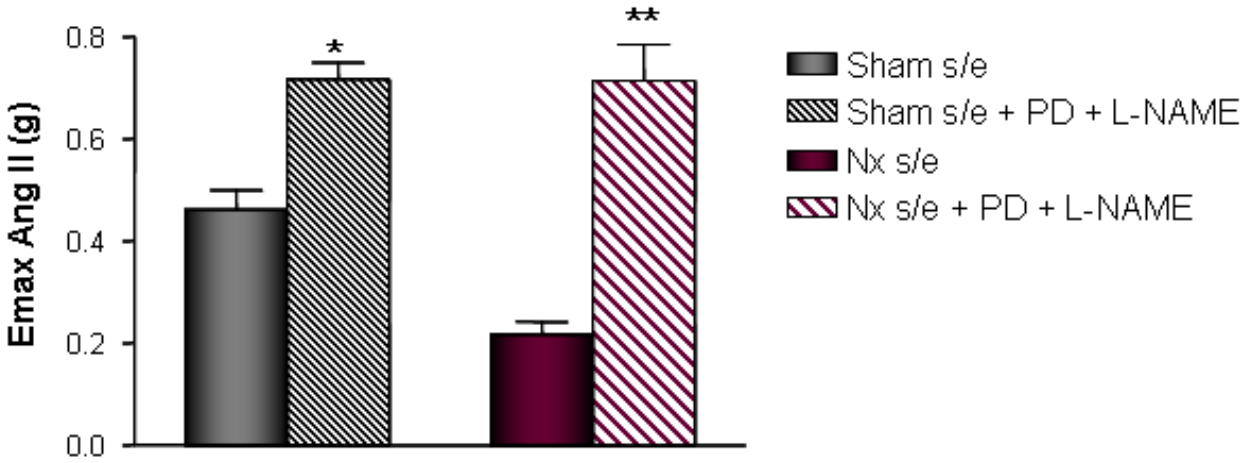


Figura 52: Efeito contrátil da Ang II e Ang II + PD123319 + L-NAME artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II e Ang II + PD123319 + L-NAME carótidas isoladas, na ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-4). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

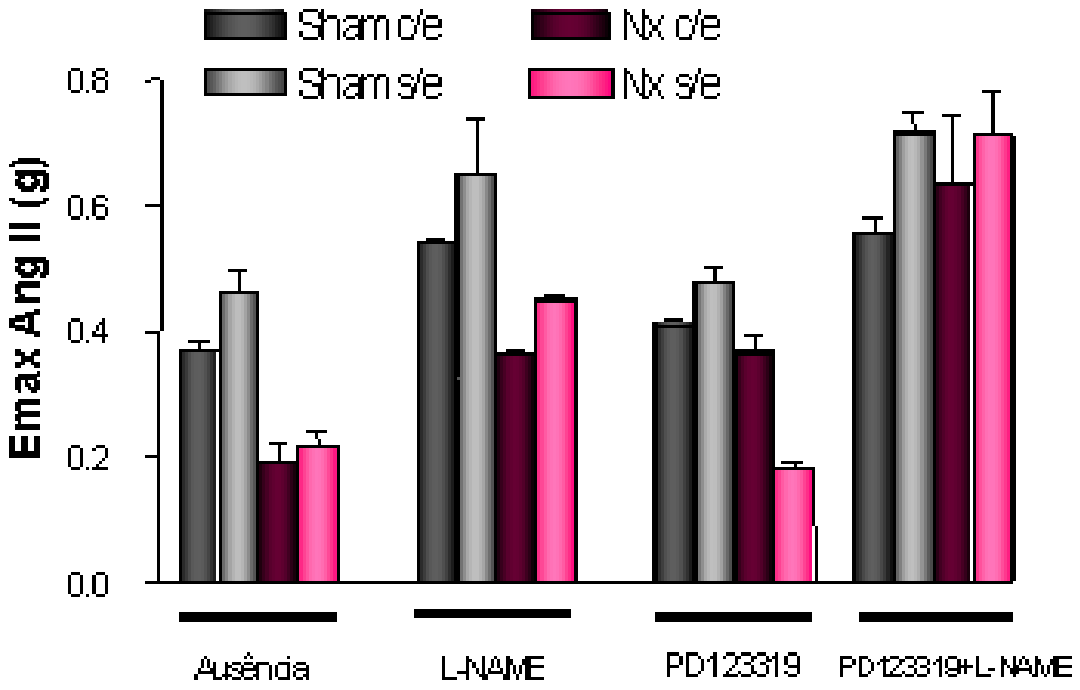


Figura 53: Efeito contrátil da Ang II, Ang II + L-NAME, Ang II + PD123319 e Ang II + PD123319 + L-NAME artérias carótidas isoladas de animais sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença e ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Ang II, Ang II + L-NAME, Ang II + PD123319 e Ang II + PD123319 + L-NAME carótidas isoladas, na presença (c/e) e ausência (s/e) de endotélio, de animais sham e submetidas à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 7-4). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 28: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com PD123319 + L-NAME.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,36 ± 0,016 (6)	0,46 ± 0,03 (5)
Sham + PD + L-NAME	0,55 ± 0,02 (4)*	0,71 ± 0,03 (4)***
Nefrectomizado (Nx)	0,19 ± 0,02 (5)	0,21 ± 0,02 (7)
Nx + PD + L-NAME	0,63 ± 0,11 (5)**	0,71 ± 0,07 (4)#

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na presença de endotélio, pré-incubadas com PD + L-NAME, quando comparadas às não incubadas p<0,05. ** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na presença de endotélio, pré-incubadas com PD + L-NAME, quando comparadas às não incubadas, p<0,001. *** Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais sham, na ausência de endotélio, pré-incubadas com PD + L-NAME, quando comparadas às não incubadas, p<0,001. # Representa diferença significativa do Emax da Ang II de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na ausência de endotélio, pré-incubadas com PD + L-NAME, quando comparadas às não incubadas, p<0,001.

TABELA 29: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Ang II em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular, pré-incubadas com PD123319 + L-NAME.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	8,42 ± 0,14 (6)	8,52 ± 0,16 (5)
Sham + PD + L-NAME	8,42 ± 0,05 (4)	8,67 ± 0,13 (4)
Nefrectomizado (Nx)	8,26 ± 0,23 (5)	8,40 ± 0,10 (7)
Nx + PD + L-NAME	7,91 ± 0,45 (5)	8,54 ± 0,14 (4)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

✓ A nefrectomia 5/6 parece alterar a participação dos receptores AT_2 e da enzima óxido nítrico sintase no efeito máximo da Ang II.

8.2.2 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular ao KCl

Com o objetivo de avaliar a integridade muscular de artérias carótidas após a nefrectomia 5/6, foi realizada curvas concentração-efeito para KCl em artérias na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular. Em artérias com endotélio de animais sham o efeito máximo do KCl foi de 0,44 ± 0,028 gramas, enquanto que em artérias de animais nefrectomizados o efeito máximo do KCl foi de 0,49 ± 0,028 gramas (figuras 55). Com a retirada do endotélio, o Emax do KCl em artérias de animais sham aumentou, quando comparado ao valor obtido em artérias com endotélio, $p<0,001$. Observou-se que em artérias carótidas de animais nefrectomizados, os valores do Emax do KCl são iguais tanto em artérias com quanto em artérias sem endotélio. Os valores de pD_2 (-Log da EC_{50}) do KCl em artérias carótidas na presença de endotélio vascular de animais sham foram de 1,6 ± 0,05 gramas, enquanto que em animais nefrectomizados foram de 1,83 ± 0,11 gramas e as artérias carótidas na ausência de endotélio vascular de animais sham 1,87 ± 0,11 gramas e as dos animais nefrectomizados 1,69 ± 0,02 gramas. Não observa-se nenhuma diferença significativa no pD_2 das artérias dos animais em estudo.

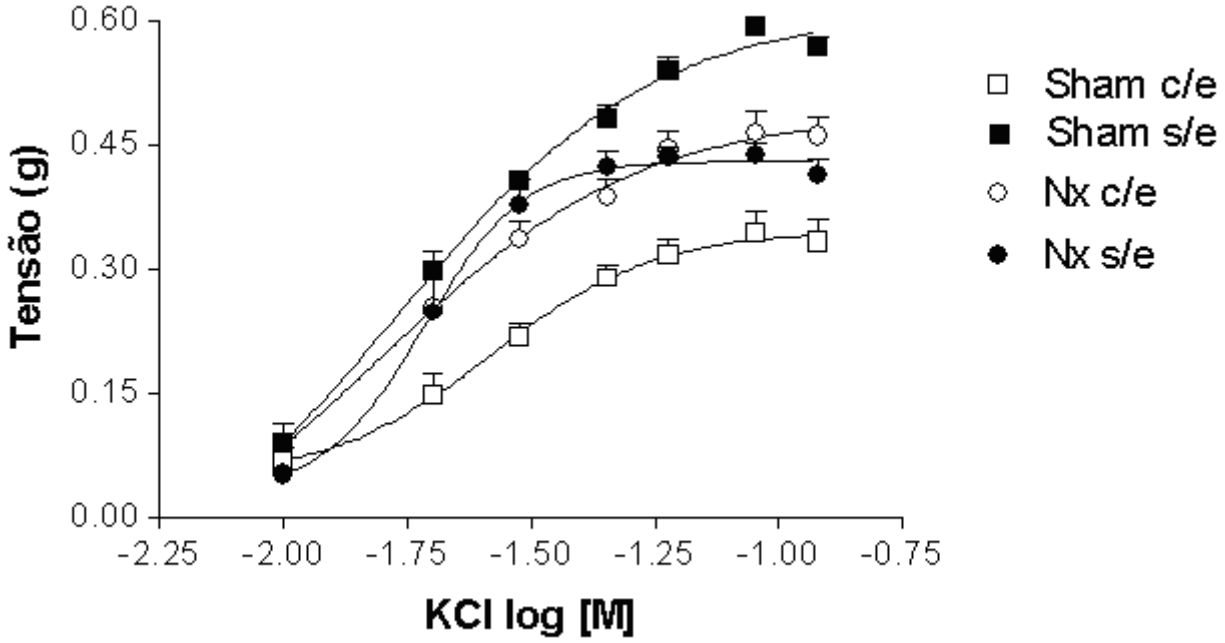


Figura 54: Curva concentração-efeito para KCl em artérias carótidas, na presença (c/e) e na ausência (s/e) do endotélio vascular. Os dados representam a média ± EPM (n = 6) da tensão em gramas da contração do anel carotídeo, pelo Log da concentração de KCl.

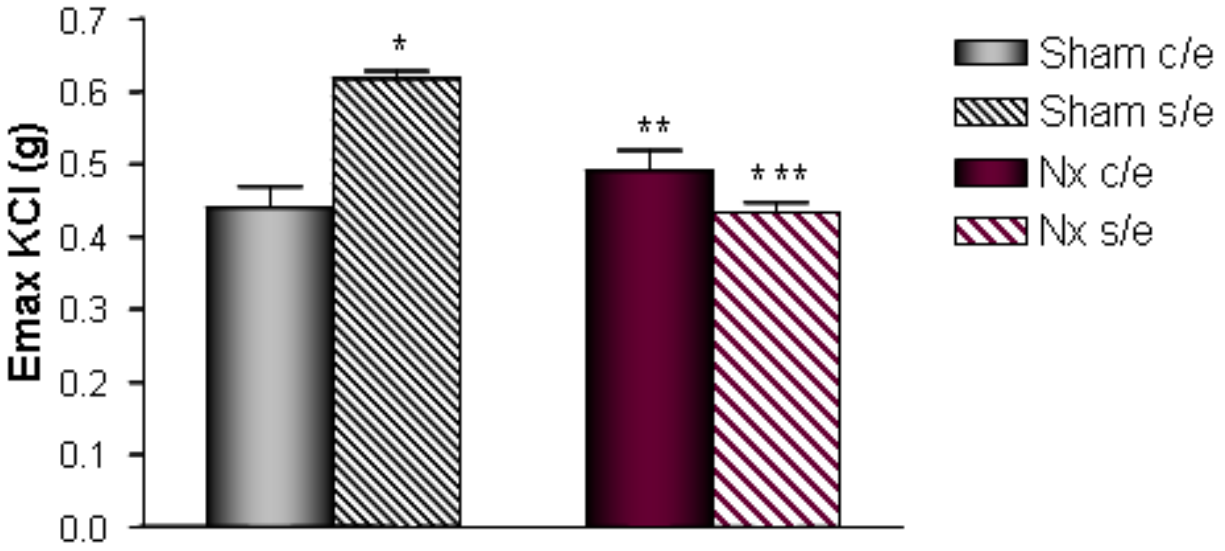


Figura 55: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles, sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito Máximo do KCl em carótidas isoladas, na presença de endotélio, de animais controle, sham e submetidos à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 6). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 30: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para KCl em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,44 ± 0,028 (8)	0,61 ± 00,9 (6) *
Nefrectomizado (Nx)	0,49± 0,02 (8)	0,43 ± 0,01 (6) **

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax do KCl de artérias carótidas de animais sham, na ausência de endotélio, quando comparadas ao de artérias na presença de endotélio, $p<0,001$. ** Representa diferença significativa do Emax do KCl de artérias carótidas de animais nefrectomizados na ausência de endotélio, quando comparadas ao de animais sham também na ausência de endotélio, $p<0,001$. -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 31: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para KCl em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	1,60 ± 0,05 (8)	1,87 ± 0,11 (6)
Nefrectomizado (Nx)	1,83 ± 0,11 (8)	1,69 ± 0,02 (6)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

Conclusão Parcial:

- ✓ A insuficiência renal crônica não promove alteração na capacidade contrátil das artérias dos animais nefrectomizados, quando comparados aos sham. A insuficiência renal promove perda da resposta modulatória do endotélio vascular.

8.2.3 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular à Fenilefrina (Phe)

Com a finalidade de estudar as conseqüências da nefrectomia 5/6 na resposta contrátil desencadeada pela Phe, foram construídas curvas concentração-efeito para este agonista em artérias carótidas na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular. Em artérias de animais sham o efeito máximo da Phe foi de 0,415 ± 0,03 gramas, enquanto que em artérias de animais nefrectomizados o efeito máximo da Phe foi de 0,392 ± 0,04 gramas. Não há diferença significativa no efeito máximo da Phe em artérias carótidas na presença de endotélio vascular. Em artérias carótidas na ausência de endotélio vascular (s/e), de animais sham, o efeito máximo da Phe foi de 0,562 ± 0,04 gramas, enquanto que em animais com insuficiência renal crônica o efeito máximo da Phe foi de 0,405 ± 0,04 gramas. Observa-se um aumento significativo do Emax da Phe em carótidas de animais sham, na ausência de endotélio, quando comparados ao das com endotélio, $p<0,05$. Por outro lado, a retirada do endotélio das carótidas de animais nefrectomizados não alterou o Emax da Phe.

Os valores de pD_2 (-Log da EC_{50}) da Phe em artérias carótidas na presença de endotélio vascular de animais sham foram de 0,259 ± 0,09 gramas, enquanto que de animais nefrectomizados foram de 7,33 ± 0,15 gramas. Em artérias carótidas na ausência de endotélio vascular de animais sham os valores de pD_2 foram de 7,66 ± 0,04 gramas e de animais nefrectomizados foram de 7,43 ± 0,10 gramas. Observa-se uma diminuição significativa no pD_2 das carótidas dos animais nefrectomizados na presença de endotélio, quando comparados ao de animais sham, na ausência de endotélio, com $p<0,05$.

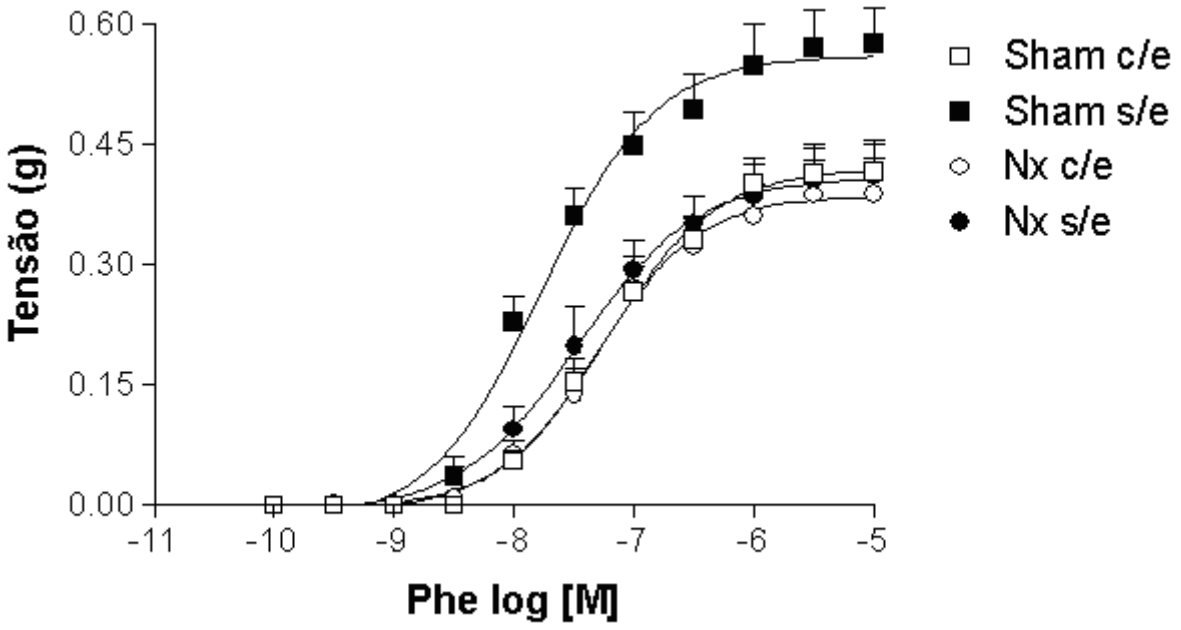


Figura 56: Curva concentração-efeito para Phe em artérias carótidas, na presença (c/e) e na ausência (s/e) do endotélio vascular. Os dados representam a média ± EPM (n = 7) da tensão em gramas da contração do anel carotídeo, pelo Log da concentração molar de Phe.

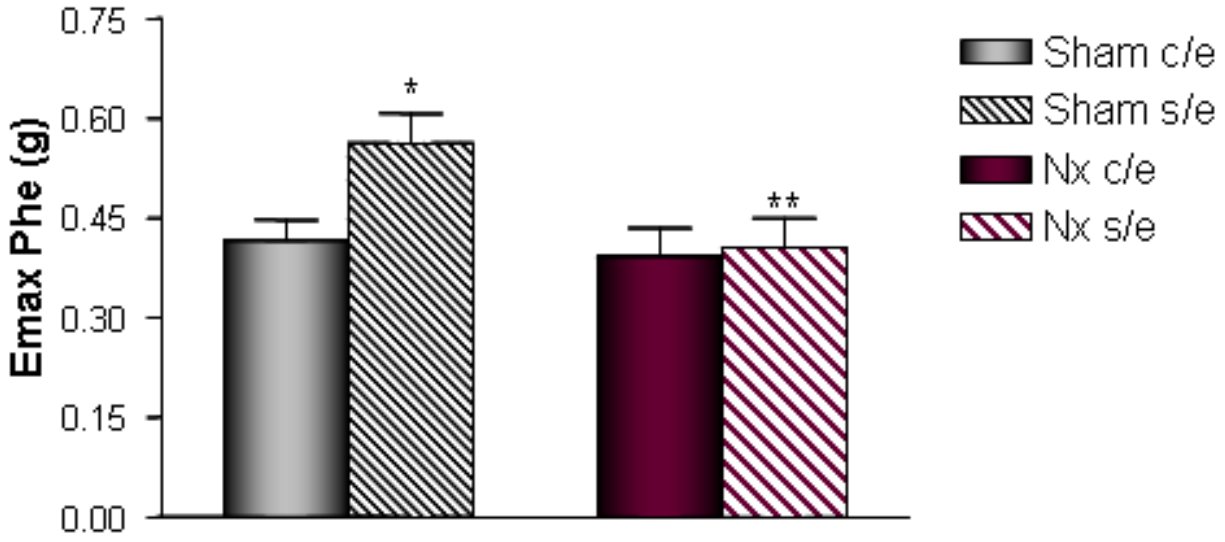


Figura 57: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles, sham ou submetidos à nefrectomia 5/6, na presença e na ausência de endotélio vascular. A figura mostra o Efeito máximo da Phe em carótidas isolados, na presença de endotélio, de animais sham e submetidos à nefrectomia 5/6. Os dados representam a média ± EPM (n = 7). -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

TABELA 32: Valores de Emax, em gramas, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Phe em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular.

Grupos experimentais	Emax c/e	Emax s/e
Sham	0,415 ± 0,03 (8)	0,562 ± 0,04 (7)*
Nefrectomizado (Nx)	0,392 ± 0,04 (6)	0,405 ± 0,04 (7)**

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

***** Representa diferença significativa do Emax da Phe de artérias carótidas de animais sham, na ausência de endotélio, quando comparadas ao de artérias na presença de endotélio, $p<0,05$. ** Representa diferença significativa do Emax da Phe de artérias carótidas de animais nefrectomizados na ausência de endotélio, quando comparadas ao de animais sham também na ausência de endotélio, $p<0,05$.

TABELA 33: Valores do pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para Phe em preparações isoladas de anéis de carótida na presença (c/e) e na ausência (s/e) de endotélio vascular.

Grupos experimentais	pD_2 c/e	pD_2 s/e
Sham	7,259 ± 0,09 (8)	7,26 ± 0,04 (7)
Nefrectomizado (Nx)	7,33 ± 0,15 (6)*	7,45 ± 0,10 (7)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -ANOVA, pós teste de Newman – Keuls.

*Representa diferença significativa do pD_2 da Phe de artérias carótidas de animais nefrectomizados, na presença de endotélio quando comparado ao de animais sham na ausência de endotélio, $p<0,05$.

Conclusão Parcial:

- ✓ A insuficiência renal crônica não promove alteração no efeito máximo da Phe em carótidas de animais nefrectomizados, quando comparados aos sham. A insuficiência renal promove perda da resposta modulatória do endotélio vascular.

8.2.4 Consequências da nefrectomia 5/6 sobre a reatividade vascular à acetilcolina (ACh)

Com o objetivo de estudar se a insuficiência renal crônica promove alteração no vasorelaxamento induzido pela ACh, foram construídas curvas de relaxamento para tal agonista em artérias carótidas de animais sham e nefrectomizados. Os resultados demonstram que o relaxamento induzido pela ACh não foi modificado após a nefrectomia 5/6, visto que não observou-se diferença significativa nos valores de Emax e pD_2 do agonista, em artérias dos grupos de animais sham e nefrectomizados

.

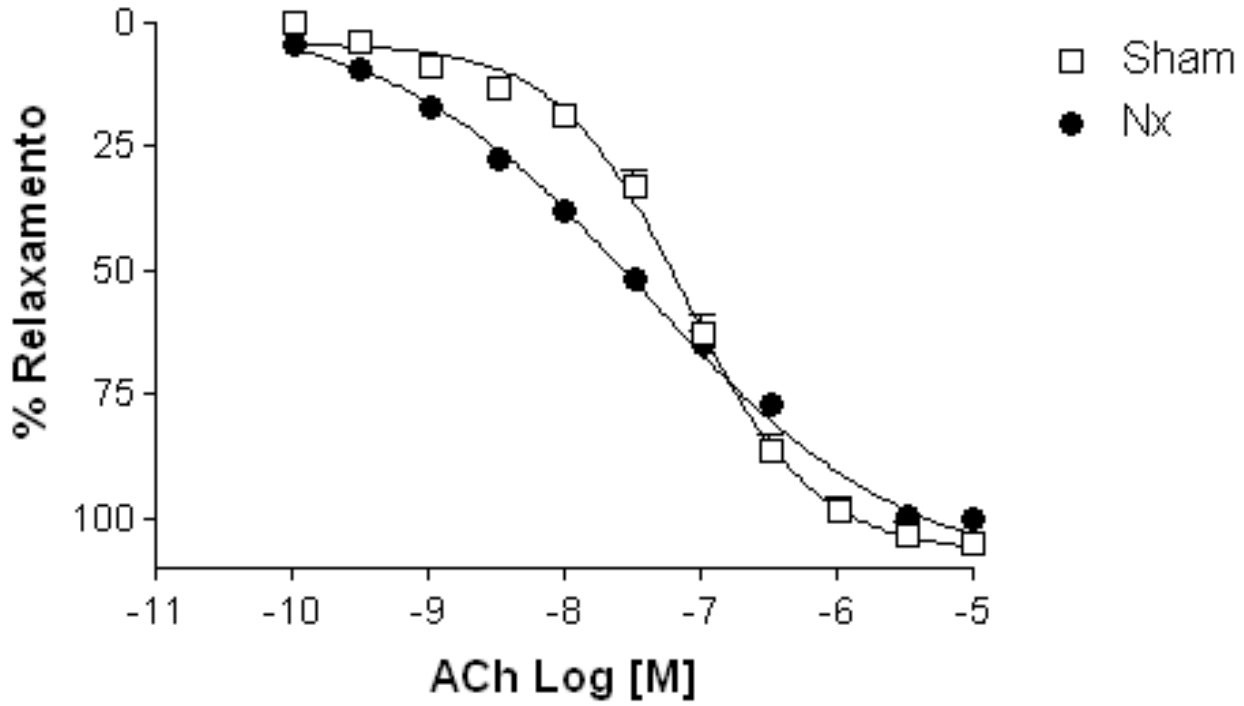


Figura 58: Curva concentração-efeito de relaxamento para ACh em artérias carótidas, na presença do endotélio vascular, pré-contraídas com Phe. Os dados representam a média ± EPM (n = 7) da porcentagem de relaxamento pelo Log da concentração molar de ACh.

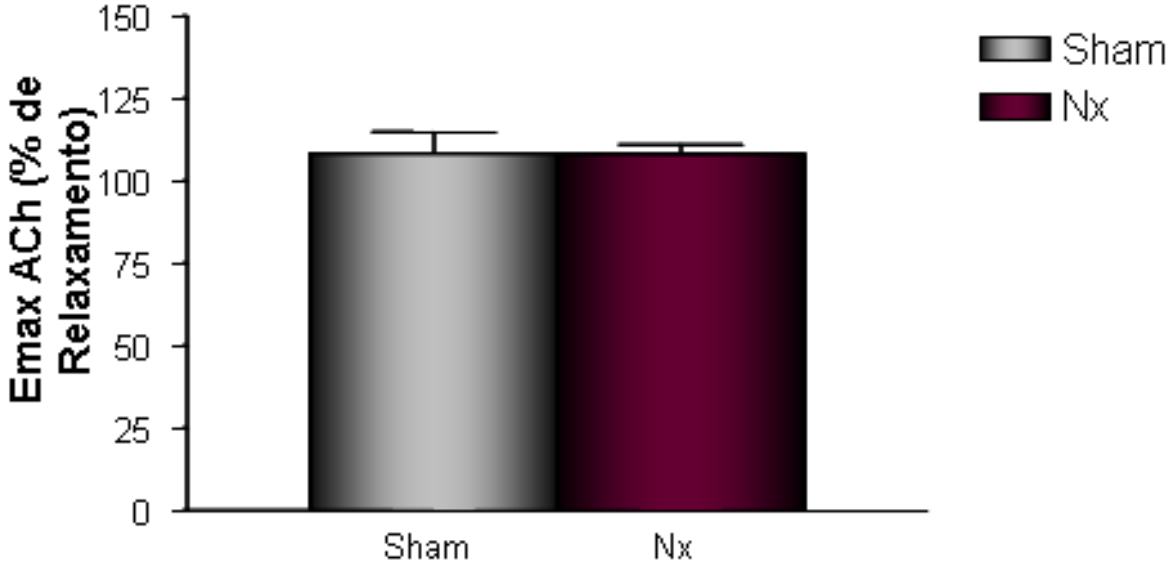


Figura 59: Efeito relaxante da ACh em artérias carótidas isoladas de animais sham ou nefrectomizados, pré-contraídas com Phe. A figura mostra o Efeito máximo do relaxamento da ACh em carótidas isoladas, de animais sham e nefrectomizados, pré-contraídas com Phe. Os dados representam a média ± EPM (n = 7).

TABELA 34: Valores de Emax, em gramas e pD_2, log da concentração molar, calculados a partir de curvas concentração-efeito para ACh em preparações isoladas de anéis de carótida.

Grupos experimentais	Emax	pD_2
Sham	108,27 ± 6,69 (7)	7,09 ± 0,11 (7)
Nefrectomizado (Nx)	108,18 ± 2,92 (7)	7,40± 0,17 (7)

- Os dados representam a média ± EPM; - Os algarismos entre parênteses indicam o número de animais por grupo (n); -Teste t

Conclusão Parcial:

- ✓ A nefrectomia 5/6 parece manter a integridade endotelial, uma vez que o vasorelaxamento dependente do endotélio permanece semelhante ao produzido por este agonista em carótidas de animais sham.

Discussão

Em 1932, Chanutin e Ferris observaram que a remoção de aproximadamente 5/6 da massa renal poderia ser utilizada como modelo para induzir insuficiência renal crônica, em ratos. (Chanutin and Ferris, 1932). Em 1966, Morrison detalhou a descrição da técnica e a história dos animais no decorrer da operação, concluindo que a nefrectomia 5/6 em ratos era um modelo experimental efetivo de insuficiência renal crônica (Morrison, 1966). Foi a partir daí, que a nefrectomia 5/6 em ratos, foi utilizada como modelo experimental para mimetizar a doença renal crônica (Santos et al., 1996; Fitzgibbon et al., 1999; Chamberlain et al., 2007). O presente trabalho, utilizando o mesmo modelo, teve como objetivo estudar as conseqüências da insuficiência renal crônica na função vascular, através da reatividade vascular em artérias carótidas, após nefrectomia 5/6. A funcionalidade (reatividade) vascular foi testada para a angiotensina II, fenilefrina, KCl e acetilcolina.

A insuficiência renal crônica consiste em uma desorganização nas paredes capilares glomerulares, resultando em um aumento da permeabilidade às proteínas plasmáticas (Robbins). A parede capilar glomerular, com seu endotélio e células epiteliais viscerais, atua como barreira em termo de tamanho e carga, através da qual, deve passar o filtrado. O aumento da permeabilidade em decorrência de alterações estruturais ou físico-químicas permite a passagem de proteínas do plasma para o filtrado glomerular, resultando em proteinúria, que é uma característica de insuficiência renal crônia (Robbins).

O presente trabalho mostra através de análises bioquímicas, utilizadas para validar o modelo experimental, que os animais que passaram pelo processo cirúrgico desenvolveram insuficiência renal crônica, uma vez que foi observada redução da taxa de filtração glomerular e do clearance de creatinina, bem como o aumento do clearance de proteínas totais. Estes parâmetros são utilizados na clínica, desde 1886 (Jaffe, 1886) para análise da função renal (Hricik et al., 2002), sendo a taxa de filtração glomerular uma das

mais importantes ferramentas na análise da função renal, indicando também o número de néfrons funcionais (Sodré et al., 2007). Nossos dados confirmam aqueles previamente descritos por outros pesquisadores, no mesmo modelo (Eliahou et al., 2001; Fleck et al., 2006; Kalk et al., 2006; Chamberlain et al., 2007; Cruz et al., 2007;).

No presente estudo, foi possível observar que as características morfológicas da artéria carótida de animais nefrectomizados não foram alteradas pela nefrectomia 5/6. Em condições normais, a parede arterial é composta de três camadas morfologicamente e distintas: camadas íntimas, médias e adventícias. A camada íntima apresenta uma única camada de células endoteliais apoiada em uma camada de tecido conjuntivo frouxo. Esta camada se separa da camada média por uma lâmina elástica interna, sendo esta lâmina composta principalmente por elastina. A camada média é constituída principalmente por camadas de células de musculares lisas. Interpostas entre as células musculares lisas existem quantidades variáveis de fibras elásticas, fibras reticulares (colágeno tipo III), proteoglicanas e glicoproteínas. A camada adventícia se separa da camada média pela lâmina elástica externa e sendo a camada adventícia composta principalmente por colágeno do tipo I e fibras elásticas (Junqueria & Carneiro, 2006). Dessa maneira, os aspectos morfológicos da carótida de animais nefrectomizados são semelhantes aos observados as artérias de animais sham.

O sistema renina-angiotensina tem fundamental participação no desencadeamento e progressão da doença renal, hipertensão e doenças primárias renais (Mackenzie et al., 1994). Alteração na síntese de Ang II pode estar associada com progressivo dano ao rim (Brewster et al., 2004).

Devido à grande importância do sistema renina-angiotensina no funcionamento cardiovascular e renal, foi realizado o estudo da pressão arterial média. Os resultados mostraram que 28 dias após a nefrectomia 5/6 ocorreu um aumento da MAP através da infusão de Ang II, sendo reduzido em animais nefrectomizados, quando comparados à

observada em animais sham. Pesquisadores em 1991, 1999 e 2003 demonstraram que existe maior atividade das óxido nítrico sintases e/ou maior biodisponibilidade de óxido nítrico circulante (Buga et al., 1991; Koller et al., 1991; Valdivirlson et al., 1999; Erdely et al., 2003) e, Vaziri e colegas, em 2007 demonstraram maior expressão de receptores AT_2 (Vaziri et al., 2007). Assim, é factível pensar que os resultados deste trabalho possam ser decorrentes das observações prévias, comprometendo a resposta máxima da MAP, diminuindo a resposta pressora ao peptídeo exógeno.

Yuhara e colaboradores, em 1989 e Augustyniak e colaboradores, em 2002 demonstraram que a insuficiência renal crônica influencia na neurotransmissão simpática (Yuhara et al., 1989; Augustyniak et al., 2002). Após a infusão de Phe observa-se um aumento da MAP, que em animais com doença renal, esta resposta foi significativamente diminuída, comparado à dos sham. Dessa forma, pode-se sugerir que esta patologia pode estar influenciando na neurotransmissão simpática, aumentando a síntese e liberação de noradrenalina que pode estar se ligando em receptores adrenérgicos, diminuindo assim a resposta pressora após infusão deste agonista.

Os resultados de reatividade vascular do presente estudo foram analisados utilizando-se dois parâmetros: o efeito máximo (Emax), induzido pelo agonista e a potência (pD_2, -log EC_{50}), obtidos por regressão não linear de curvas concentração-efeito (Kenakin, 1997). Alterações nos valores de Emax e pD_2 podem ser decorrentes de diferentes fatores, tais como: alterações na densidade de receptores, na afinidade do agonista pelo receptor, no acesso da droga ao receptor (solubilidade do agonista, condições iônicas do líquido nutriente e pH), ou da musculatura lisa vascular e de mecanismos de transdução intracelulares (Kenakin, 1997) Outro fator que influencia à análise dos efeitos promovidos pelos agonistas farmacológicos é a geração de substâncias por parte dos tecidos estudados (Kenakin, 1997). Muitas vezes essas substâncias geradas nos tecidos estabelecem interações sinérgicas ou antagônicas com

os agonistas estudados, constituindo assim, mecanismos locais moduladores das atividades vasomotoras dos agonistas farmacológicos (Kenakin, 1997). Com efeito, a atuação desses mecanismos moduladores locais pode modificar o perfil da curva concentração-efeito e, consequentemente, os parâmetros farmacológicos obtidos pela análise das curvas (Kenakin, 1997). Assim, alterações dos valores dos parâmetros de Emax e pD_2 nos fornecem indícios dos possíveis mecanismos, anteriormente citados, que poderiam estar envolvidos na alteração da reatividade vascular.

Estudos de Buga et al. e Koller et al., em 1991, mostraram que a síntese de NO e a atividade das NOS pode ser modulada por mudanças na pressão de perfusão, “shear stress” e outros fatores decorrentes da nefrectomia 5/6 (Buga et al., 1991; Koller et al., 1991).

No presente trabalho, obtivemos uma diminuição significativa do Emax produzido pela Ang II em artérias de animais com insuficiência renal crônica, comparado ao de animais sham. Este resultado sugere que a insuficiência renal crônica promove alteração do Emax da Ang II que pode ser decorrente de alterações de fatores que promovem relaxamento, como o óxido nítrico (Buga et al., 1991; Koller et al., 1991; Valdivirlson et al., 1999; Erdely et al., 2003).

Já foi descrito por Erdely e colaboradores, em 2003, que ratos Wistar, após passarem pelo processo cirúrgico para o desenvolvimento de insuficiência renal crônica (nefrectomia 5/6), apresentaram elevada síntese de óxido nítrico, bem como maior atividade das óxido nítrico sintases (Erdely et al., 2003).

Visando entender o desequilíbrio entre os fatores de contração e relaxamento dependentes do endotélio e, verificar se a diminuição do Emax da Ang II em animais nefrectomizados foi decorrente de um possível aumento na síntese de óxido nítrico e/ou maior atividade das óxido nítrico sintases, previamente mostrado por diversos pesquisadores, foram construídas curvas concentração-efeito para Ang II na presença de

L-NAME (N^G-nitro-L-arginine methyl ester), um inibidor não seletivo das óxido nítrico sintases (NOS). Na presença de L-NAME, o Emax da Ang II em artérias carótidas de animais com insuficiência renal foi restabelecido ao nível dos animais sham, confirmando a existência de elevada quantidade basal de NO e/ou maior atividade das isoformas da NOS (neuronal, induzida e endotelial), em animais que passaram pelo processo cirúrgico, comparado aos sham.

Após a nefrectomia 5/6 observa-se um aumento do “shear stress”, sugerindo que a síntese de NO está aumentada como conseqüência de mudanças das formas constitutivas (nNOS e eNOS) e da forma induzida (iNOS) (Kone et al., 1997). Foi observado um aumento na expressão das iNOS em animais nefrectomizados, comparados aos sham (Losonczy et al., 1997; Valdivielso, et al., 1999). A regulação da expressão e da atividade das iNOS na insuficiência renal é uma resposta a processos inflamatórios e ao processo de “shear stress”, que promove ativação da tirosina quinase em células endoteliais (Ayajiki et al., 1996; Corson et al., 1996) e alterações em uma dada região do gen da iNOS (Nunokawa et al., 1994).

Para verificar a participação das isoformas da NOS (nNOS, iNOS e eNOS), foram realizadas curvas concentração-efeito para Ang II na presença de inibidores para as respectivas enzimas (nNOS – 7-NI; iNOS – 1400W; eNOS – L-NNA). Os experimentos indicam que na presença destes inibidores das NOS, o Emax produzido pela Ang II tanto em artérias com quanto sem endotélio, de animais com insuficiência renal crônica, reverteu ao nível encontrado para animais sham na ausência dos inibidores, indicando que a doença renal parece promover alterações na atividade e/ou expressão das três isoformas da NOS, acarretando em maior síntese de óxido nítrico intracelular. Estes dados corroboram mais uma vez com os encontrados por Erdely e colaboradores, em 2003. Contudo, é importante avaliar a seletividade desses inibidores para cada isoforma da NOS, de modo que o inibidor 7-NI tem maior seletividade para nNOS, porém é capaz

de inibir as outras duas isoformas (Vallance et al., 2002). Da mesma forma, o L-NNA, que pode inibir as três isoformas, sendo mais seletivo para eNOS (Vallance et al., 2002). Por outro lado, o 1400W apresenta-se mais seletivo que os demais, tendo preferência pela iNOS (Vallance et al., 2002).

No presente trabalho foi verificado a participação da COX-1 na diminuição da resposta contrátil da Ang II em carótidas, após a nefrectomia 5/6, através do inibidor SC-560. Os resultados mostram que na presença de SC-560, a resposta máxima da Ang II em carótidas de animais com insuficiência renal foi restabelecida ao nível dos sham, sugerindo que existe a participação da enzima na redução do Emax da Ang II, em artérias de animais nefrectomizados.

Foi descrito por Gonçalves, et al., 2003 e Vaziri et al., 2007 que a doença renal crônica promove uma superexpressão de COX-2 no rim remanescente, após a nefrectomia 5/6. A participação de prostanóides na resposta contrátil de carótidas de animais em estudo foi analisada utilizando SC-236 (inibidor da ciclooxigenase 2 – COX-2, principal enzima produtora de prostanóides, em condições inflamatórias). No presente estudo, observa-se que na presença do inibidor seletivo para COX-2 ocorre redução significativa do Emax produzido pela Ang II em artérias carótidas de animais sham, na presença e na ausência de endotélio, pré-incubadas com SC-236. Este resultado não foi semelhante em carótidas de animais nefrectomizados. Isso nos leva a pensar que a doença renal crônica pode estar relacionada com um estado de equilíbrio na expressão de COX-2, tendo em vista esta superexpressão da enzima no rim remanescente, pelo processo inflamatório pós cirúrgico.

Utilizando losartan, um antagonista de receptores $AT_{1,}$ foi possível constatar sua influência no efeito máximo produzido pela Ang II em artérias de ratos nefrectomizados. A pré-incubação das carótidas de animais com insuficiência renal com o antagonista não alterou a resposta da Ang II previamente encontrada. Por outro lado, o Emax da Ang II em

artérias de animais sham foi significativamente diminuído, indicando que receptores AT_1 não participam de maneira direta no processo contrátil da Ang II, em carótidas de animais nefrectomizados.

O papel funcional dos receptores AT_2 não está bem definido (Ardaillou, 1999), entretanto esse receptor pode exercer efeitos vasodilatadores e anti-hipertensivos, pela ativação de fosfolipases, canais de potássio e produção de bradicinina e NO, bem como a inibição de canais de cálcio (Schulman et al., 2008). No modelo de insuficiência renal observa-se que receptores AT_2 participam da redução da resposta máxima da Ang II em carótidas após a nefrectomia 5/6. O antagonista PD123319 foi capaz de aumentar de maneira significativa o Emax da Ang II de carótidas com endotélio de animais com doença renal, comparado ao das carótidas na ausência de PD123319.

Na tentativa de observar a participação do óxido nítrico e dos receptores AT_2 na alteração do efeito máximo induzido pela Ang II, foram construídas curvas concentração efeito para este agonista na presença de PD123319 e L-NAME. Os resultados nos indicam que o óxido nítrico, bem como os receptores AT_2 participam de maneira direta da diminuição do Emax desencadeado pela Ang II em carótidas de animais nefrectomizados, uma vez que o antagonista AT_2 (PD123319) e o inibidor inespecífico das óxido nítrico sintases (L-NAME), foi capaz de aumentar de maneira significativa o Emax da Ang II em animais com insuficiência renal crônica, sendo semelhante ao desencadeado em artérias de animais sham.

Tem sido descrito que curvas para KCl avaliam a função contrátil da musculatura lisa vascular (Brizzolara et al., 1994; English et al., 2000). Os resultados obtidos no presente estudo revelam que a remoção endotelial aumentou o Emax da Phe e do KCl em carótidas do grupo sham, em relação à presença de endotélio. No grupo nefrectomizado, a remoção endotelial não alterou significativamente o Emax dos agonistas, em relação à presença de endotélio. Estes dados encontrados no presente estudo podem sugerir um

comprometimento da capacidade contrátil em carótida de animais com insuficiência renal crônica, bem como a perda da modulação inibitória do endotélio sobre a vasoconstrição induzida por Phe e KCl.

A integridade endotelial na artéria dos animais nefrectomizados está preservada, pois o relaxamento desencadeado pela Ach foi semelhante tanto em artérias de animais sham, quanto em artérias de animais com insuficiência renal crônica. Esse dado foi confirmado pela análise morfológica dessas artérias que demonstraram similaridade morfológica entre os grupos em estudo.

A participação do endotélio como modulador do tônus vascular é muito bem conhecida. Agindo como liberador de fatores de relaxamento (NO, fator hiperpolarizante derivado do endotélio e prostaciclinas) e fatores de contração (endoperóxidos, trobomxana A_2 e endotelinas) sob condições basais e quando estimulado por substâncias vasoativas ou estímulos físicos (Luscher et al., 1993). Um desequilíbrio entre a liberação dos fatores de relaxamento e de contração liberados pelo endotélio resulta em alteração na modulação do tônus vascular (Luscher, et al., 1990).

Em síntese, a principal conclusão do presente estudo é mostrar que o efeito máximo da Ang II em carótidas de animais com doença renal parece estar diminuído em decorrência da elevada síntese basal de NO e/ou maior atividade das óxido nítrico sintases, além da participação da enzima ciclooxigenase-1 e receptores AT_2.

Referências Bibliográficas

Adams P.L., Adams P.F., Bell P.D., Navar L.G.. Impaired renal blood flow autoregulation in ischemic acute renal failure. *Kidney Int.* 18: 68-76, 1980.

Anderson S., Meyer T.W., Rennke H.G., Brenner B.M.. Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J. Clin. Invest.* 76: 612–619, 1985.

Annuk M., Zilmer M., Fellstrom B.. Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stress in chronic renal failure: Impact on cardiovascular disease. *Kidney Int. Suppl* 84: S50–S53, 2003.

Ardaillou R.. Angiotensin II receptors. *J. Am. Soc. Nephrol.;*10: S30-S9, 1999.

Arima S., Ito S.. New insights into actions of the renin-angiotensin system in the kidney: concentrating on the Ang II receptors and the newly described Ang-(1-7) and its receptor. *Semin. Nephrol*. 21:535-43, 2001.

Augustyniak R.A., Tuncel M., Zhang W., Toto R.D. Victor R.G.. Sympathetic overactivity as a cause of hypertension in chronic renal failure. *J. of Hypertension.* 20: 3-9, 2002.

Ayajiki K., Kindermann M., Hecker M., Fleming I., Busse R.. Intracellular pH and tyrosine phosphorylation but not calcium determine shear stress induced nitric oxide production in native endothelial cells. *Circ. Res.* 78:750-758, 1996.

Barros E., Manfro R.C., Thomé F.S., Gonçalves L.F.S.. Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento. Porto Alegre, ARTMED; p. 40, 1999.

Bastos G.M., Carmo W.B., Abrita R.R., Almeida E.C., Mafra D., Costa D.M.N., Gonçalves J.A., Oliveira L.A., Santos F.R., Paula R.B.. Doença renal crônica: problemas e soluções. *J. Brás. Nephrol.* 26(4): 202-215, 2004.

Brenner B.M., Garcia D.L., Anderson S.. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *Am. J. Hypertens.* 14: 335-347, 1988.

Brewster U.C., Perazella M.A.. The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: effects on kidney disease. *Am. J. Med.* 116 (4): 263-272, Feb 15 2004.

Brizzolara, A.L., Stewart-Lee, A., Burnstock, G.. Responses of rabbit basilar arteries to vasoconstrictor and vasodilator agents: The effects of atherosclerosis, age and sex. *J. Vasc. Res.* 31, p. 106-113, 1994.

Brown G.M., Maegraith B.G.. Characteristics of the circulation of hypertensive rabbits. *J. Physiol. (Lond).* 99: 304-311, 1941.

Buga G.M., Gold M. E., Fukutto J.M., Ignarro L.J.. Shear stress induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 17:187-193, 1991.

Burrel l.L.M., Johnston C.I., Tikellis C., Cooper M.E.. ACE_2, a new regulator of the renin-angiotensin system. *Endocrinology and Metabolism* 15:166-9, 2004.

Canziani M. E. F.. Doenças cardiovasculares na doença renal crônica. *J. Brás. Nefrol*. vol XXVI - nº 3 - Supl. 1 - Agosto de 2004.

Carey R.M., Wang Z.Q., Siragy H.M.. Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function. *Hypertension* 35:155-63, 2000.

Cattai, G.B.P., Rocha F.A., Nardo N.J., Pimentel G.G.A.. Qualidde de vida de pacientes com insuficiência renal crônica. *Cienc. Cuid. Saúde*. 6 Supl. 2: 460-467, 2007.

Celermajer D.. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible?. *J Am. Coll. Cardiol.* 30. 325–333, 1997.

Chamberlain R.M., Shirley D.G.. Time course of the renal function response to partial nephrectomy: measurements in conscious rats. *Exp. Physiol.* 92.1 p. 251-262, 2007.

Chanutin A., Ferris E.B.. Experimental renal insufficiency produced by partial neprectomy. *Arch. Intern. Med.* 49: 767-787, 1932.

Cheung B.M.Y.. Blockade of the renin-angiotensin system. HKMJ 8:185-91, 2002.

Corson M.A., James N.L., Latta S.E., Nerem R.M., Berk B.C., Harrison D. G.. Phosphorylation of endotelial nitric oxide syntase in response to fluid shear stress. *Circ. Res.* 79:984-991, 1996.

Cotran R., ROBBINS S., KUMAR V.. Robbins Pathologic Basis os disease, 5th edition. *W.B Saunders Company*, 1994.

Crowley S.D., Gurley S.B., Herrera M.J., Ruiz P., Griffiths R., Kumar A.P., Kim H.S., Smithies O., Le T.H., Coffman T.M.. Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney. *Kidney Transplantation.* vol.103 n.° 47 p.17985-17990, 2006.

Cruz C., Rotter R.C., González D.J.S., Pando R.H., Maldonado P.D., Martinez C.M., Campos O.N.M., Tapia E., Aguilar D., Chirino Y.I., Chaverri J.P.. Renoprotective and antihypertensive effects of S-allylcysteine in 5/6 nephrectomized rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 293: F1691-F1698, 2007.

Cunha C.B., León A.C.P., Schramm J.M.A., Souza P.R.B.J., Chain R.. Time to kidney transplantation in chronic renal failure patients in the State of Rio de Janeiro, Brazil, 1998-2002. *Cad. Saúde Pública.* 23(4): 805-813, 2007.

Cusi D., Bianchi G.. The kidney in the pathogenesis of hypertension. *Semin. Nephrol.* 11(5): 523-529, 1991.

Coats P., Johnston F., MacDonald J., McMurray J.J., Hillier C.. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: identification and mechanisms of action in human subcutaneous resistance arteries. *Circulation.* 103: 1702-1708, 2001.

Danser A.H., Saris J.J., Schuijt M.P., van Kats J.P.. Is there a local renin-angiotensin system in the heart? *Cardiovasc. Res.* 44: 252–265, 1999.

Drummer C.D., Thomé F.S., Veronese F.V.. Doença renal crônica, inflamação e aterosclerose: novos conceitos de um velho problema. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 53(5): 446-50, 2007.

Dzau V.J., Pratt R.E.. Renin angiotensin system: biology, physiology and pharmacology. In: The heart and cardiovascular system. *New York: Raven Press:* 1631-62, 1986.

Dzau V.J.. Circulating versus local rennin-angiotensin system in cardiocascular homeostasis. *Circulation.* 77 (Suppl I), 1-4, 1988.

Eliahou H., Avinoach I., Shahmurov M., Ben-David A., Shahar C., Matas Z., Zimlichman R.. Renoprotective effects of angiotensin II receptor antagonists in experimental chronic renal failure. *Am. J. Nephrol.* 21: 78-83, 2001.

Engeli S., Negrel R., Sharma A.M.. Physiology and pathophysiology of the adipose tissue rennin-angiotensin system. *Hypertension.* 35: 1270-1277, 2000.

English, K.M., Jones, R.D., Jones, T.H., Morice, A.H., Channer, K.S.. Aging reduces the responsiveness of coronary arteries from male wistar rats to the vasodilatory action of the testosterone. *Clin. Sci. (Lond).,* 99, p. 77-82, 2000.

Erdely A., Wagner L., Muller V., Szabo A., Baylis C.. Protection of wistar furth rats from chronic renal disease is associated with maintained renal nitric oxide synthase. *J. Am. Soc. Nephrol.* 14: 2526–2533, 2003.

Ferreira Filho S.R., Santos P.S., Mendes E.V., Lima H.V.. Renal function and proteinuria before and after kidney donation . *J. Bras. Nefrol.* vol XXVIII nº 4, 2006.

Fitzgibbon W.R., Greene E.L., Grewal J.S., Hutchison F.N., Self S.E., Latten S.Y., Ullian M.E.. Resistance to remnant nephropathy in the wistar-furth rat. *J. Am. Soc. Nephrol.* 10: 814–821, 1999.

Flech C., Appenroth D., Jonas A., Koch M., Kundt G., Nizze H., Stein G.. Suitability of 5/6 nepfrectomy (5/6NX) for the induction of intertitial renal fibrosis in rats – Influence of sex, strain, and surgical procedure. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 57 p. 195-205, 2006.

Fliser D., Pacini G., Engelleiter R., Kautzky-Willer A., Prager R., Franek E., Ritz E.. Insulin resistance and hyperinsulinemia are already present in patients with incipient renal disease. *Kidney Int.* 53: 1343–1347, 1998.

Foley R.N., Parfrey P.S., Sarnak M.J.. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 32 (Suppl 3): S112-9, 1998.

Fujimaki M., Rosa O.P.S., Torres S.A.. Cariogenic microorganisms in patients with chronic renal failure under dialysis. *Rev. Odonto Univ. São Paulo.* 12 (2): 149-58, 1998.

Fukuda D., Sata M.. Renin-angiotensin system in atherosclerosis. *Nippon Rinsho.* Apr; 64(4): 805-9, 2006.

Furchgott R.F.& Bursztyn P. Comparison of dissociation constants and of relative of selected agonists acting on parasympathetic receptors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.,* vol. 139, p. 882-899,1967.

Gensini G.F., Comegilo M., Colella A.. Classical risk factors and emerging elements in the risk profile for coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 19, A53–A61, 1998.

Goldblatt H., Lynch J., Hanzel R.F., Summerville W.W.. *J. Exp. Méd*. 59: 347-379, 1934.

Goldenberg M., Pines K.L, Baldwin E.D. Greene D.G., Roch C.E.. The hemodynamic response of man to norepinephrine and epinephrine and its relation to the problem of hypertension. *Am. J. Med.* 5: 792: 806, 1948.

Gonçalves, A.R.R., Fujihara, C.K., Malheiros, D.M.A.C., Noronha, I.L., De Nucci, G., Zatz, R.. Renal expressin of COX-2, Ang II, and AT_1 receptor in remmant kidney: strong renoprotection by therapy with losartan and a nonsteroidal anti-ingflammatory. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 286: p. 945-54, 2004.

Guyton A.C., Coleman T.G., Cowley A.V.Jr., Scheel K.W., Manning R.D. Jr., Norman R.A.Jr.. Arterial pressure regulation. Overriding dominange of the kidneys in long-term regulation and in hypertension. *Am. J. Med.* 525: 584-594, 1972.

Haktanir A., Demir S., Acar M., Ucok K., Albayrak R., Aylin Yucel, Gokce C.. Doppler sonographic evaluation of cerebral blood flow in a anemia resulting from chronic renal failure. *J. Ultrasound. Med.* 24:947–952, 2005.

Hostetter T.H., Rosenberg M.E., Ibrahim H.N., Juknevicius I.. Aldosterone in renal disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 10: 105-110, 2001.

Hricik D.E., Sedor J.R., Ganz M.B.. Segredos em nefrologia: respostas necessárias ao dia a dia, em rounds, na clínica, em exames orais e escritos. *Porto Alegre: Artmed Editora.* 2002.

Huysmans K., Lins R., Daelemans R. *et al..* Hypertension and accelerated atherogenesis in endstage renal disease. *J. Nephrol.* 11. 185–195, 1998.

Inagami T.. Amemorial to Robert Tiegerstedt - the centennial of rennin discovery. *Hypertension* 32: 953-7, 1998.

Jacobson H.R.. Chronic renal failure: pathophysiology. *Lancet.* 338: 419-423, 1991.

Jaffe M.Z.. Methodos determining creatinine. *Physiol. Chem.* vol. 10 p. 39-40, 1886.

Junqueria & Carneiro, 2006.

Kalk, P., Godes, M., Relle, K., Rothkegel, C., Hucke, A., Stasch & Peter, J., Hocher, B.. NO-independent activation of soluble guanylate cyclase prevents disease progression in rat with 5/6 nephrectomy. *Brit. J. of Pharmacol*. 148, p. 853-859, 2006.

Kelleher S.P., Robinette J.B., Miller F., Conger J.D.. Effect of hemorrhagic reduction in blood pressure on recovery from acute renal failure. *Kidney Int.* 31: 725-730, 1987.

Kenakin, T.P.. Pharmacologic analysis of drug-receptor interation. *Efficacy Lippincott-Raven*, ed, 3, p. 289-330, 1997.

Klag M.J., Whelton P.K., Randall B.L.. Blood pressure and end-stage renal disease in men. *N. Engl. J. Med.* 3341: 13-18, 1996.

Koller A., Kalley G.. Endothelial regulation of wall shear stress and blood flow in skeletal muscle microcirculation. *Am. J. Physiol.* 260 *(Heart Circ. Physiol.* 29): H862-H868, 1991.

Konne B.C., Bayliss C.. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am. J. Physiol.* 272 *(Renal Fluid Electrolyte Physiol.* 41): F651-678, 1997.

Kronenberg F., Kuen E., Ritz E., Junker R., Konig P., Kraatz G., Lhotta K., Mann J.F., Muller G.A., Neyer U., Riegel W., Reigler P., Schwenger V., Von Eckardstein A.. Lipoprotein(a) serum concentrations and apolipoprotein(a) phenotypes in mild and moderate renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 11: 105–115, 2000.

Langendorf R., Pirani C.L.. The heart in uremia. An electrocardiographic and pathology study. *Am. Heart J.* 28: 282-307, 1945.

Lewis E.J., Hunsicker L.G., Bain R.P., Rohde R.D.. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *N. Engl. J. Med.* 329: 1456–1462, 1993.

Lima V.C.. Coronary artery disease and chronic kidney disease. Rev. Soc. Cardiol. 17(1): 40-49, 2007.

Lonn E.M., Yusuf S., Jha P., Montague T.J., Teo K.K., Benedict C.R., Pitt B.. *Circulation.* 90: 2056-2069, 1994.

Losonczy G., Bloch J.F., Samsell L., Schoenl M., Venutto R., Bayliss C.. Impact of surgery on nitric oxide in rats: evidence for activation of inducible nitric oxide syntase. *Kidney Int.* 51: 1943-1949, 1997.

Luscher, T.F.. The endoletium as a target and mediator of cardiovascular disease. *Eur. J. Invest*. vol. 23, p. 670-85, 1993.

Luscher, T.F., Richard, V., Tschudi, M., Yang, Z., Boulanger, C.. Endothelial control of vascular tone in large and small coronary arteries. *J. Am. Coll. Cardiol.* vol. 15, p. 519-27, 1990.

Mackenzie H.S., Troy J.L., Rennke H.G., Brenner B.M.. TCV 116 prevents progressive renal injury in rats with extensive renal mass ablation. *J. Hypertens. Suppl.* 12: S11–S16, 1994.

Martin P., Ali Poyan M., Reinhold K.. Physiology of local rennin-angiotensin systems. *Physiol. Rev.* 86: 747-803, 2006.

Menard J.. Anthology of the renin-angiotensin system: a one hundred reference approach to angiotensin II antagonists. *J. Hypertens.* Suppl 11:S3-11, 1993.

Morrison A.B.. Experimental chronic renal insufficiency. *Meth Achievm. Exp. Pathol.* 1: 455-475, 1966.

Murray A.M., Tupper D.E., Knopman D.S., Gilbertson D.T., Peterson S.L., Li S., Smith G.E., Hochhalter A.K., Collins A.J., Kane R.L.. Cognitive impairment in hemodialysis patients is common. *Neurology* 67, 2006.

Navar L.G., Harrison-Bernard L.M., Nishiyama A., Kobori H.. Regulation of intrarenal angiotensin II in hypertension. *Hypertension.* 239: 316-22, 2000.

Neves C.L., Custódio M.R., Neves K.R., Moysés R.M.A., Jorgetti V.. Secondary hyperparathyroidism and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *J. Bras. Nefrol*. 30(Supl 1):18-22, 2008.

Nishiyama A., Seth D.M., Navar L.G.. Renal interstitial fluid concentrations of angiotensins I and II in anesthetized rats. *Hypertension.* 39: 129–134, 2002.

Nunokawa Y., Ishida N., Tanaka S.. Promoter analysis of human inducible nitric oxide syntase gene associated with cardiovascular homeostasis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 200: 802-807, 1994.

Oikawa T., Freeman M., Lo W., Vaughan D.E., Fogo A.. Modulation of plasminogen activator inhibitor-1 in vivo: A new mechanism for the anti-fibrotic effect of renin-angiotensin inhibition. *Kidney Int.* 51: 164–72, 1999.

Olivon, V.C. Mecanismos celulares envolvidos no aumento da reatividade vascular para fenilefrina (Phe) na artéria contra-lateral após lesão por balão cateterismo. *Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos),* Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

Perico N., Benigni A., Remuzzi G.. Present and future drug treatments for chronic kidney diseases: evolving targets in renoprotection. *Nature.* vol. 7 p. 936-953, 2008.

Peters H., Border W.A., Noble N.A.. Targeting TGF-beta overexpression in renal disease: Maximizing the antifibrotic action of angiotensin II blockade. *Kidney Int.* 54: 1570–1580, 1998.

Phillips M.I., Schmidt-Ott K.M.. The discovery of renin 100 years Ago. *News Physiol. Sci.*14:271-4, 1999.

Prohovnik I., Post J., Uribarri J., Lee H., Sandu O., Langhoff E.. Cerebrovascular effects of hemodialysis in chronic kidney disease. *J. of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 27, 1861–1869, 2007.

Quan A., Boum M.. Endogenous production of angiotensin II modulates rat proximal tubule transport**.** *J. Clin. Invest.* 97: 2878–2882, 1996.

Queiroz Y., Pons H., Gordon K.L., Rincón J., Chávez M., Parra G., Herrera-Acosta J., Gómez-Garre, Largo R., Egido J., Johnson R.J., Rodríguez-Iturbe.. Mycophenolate

mofetil prevents salt-sensitive hypertension resulting from nitric oxide synthesis inhibition. *Am. J. Physiol.* 281: F38–F47, 2001.

Rigatto K.V., Bohlke M., Irigoyen M. C.. Sistema renina angiotensina: da fisiologia ao tratamento. *Rev. Soc. De Cardiol. Do Rio Grande do Sul.* Ano XIII n.º 3, 2004.

Robbins, Patologia.

Rubin E., Farber J.C.. Patologia, 1ª edição. *Inter livros,* 1990.

Ross R.. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature.* 362 801–809, 1993.

Santos F., Cobo A., Orejas G., Martinez V., Rey C., Málaga S., Crespo M.. Analysis of growth in five-sixths nephrectomized rats. *Miner Electrolyte Metab.* 22: 83-87, 1996.

Santos R.A., Campagnole-Santos M.J., Andrade S.P.. Angiotensin (1-7): un update. *Regul. Pept.* 91:45-62, 2000.

Sasamura H., Hein L., Krieger J.E., Pratt R.E., Kobilka B.K., Dzau V.J.. Cloning, characterization and expression of two angiotensin receptor (AT_1) isoforms from the mouse genome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 185: 253-259, 1992.

Schulman I.H., Raij L.. The angiotensin II type 2 receptor: what is its clinical significance? *Current Hypertension Report.* 10: 188-193, 2008.

Serrano, C. V. Jr., Cecotti H. C., Uehara T. M., Leite R., Costa M. C.. Acute coronary syndrome and chronic kidney disease. *Ver. Bras. Hipertens.* vol. 15(3): 147-151, 2008.

Sesso R. and Gordan P.. Available data on chronic kidney disease in Brazil. *J. Bras. Nefrol.* vol. XXIX n.° 1 – Supl. 1, 2007.

Skinner H., Mackaness C., Bedforth N., Mahajan R.. Cerebral haemodynamics in patients with chronic renal failure: effects of haemodialysis. *British Journal of Anaesthesia.* 94 (2): 203-5, 2005.

Sodré F.L., Costa J.C.B., Lima J.C.C.. Evaluation of renal function and damage: a laboratorial challenge. *J. Bras. Med. Lab.* vol. 43 n.° 5 p. 329-337, 2007.

Stefanski A., Schmidt K.G., Waldherr R., Ritz E.. Early increase in blood pressure and diastolic left ventricular malfunction in patients with glomerulonephritis. *Kidney Int.* 50: 1321–1326, 1996.

Szprynger K., Kwiecinki J., Szczepanska M., Pierzchala K.. Evaluation of cerebrovascular reactivity with chronic renal failure in children. *Pediatr. Nephrol.* 14: 993-996, 2000.

Tamura K., Umemura S., Fukamizu A., Ishii M., Murakami K.. Recent advances in the study of renin and angiotensinogen genes: from molecules to the whole body. *Hypertens. Res.*18:7-18, 1995.

Tigerstedt R., Berergman P.. *Skand. Arch. Physiol.* 8: 223-271, 1898.

Vallance P., Leiper J.. Blocking no synthesis: how, where and why? *Nature Reviews*. vol. 1 p. 939-950, 2002.

Valdivielso J.M., Barriocanal F.P., Estan J.G., Novoa J.M.L.. Role of nitric oxide in the early renal hemodynamic response after unilateral nephrectomy. *Am. J. Physiol.* vol. 276 p. 1718-1723, 1999.

Vaziri N.D., Bai Y., Ni Z., Queiroz Y., Pandian, R., Rodrigues-Iturbe, B.. Intra-Renal angiotensin II/AT_1 receptor, oxidative stress, inflammation, and progressive injury in renal mass reduction. *The J. of Pharmacol.* And *Exp. Therap.* vol. 323 (1), p.85-93, 2007.

Vianna R.K., Böhlke M., Irigoyen M.C.. Sistema renina angiotensina: da fisiologia ao tratamento. Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul - Ano XIII nº 03 Set-Dez 2004.

Warnock D.G.. Prevention, protection, and the intrarenal renin-angiotensin systems. *Semin. Nephrol.* 21: 593–602, 2001.

Weidmann P., Schneider M., Bohlen L.. Therapeutic efficacy of different antihypertensive drugs in human diabetic nephropathy: An updated meta-analysis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 10 [Suppl 9]: 39–45, 1995.

Wolf G., Haberstroh U., Neilson E.G.. Angiotensin II stimulates the proliferation and biosynthesis of type I collagen in cultured murine mesangial cells. *Am. J. Pathol.* 140: 95–107, 1992.

Wu L.L., Cox A., Roe C.J., Dziadek M., Cooper M.E., Gilbert R.E.. Transforming growth factor beta1 and renal injury following subtotal nephrectomy in the rat: Role of the renin-angiotensin system. *Kidney Int.* 51: 1553–1567, 1997.

Yuhara M., Ikeda T., Toya Y., Sakurai J., Gomi T., Ikeda T.. Participation of the sympathetic nervous system in hypertension in rats with subtotal renal ablation. *J. of Hypertension.* 7: 443-446; 1989.

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