



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CONTROLE BARORREFLEXO DA FUNÇÃO AUTONÔMICA NA
HIPERTENSÃO ARTERIAL INDUZIDA POR L-NAME

FERNANDA MACHADO DOS SANTOS

Ribeirão Preto- SP

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

FERNANDA MACHADO DOS SANTOS

**CONTROLE BARORREFLEXO DA FUNÇÃO AUTÔNOMICA NA
HIPERTENSÃO ARTERIAL INDUZIDA POR L-NAME**

Dissertação apresentada ao Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Helio C. Salgado

Ribeirão Preto- SP

2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fernanda Machado dos Santos

CONTROLE BARORREFLEXO DA FUNÇÃO AUTONÔMICA NA
HIPERTENSÃO ARTERIAL INDUZIDA POR L-NAME

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto - USP, como
parte das exigências para obtenção do grau
de Mestre em Ciências Biológicas – área de
concentração em Fisiologia.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Sérgio e Clara, e à minha avó Teresinha (in memoriam), meus maiores exemplos de trabalho, educação e persistência.

Agradecimentos

- ❖ Ao professor Hélio, pela disponibilidade na orientação do meu mestrado;
- ❖ Aos técnicos do laboratório, Jaci, Mauro e Leni, pela atenção nos momentos que precisei;
- ❖ Ao técnico Carlos Alberto (“Big Beto”), pelo companheirismo durante todo meu mestrado;
- ❖ À técnica do laboratório de Metabolismo, Maria Antonieta, pelos poucos, mas prazerosos momentos de convivência;
- ❖ Aos amigos do laboratório: Domitila, Fernanda Rodrigues, Gabriela, Giulliana, João Paulo, Marina, Renata, Ricardo e Valter (Valtão), pelas dúvidas sanadas, e pelo companheirismo.
- ❖ Aos amigos do departamento: Augusto, André, Carlos Eduardo (Cadu), Fabiana, Bruno, Eduardo Lira, Dawit, Glauber, Marcelo e Roberta Kwiatkoski, Érica, João Henrique, Liz, Daniel Zoccal, Ernani, Flávia, Danúbia, Silvia, Tatiane, Rafael, Nádia, Lígia, Miriam, e os demais amigos do departamento;
- ❖ Às amigas: Ana Paula, Renata Rodrigues, Michelle Tenório, e minha cunhada Thaís, que mesmo indiretamente, foram imprescindíveis nesta etapa.

Agradecimentos especiais

- ❖ Aos meus pais, mestres natos, pela confiança sempre depositada em mim;
- ❖ Aos meus irmãos, Serginho e Lorena, pelo apoio em todos os momentos;
- ❖ A Ricardo, pela paciência, compreensão e companheirismo;
- ❖ Ao professor Rubens Fazan, pelas sábias palavras e pelos ensinamentos dedicados durante meu mestrado;
- ❖ Ao meu amigo, Daniel Penteado, pela dedicação à análise espectral dos meus dados, bem como pelas conversas sempre alegres e construtivas;
- ❖ A Deus, no qual sempre depus minha fé sem duvidar do tamanho ou da forma que ele é...

Lista de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1- Via L-arginina - NO sintase- NO - Guanilato ciclase -GMP cíclico- fosfodiesterase- 5' GMP..... | 27 |
| Figura 2- Eletrodo e estruturas anatômicas envolvidas no registro da ANSR. (A) Eletrodo bipolar de aço inoxidável. (B) Visão panorâmica da abordagem por meio da laparotomia mediana. (C) Relação anatômica entre veia renal, artéria renal e nervo renal. (D) Relação anatômica entre veia renal, artéria renal e nervo renal posicionado sobre o eletrodo..... | 43 |
| Figura 3- Protocolo experimental 1: Caracterização hemodinâmica do modelo de hipertensão L-NAME, estudo da variabilidade da PA e da FC, e dosagem de noradrenalina renal..... | 47 |
| Figura 4- Protocolo experimental 2: Registro da ANSR e barorreflexo..... | 48 |
| Figura 5- Registro da pressão arterial pulsátil (PAP, painel superior) e atividade do nervo simpático renal (ANSR, painel inferior) de um rato representativo do grupo normotenso..... | 50 |
| Figura 6- Registro típico da pressão arterial pulsátil (PAP) e da atividade do nervo simpático renal (ANSR), no período basal e após administração de fenilefrina (FE, painel esquerdo) e nitroprussiato de sódio (NPS, painel direito)..... | 52 |
| Figura 7- Correlação entre pressão arterial média (PAM) e atividade do nervo simpático renal (ANSR). No painel superior está representada a regressão sigmoidal calculada a partir da curva de PAM versus ANSR. Em destaque encontra-se a 1ª derivada da regressão sigmoidal, a qual representa o ganho da curva. No gráfico inferior está representada a 3ª derivada da regressão sigmoidal, utilizada para localizar os pontos de inflexão máximos, representando a PAM_{sat} e a PAM_{lim} | 53 |
| Figura 8: Representação esquemática da segmentação das séries temporais (Protocolo de Welch) para análise espectral da frequência cardíaca..... | 56 |

| | |
|--|----|
| Figura 9- Espectro representativo da frequência cardíaca de um rato Wistar normotenso em condições basais. As bandas de baixa e alta frequência (LF e HF) do espectro estão representadas nas cores cinza e preto, respectivamente..... | 57 |
| Figura 10- Pressão arterial sistólica (PAS) pelo método de medida na cauda de ratos acordados, normotensos (n=7) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=7). * p<0,05 em relação ao dia zero (antes do tratamento)..... | 62 |
| Figura 11- Pressão arterial sistólica (PAS) pelo método de medida na cauda de ratos acordados, normotensos (n=7) e hipertensos L-NAME 14 dias (n=7). * p<0,05 em relação ao dia zero (antes do tratamento)..... | 64 |
| Figura 12- Pressão arterial média (PAM) de ratos acordados, normotensos (n=21) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=14) e 14 dias (n=9). * p< 0,05 comparado aos normotensos..... | 66 |
| Figura 13- Frequência cardíaca (FC) de ratos acordados, normotensos (n=21) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=14) e 14 dias (n=9)..... | 67 |
| Figura 14- Variância do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7)..... | 69 |
| Figura 15- Variância da pressão arterial sistólica (PAS) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7)..... | 70 |
| Figura 16- Potência da banda de baixa frequência (LF) do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7)..... | 71 |
| Figura 17- Potência da banda de alta frequência (HF) do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=12)..... | 72 |
| Figura 18- Razão entre as potências das bandas de LF/HF do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7)..... | 73 |

| | |
|--|----|
| Figura 19- Potência da banda de baixa frequência (LF) da PAS, em valores absolutos, de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7)..... | 74 |
| Figura 20- Conteúdo de noradrenalina renal (NOR) de ratos normotensos (n=14) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=5) e 14 dias (n=9)..... | 77 |
| Figura 21- Traçados do registro da atividade do nervo simpático renal (ANSR, unidades arbitrárias) de animais representativos do grupo normotenso (painel superior), L-NAME 2 dias (painel central) e L-NAME 14 dias (painel inferior)..... | 78 |
| Figura 22- Atividade do nervo simpático renal (ANSR, % da atividade máxima) de ratos acordados, normotensos (n=7) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=7) e 14 dias (n=7)..... | 79 |
| Figura 23- Painel superior: curvas de pressão arterial média (PAM) versus atividade do nervo simpático renal (ANSR) ajustadas por regressão logística sigmoideal de 4 parâmetros. Painel inferior: parâmetros obtidos a partir das curvas: ganho, faixa, PAM_{50} , PAM_{lim} e PAM_{sat} | 80 |
| Figura 24- Ganho máximo do barorreflexo no controle da atividade do nervo simpático renal (ANSR) de ratos acordados, normotensos (n=7) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=7) e 14 dias (n=7)..... | 81 |

Lista de tabelas

Tabela 1- Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) pelo método de medida na cauda de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME, antes e 2 dias após o tratamento com água ou L-NAME.....61

Tabela 2- Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) pelo método de medida na cauda de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME, antes, 1^a semana, e 2^a semana após o tratamento com água ou L-NAME.....63

Tabela 3- Pressão arterial média (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, bpm) de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias.....65

Tabela 4- Valores absolutos das potências de baixa (LF) e de alta frequência (HF) do espectro da frequência cardíaca (FC), razão LF/HF, potência de LF da pressão arterial sistólica (PAS), e variâncias do IP e da PAS de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias.....75

Resumo

SANTOS, FM ; SALGADO, HC. CONTROLE BARORREFLEXO DA FUNÇÃO AUTONÔMICA NA HIPERTENSÃO ARTERIAL INDUZIDA POR L-NAME.

FUNDAMENTAÇÃO: Está bem estabelecido que o óxido nítrico (NO) modula a regulação neural cardiocirculatória. Todavia, o papel do NO na modulação autonômica no início e no desenvolvimento da hipertensão arterial induzida pelo bloqueio da NO sintase (NOS) com N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) requer melhor documentação. **OBJETIVO:** Estudo da função autonômica em ratos acordados com hipertensão arterial induzida pela administração de L-NAME durante 2 e 14 dias. **MÉTODOS:** Foi administrado L-NAME (70 mg kg/p.o) durante 2 ou 14 dias. Foram utilizados os seguintes protocolos experimentais: 1) Caracterização hemodinâmica, estudo da variabilidade da PA e da FC, no domínio do tempo e da frequência, e dosagem de noradrenalina renal; 2) Registro da atividade do nervo simpático renal (ANSR) e estudo do barorreflexo. Os registros dos parâmetros hemodinâmicos foram realizados com os animais acordados, previamente canulados na artéria e veia femorais, e implantado com eletrodo para registro da ANSR quando exigido pelo protocolo experimental. **RESULTADOS:** Os ratos normotensos (n=21) apresentaram PAM e FC, respectivamente, de 111 ± 3 mmHg e 384 ± 7 bpm. Os ratos hipertensos L-NAME 2 dias (n=14) apresentaram valores de 139 ± 2 mmHg e 391 ± 16 bpm, enquanto os hipertensos L-NAME 14 dias (n=9) apresentaram valores de 147 ± 4 mmHg e 376 ± 14 bpm. O balanço simpato-vagal para o coração não foi diferente entre os grupos estudados, porém houve um aumento da variabilidade, no domínio do tempo (variância), da pressão arterial sistólica (PAS) no grupo hipertenso L-NAME 14 dias (28 ± 5

mmHg²), em comparação ao grupo hipertenso L-NAME 2 dias (22 ± 2 mmHg²) e ao normotenso (16 ± 2 mmHg²) . O conteúdo de noradrenalina renal não foi diferente entre os grupos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias e o grupo normotenso (106 ± 12 ng/g, 110 ± 10 ng/g versus 125 ± 9 ng/g). Observou-se adaptação do barorreflexo (deslocamento da curva PAM vs ANSR à direita) no controle da ANSR nos grupos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias, com diminuição da sensibilidade somente no grupo hipertenso L-NAME 14 dias (-1.9 mmHg²/Hz), em comparação ao grupo hipertenso L-NAME 2 dias (-2.8 mmHg²/Hz) e ao grupo normotenso (-3.3 mmHg²/Hz). A ANSR (em % da atividade máxima) não diferiu entre os grupos hipertensos L-NAME 2 dias (40 ± 4 %) e 14 dias (40 ± 5 %), e o grupo normotenso (43 ± 5 %). CONCLUSÃO: Os resultados obtidos em ratos acordados indicam que a hipertensão arterial induzida por L-NAME durante 2 e 14 dias não apresenta hiperatividade simpática, está associada à adaptação do barorreflexo aos níveis de hipertensão com diminuição da sua sensibilidade. Além disso, a hipertensão L-NAME mantém íntegra a modulação simpato-vagal cardíaca, porém apresenta um aumento da variabilidade da PAS 14 dias após o tratamento.

Abstract

SANTOS, FM ; SALGADO, HC. BAROREFLEX CONTROL OF AUTONOMIC FUNCTION IN HYPERTENSION INDUCED BY L-NAME.

BACKGROUND: It is well established that nitric oxide (NO) modulates the neural cardiocirculatory regulation. However, the role played by NO in the autonomic modulation in the onset and development of arterial hypertension induced by blockade of NO synthase (NOS) with N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) requires better documentation. **OBJECTIVE:** To exam the autonomic function in conscious rats with arterial hypertension induced by administration of L-NAME during 2 or 14 days. **METHODS:** L-NAME (70 mg/kg, p.o) was administered during 2 or 14 days. The following experimental protocols were carried out: 1) Hemodynamics characterization and exam of arterial pressure (AP) and heart rate (HR) variability in the time and frequency domain, followed by measurement of renal norepinephrine; 2) Recording of renal sympathetic nerve activity (RSNA) and the study of baroreflex. Recordings of the hemodynamic parameters were performed in conscious animals, previously equipped with arterial and venous catheters into the femoral artery and vein, and implanted with electrodes for recording the RSNA when required by the experimental protocol. **RESULTS:** Normotensive rats (n = 21) showed mean arterial pressure (MAP) and HR of 111 ± 3 mmHg and 384 ± 7 bpm. L-NAME hypertensive rats treated during 2 days (n = 14) showed 139 ± 2 mmHg and 391 ± 16 bpm, while the L-NAME hypertensive rats treated during 14 days (n = 9) showed 147 ± 4 mmHg and 376 ± 14 bpm. The sympathetic-vagal balance to the heart was not different between groups, but there was an increased variability in the time domain (variance) of systolic blood pressure (SBP) in L-

NAME hypertensive rats treated during 14 days (28 ± 5 mmHg²), as compared to L-NAME hypertensive rats treated during 2 days (22 ± 2 mmHg²) and normotensive rats (16 ± 2 mmHg²). The renal content of norepinephrine was not different between L-NAME hypertensive rats treated during 2 and 14 days and the normotensive rats (106 ± 12 ng / g, 110 ± 10 ng / g versus 125 ± 9 ng / g). Resetting of the reflex control of RSNA (displacement of the MAP vs RSNA curve to the right) was observed in L-NAME hypertensive rats treated during 2 and 14 days, with decreased sensitivity only in L-NAME hypertensive rats treated during 14 days (-1.9 mmHg²/Hz), as compared to L-NAME hypertensive rats treated during 2 days (-2.8 mmHg²/Hz) and the normotensive rats (-3.3 mmHg²/Hz). The RSNA (% of maximum activity) did not differ among L-NAME hypertensive rats treated during 2 days ($40 \pm 4\%$) and 14 days ($40 \pm 5\%$), as well as normotensive rats ($43 \pm 5\%$). CONCLUSION: The results obtained in conscious rats suggest that arterial hypertension induced by the treatment with L-NAME during 2 and 14 days shows no sympathetic hyperactivity, is associated with the resetting of the reflex control of RSNA to the hypertensive levels, combined with reduction of the baroreflex sensitivity. In addition, the L-NAME hypertensive rats exhibited normal sympathetic - vagal cardiac modulation after 2 or 14 days of treatment, but shows an increased variability of SBP 14 days after treatment.

Índice

ÍNDICE

| | |
|---|------------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 23 |
| 2. OBJETIVOS | 36 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 38 |
| 4. RESULTADOS..... | 59 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 82 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 96 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 98 |
| 8. APÊNDICE..... | 110 |

Introdução

1.0 INTRODUÇÃO

Óxido nítrico e o sistema cardiovascular

Mecanismos neurais desempenham um papel apreciável na regulação da pressão arterial (PA) e da função cardiovascular em seres humanos e em diversos modelos de experimentação animal (Krieger e cols., 1982; Abboud e cols., 1983; Chapleau e Abboud 2001; Ma e cols., 2003). O sistema nervoso central modula a atividade eferente autonômica para o coração e vasos sanguíneos por meio de vários reflexos, determinando a homeostase cardiocirculatória. O barorreflexo arterial é o principal responsável pela manutenção da PA, momento a momento, em níveis normais (Krieger e cols., 1982).

Desde a descoberta de que o óxido nítrico (NO) não é apenas um regulador do tônus da musculatura lisa vascular (Furchgott e Zawadzki, 1980), mas também um neuromodulador do sistema nervoso central e periférico, já está bem estabelecido que as ações cardiovasculares deste gás não estão relacionadas, somente, com seus efeitos diretos nos vasos sanguíneos, mas também, aos seus efeitos sobre estruturas neurais que contribuem para a geração da atividade autonômica no sistema nervoso central e periférico (Matsumura e cols., 1998; Kagiya e cols., 1997; Zanzinger, 1999). Murad e cols. (1994) mostraram que o NO pode iniciar seus efeitos biológicos por meio da ativação da enzima guanilato ciclase solúvel, ou mediando diversas reações biológicas, constituindo-se, portanto, um neuromodulador endógeno.

O óxido nítrico derivado do endotélio é considerado um agente vasodilatador importante na regulação da pressão arterial (Liu e cols., 1998;

Augustyniak e cols., 2005). Há evidências de que o NO também atue como um neuromodulador no controle da PA e da frequência cardíaca (FC) (Liu e cols. 1998). Estudos mostraram que o bloqueio agudo da produção de NO aumenta a PA, a resistência vascular periférica, e provoca alterações na função ventricular e na complacência da aorta (Hu e cols. 1997). A inibição prolongada da síntese de NO também eleva a PA, e provoca alterações de estruturas cardiovasculares, como por exemplo, o espessamento da artéria mesentérica (Zhao e cols., 1999); hipertrofia cardíaca (Wang e cols., 2005) e lesões escleróticas no leito renal (Baylis e cols., 1992).

Cadeia óxido nítrico- GMPc -fosfodiesterases

O NO é um gás, o qual é liberado quando a L-arginina é convertida a L-citrulina pela enzima NO sintase (NOS) (Palmer e cols., 1988), (Figura 1). Existem quatro isoformas conhecidas de NOS responsáveis pela produção de óxido nítrico, a NOS neuronal (nNOS), a NOS induzível (iNOS), a NOS endotelial (eNOS), e a NOS mitocondrial (mNOS) (Elfering e cols, 2002). O NO ativa a enzima guanilato ciclase, a qual, por sua vez, catalisa a síntese do GMP cíclico (GMPc), um segundo mensageiro, o qual afeta a função de canais iônicos das membranas celulares, das fosfodiesterases, e de proteínas quinases dependentes de GMPc, modulando, subseqüentemente, as funções celulares, incluindo a transcrição gênica (Krukoff, 1999). A ação vasodilatadora do óxido nítrico decorre da ativação da guanilato ciclase, cuja função é transformar o GTP em GMP cíclico; esse por sua vez é capaz de

promover o relaxamento das fibras musculares lisas dos vasos, e, conseqüentemente, induzir vasodilatação (Randall e col.1999).

A degradação do GMPc na célula endotelial é exercida por fosfodiesterases, as quais transformam o GMPc no seu composto inativo, o 5' GMP (Randall e col.1999). As fosfodiesterases são enzimas constituídas por 11 famílias (1 a 11) agrupadas de acordo com a especificidade de seu substrato, com a sensibilidade a inibidores, com seu mecanismo de regulação, e seqüência de aminoácidos (Mennitie cols., 2006). As fosfodiesterases se expressam em diversas regiões, como o cérebro, o coração, os rins, vasos, córtex adrenal, retina, pulmão, etc. (Laties e Zrenner, 2002). Estas enzimas catalisam a hidrólise do nucleotídeo cíclico 3'-5' GMPc ao correspondente nucleotídeo inativo 5' monofosfato (5'GMP), como ilustrado na figura 1. Sabe-se, ainda, que além das fosfodiesterases atuarem na degradação do GMPc, elas sofrem, também, uma ação modulatória do próprio GMPc (Krukoff, 1999; Murthy, 2001).

Por outro lado, Esta via do NO- GMPc tem sido descrita, também, como moduladora do controle neural da circulação (Garthwaite, 1991; Zanzinger,1999).

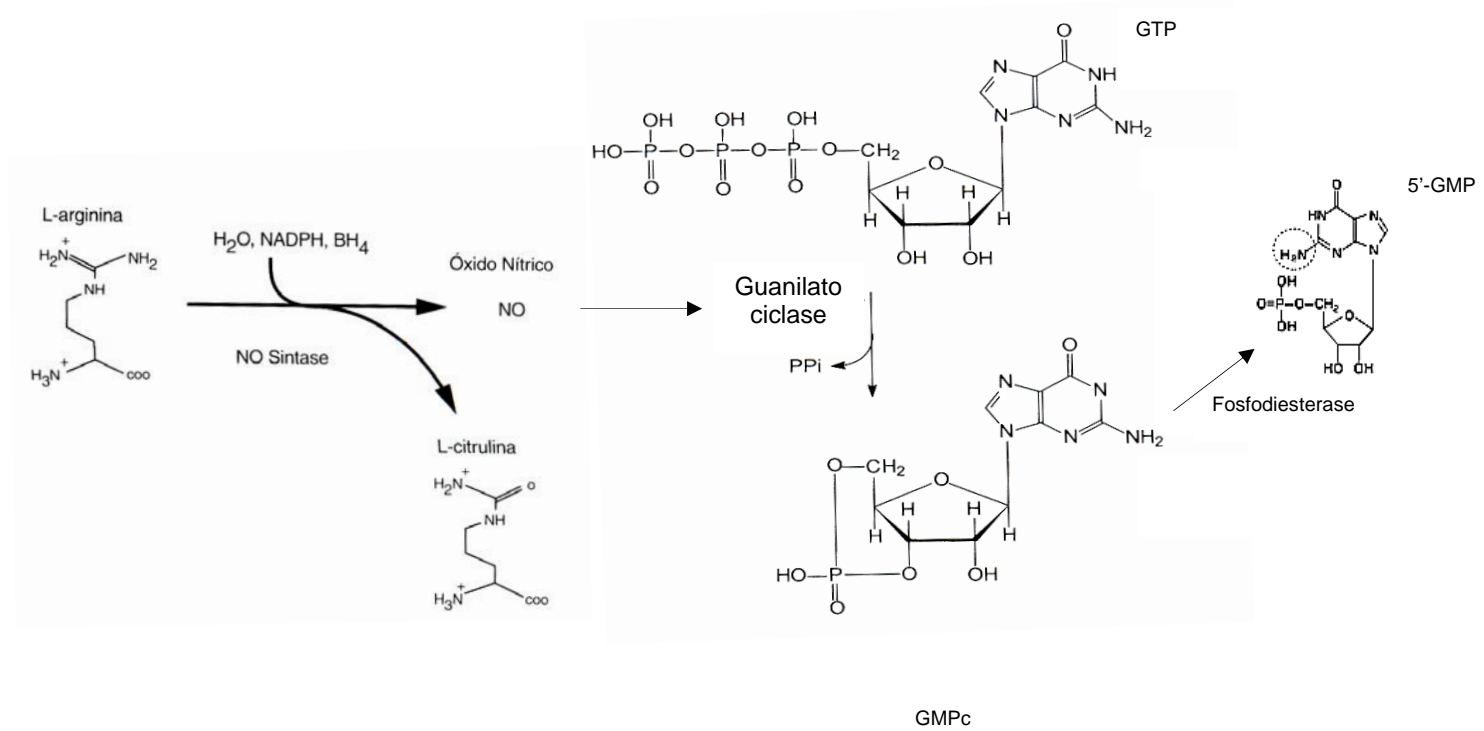


Figura 1: Via L-arginina - NO sintase- NO - Guanilato ciclase -GMP cíclico- fosfodiesterase- 5' GMP.

Modelo de hipertensão arterial L-NAME

O modelo de hipertensão arterial induzida pela administração prolongada de N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), um inibidor não seletivo da NOS, foi originalmente descrito por Ribeiro e cols. (1992), os quais observaram que a administração de L-NAME junto à água de beber de ratos, durante 4 a 6 semanas, provocou elevação da PA. Esta hipertensão é caracterizada como tempo e dose dependente (Arnal e cols., 1992). Está associada, também, à vasoconstrição predominantemente arteriolar, e ao aumento da resistência vascular periférica (Yamada e cols., 1996; Qui e cols., 1998; Biancardi e cols., 2007). Tem sido sugerido na literatura que na hipertensão prolongada induzida pelo L-NAME haja um envolvimento dos sistemas nervoso simpático e renina angiotensina (Qiu e cols., 1998; Eshima e cols., 2000). Há evidências de que a hipertensão desenvolvida após a administração prolongada de L-NAME é acompanhada por taquicardia, sugerindo que o desenvolvimento da hipertensão arterial L-NAME é dependente de uma hiperatividade simpática sobre o sistema cardiocirculatório (Vasquez e cols., 1994; Souza e cols., 2001).

Estudos mostraram que a hipertensão arterial induzida pela inibição da síntese do NO provoca alterações da função barorreflexa. Todavia, os resultados obtidos apresentaram-se, de certa forma, controversos.

Baseado no acima exposto, entende-se que estudos complementares, como por exemplo: variabilidade da PA e FC, conteúdo renal de noradrenalina, e a atividade do nervo simpático renal (ANSR), como realizados no presente estudo, contribuirão para melhor caracterizar o controle barorreflexo da PA e

FC, bem como a atividade simpática em ratos com hipertensão arterial induzida por L-NAME.

Hipertensão L-NAME e atividade simpática

Uma análise cuidadosa da literatura revela, ainda, uma certa controvérsia quanto ao aumento da atividade simpática no modelo de hipertensão arterial induzida por L-NAME.

Já se conhece o efeito vasodilatador do GMPc em função do NO (Ignarro e cols., 1999). Sabe-se, inclusive, que a inibição crônica da síntese de NO com L-NAME eleva a PA (Ribeiro e cols., 1992; Yamada e cols., 1996; Qui e cols., 1998; Ramchandra e cols., 2007). Considera-se que o NO age, centralmente, exercendo uma influência tônica inibitória na atividade simpática, e conseqüentemente, modula os níveis basais de PA (Sakuma e cols., 1992; Togashi e cols., 1992).

Segundo a literatura, várias abordagens, direta e indireta, têm sido utilizadas para o estudo da atividade simpática em diversos modelos experimentais, como por exemplo, no modelo de hipertensão L-NAME. Dentre as abordagens utilizadas para a avaliação indireta da modulação simpática sobre o sistema cardiocirculatório estão a dosagem plasmática e tecidual de noradrenalina (Matsuoka e cols.1994, e Scrogin e cols.1998), a inativação simpática, por meio do bloqueio ganglionar (Sander e cols., 1998; Biancardi e cols., 2007), a desnervação renal bilateral (Matsuoka e cols., 1994; Granger e cols., 1996), e, também, a análise da variabilidade da PA e FC no domínio do tempo e da freqüência (Blanc e cols. 1994; Miao e cols.2001; Souza e cols., 2001 e Wang e cols., 2005).

Variabilidade da PA e FC no modelo de hipertensão L-NAME

A análise da variabilidade PA e da FC, no domínio do tempo e no domínio da frequência, tem sido utilizada para avaliar a modulação autonômica sobre o sistema cardiovascular (Akselrod e cols., 1981, Malliani e cols., 1991).

Já foi demonstrado em ratos normotensos que oscilações de baixa frequência (LF) presentes na FC refletem ambos os componentes autonômicos, simpático e parassimpático (Cerutti e cols., 1991; Rimoldi e cols., 1990; Malliani e cols., 1991). As oscilações de alta frequência (HF) refletem, principalmente, a modulação vagal cardíaca, e a relação LF/HF da FC reflete o balanço simpato-vagal cardíaco (Akselrod e cols., 1981). A banda de LF da PAS reflete, sobremaneira, a modulação simpática vascular (Pagani e cols., 1986; Julien e cols., 1995), enquanto que a banda de HF é influenciada, principalmente, pela mecânica respiratória (Furlan e cols., 1990; Rimoldi e cols., 1990).

Esta abordagem tem permitido examinar a modulação simpática sobre o sistema cardiocirculatório, particularmente em condições fisiopatológicas, como a hipertensão arterial, em humanos (Guzzetti e cols., 1988) e em animais de experimentação (Castellano e cols., 1995; Souza e cols., 2001), inclusive, no modelo de hipertensão arterial induzida por L-NAME. (Blanc e cols. 1994; Miao e cols. 2001; Souza e cols., 2001 e Wang e cols., 2005). A maioria dos estudos sobre a hipertensão arterial L-NAME mostra um aumento da variabilidade da PAS, sem alteração da variabilidade da FC (Blanc e cols. 1994; Miao e cols. 2001; Wang e cols., 2005). Entretanto, Manning e cols. (1993) e Souza e cols. (2001) observaram diminuição da variabilidade da FC. Nos estudos da

variabilidade cardiocirculatória no domínio da frequência, as bandas de LF presentes na FC (Cerutti e cols., 1991; Rimoldi e cols., 1990; Malliani e cols., 1991), e na PA (Pagani e cols., 1986; Julien e cols., 1995) refletem, fundamentalmente, a modulação simpática sobre o coração e vasos de resistência, respectivamente.

Sabe-se que a inibição aguda da síntese de NO promove uma diminuição da banda de LF da PAS, tanto em humanos (Castellano e cols., 1995), quanto em animais (Gouedárd e cols., 1996; Cordero e cols., 1994). Entretanto, não há relatos na literatura sobre o estudo da variabilidade da PAS no domínio da frequência, no modelo de hipertensão L-NAME. Por outro lado, há relatos de aumento da banda de HF da FC após inibição aguda da síntese de NO (Cordero e cols., 1994), e diminuição da banda de LF da FC após uma inibição mais prolongada, ou seja, durante 6 dias (Souza e cols., 2001).

Assim, julga-se bastante oportuno o estudo da variabilidade da FC e da PA, no domínio do tempo e da frequência, no modelo de hipertensão arterial induzida pela inibição da síntese de NO por meio da administração de L-NAME, tanto a curto (2 dias) quanto a longo prazo (14 dias).

Conteúdo renal de noradrenalina no modelo de hipertensão L-NAME

O estudo dos níveis de catecolaminas, ou a técnica do “spillover”, tanto em humanos (Esler e cols., 1981), quanto em animais (Young e cols., 1982), permite uma avaliação indireta da atividade simpática global, ou para um órgão específico, como por exemplo, o coração de ratos diabéticos com hiperatividade simpática cardíaca (Fushimi e cols., 1982), tecido adiposo de

ratos expostos à condição de estresse (Garófalo e cols., 1996), rim do SHR (Donohue e cols., 1987), e, inclusive, rim de ratos com hipertensão arterial induzida por L-NAME (Scrogin, e cols., 1998; Matsuoka e cols., 1994).

Estudos em diferentes modelos experimentais de hipertensão arterial, como o SHR (Kleine e cols., 1980), a hipertensão associada à obesidade, em cães (Kassab e cols., 1995), e também a hipertensão arterial L-NAME, em ratos (Matsuoka e cols., 1994) mostraram que a desnervação renal atenuou a magnitude da hipertensão ou retardou o desenvolvimento da mesma. Além disso, Esler e cols., (1981) mostraram que indivíduos com hipertensão essencial apresentam um “spillover” de noradrenalina total elevado, e que cerca de 50% deste aumento seja devido aos níveis aumentados de noradrenalina renal (Esler e cols., 1986). Há relatos também de que o “spillover” de noradrenalina renal está aumentado na hipertensão relacionada à obesidade, em humanos (Rumantir e cols., 1999). Portanto, a dosagem do conteúdo de noradrenalina renal, constitui-se, também, um método quantitativo indireto de avaliação da atividade simpática.

Pelas razões acima expostas, o presente estudo realizará a dosagem do conteúdo renal de noradrenalina, como um método auxiliar ao registro direto da ANSR, que será descrito a seguir.

ANSR e Controle barorreflexo no modelo de hipertensão L-NAME

Grande parte dos estudos que sugeriram a existência de hiperatividade simpática no modelo de hipertensão L-NAME utilizou abordagens indiretas para avaliar a atividade simpática. Segundo Matsuoka e cols. (1994), a desnervação renal bilateral, em ratos, retardou e atenuou a hipertensão provocada pelo L-NAME, sugerindo que o nervo renal, de fato, participa do desenvolvimento da hipertensão arterial induzida pela inibição prolongada da NOS. Por outro lado, Sander e cols. (1997) e Biancardi e cols. (2007) avaliaram, indiretamente, a participação da atividade simpática em ratos com hipertensão L-NAME por meio do bloqueio ganglionar. Sander e cols. (1997) sugeriram a existência de hiperatividade simpática somente na fase tardia da hipertensão arterial L-NAME. Em contrapartida, Biancardi e cols. (2007) sugeriram a existência de hiperatividade simpática tanto no início, quanto na manutenção da hipertensão induzida por L-NAME, em ratos tratados durante 2 ou 7 dias com L-NAME.

Em contrapartida, a obtenção da máxima informação de modelos experimentais requer sistemas que possuam uma capacidade acurada de registrar alterações da função cardiovascular do animal (Whitesall e cols., 2004). Por esta razão, vários estudos experimentais têm sido realizados em cães, ratos e coelhos, por meio do registro direto da atividade do nervo simpático renal (ANSR) (Sakuma e cols., 1992; Hirai e cols. 1995; Ramchandra e cols. 2005; Ramchandra e cols., 2007), uma vez que o registro direto da atividade neural provê maior acuidade e reprodutibilidade dos resultados.

Acredita-se que a preferência pela ANSR seja devido à característica do nervo, o qual é constituído quase que exclusivamente por fibras pós-ganglionares (Ramchandra e cols., 2006). Mesmo sabendo-se da existência de

um controle diferencial da atividade simpática para diferentes leitos vasculares (Barman e cols., 1984; Hirai e cols., 1995; Morrison e cols., 2001; Ramchandra e cols., 2006; Kanbar e cols., 2007).

A administração aguda de L-NAME em ratos anestesiados mostrou diminuição da ANSR (Hirai e cols., 1995), enquanto que a administração aguda da N-metil-L-arginina (NMA) mostrou aumento transitório da mesma (Sakuma e cols. 1992). Todavia, sabe-se que a anestesia influencia, de maneira significativa, as respostas reflexas cardiovasculares (Shimokawa e cols., 1998).

Por outro lado, no único estudo em que se realizou o registro direto da ANSR, em coelhos acordados, não foi observada nenhuma alteração significativa da ANSR após a indução da hipertensão pelo L-NAME durante 1 semana (Ramchandra e cols., 2007). Este estudo mostrou que a ANSR não está aumentada no modelo de hipertensão arterial L-NAME (Ramchandra e cols., 2007). Assim, o papel do NO em mediar a atividade nervosa simpática pode ser considerado, ainda, controverso. Além disso, com exceção ao estudo de Ramchandra e cols. (2007), a maioria dos estudos abordou o papel do NO agudamente, e, em animais anestesiados.

Outro aspecto, ainda controverso, no modelo de hipertensão L-NAME é a presença, ou não, de alterações no barorreflexo. Alguns autores observaram diminuição no ganho do barorreflexo no controle da FC (Lantelme e cols., 1994; Souza e cols., 2001) ou da ANSR (Scrogin e cols., 1998; Ramchandra e cols., 2007). Enquanto que outros relataram aumento (Vasquez e cols. 1994), ou inalteração da sensibilidade no controle barorreflexo da FC (Banting e cols. 1996).

Tendo em vista a não uniformidade dos resultados disponíveis na literatura relativos ao papel do óxido nítrico na modulação da atividade simpática decorrente da hipertensão arterial induzida pela inibição da síntese de NO, faz-se necessário um estudo mais acurado de avaliação da atividade simpática.

Em síntese, o presente estudo propõe examinar a atividade simpática diretamente, por meio do registro da ANSR em ratos acordados com hipertensão arterial L-NAME 2 e 14 dias. E ainda, utilizar abordagens indiretas para auxiliar o estudo da modulação simpática no modelo de hipertensão L-NAME, como o estudo da variabilidade da PA e da FC, bem como a dosagem do conteúdo de noradrenalina renal.

Objetivos

2.0 OBJETIVOS

GERAL

Estudo do balanço autonômico em ratos acordados com hipertensão arterial induzida pela administração de L-NAME durante 2 e 14 dias.

ESPECÍFICOS

Avaliar no modelo de hipertensão L-NAME 2 e 14 dias:

- O balanço simpato-vagal cardiocirculatório por meio da análise de variabilidade da pressão arterial e da frequência cardíaca, no domínio do tempo e da frequência
- Avaliar o conteúdo de noradrenalina renal
- A atividade do nervo simpático renal (ANSR)
- O controle barorreflexo da ANSR

Material e Métodos

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados ratos Wistar, com peso entre 250 e 300 gramas, provenientes do Biotério Central do Campus da USP de Ribeirão Preto. Estes animais foram inicialmente mantidos no biotério do Departamento de Fisiologia, acondicionados em caixas com no máximo 5 animais, as quais foram mantidas em uma sala com temperatura de 23°C, umidade de 40 a 70%, e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso à ração e água. Os experimentos foram realizados no período das 10 às 19 horas, os animais foram levados previamente ao laboratório para adaptação.

Este trabalho está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CETEA) da FMRP em reunião de 29 de outubro de 2007 (nº do protocolo 142/2007).

Protocolos e grupos experimentais

O estudo foi constituído de ratos normotensos, formado pelo conjunto de ratos que beberam água durante 2 e 14 dias (n=31), ratos hipertensos tratados com L-NAME durante 2 dias (n=21), e ratos hipertensos tratados com L-NAME durante 14 dias (n=16). O tratamento foi realizado por meio de gavagem, e a dose de L-NAME utilizada foi 70 mg/kg de peso.

Foram realizados 2 protocolos experimentais:

Protocolo 1: Caracterização hemodinâmica, estudo da variabilidade da PA e da FC, e dosagem de noradrenalina renal.

Protocolo 2: Registro da atividade do nervo simpático renal (ANSR) e estudo do barorreflexo.

Assim, de acordo com os protocolos acima (1 e 2), os animais foram subdivididos nos seguintes grupos experimentais:

Grupo 1: Ratos normotensos submetidos à caracterização hemodinâmica, ao estudo da variabilidade da PA e FC, e dosagem do conteúdo de noradrenalina renal.

Grupo 2: Ratos hipertensos L-NAME 2 dias submetidos à caracterização hemodinâmica, ao estudo da variabilidade da PA e FC, e dosagem do conteúdo de noradrenalina renal.

Grupo 3: Ratos hipertensos L-NAME 14 dias submetidos à caracterização hemodinâmica, ao estudo da variabilidade da PA e FC, e dosagem do conteúdo de noradrenalina renal.

Grupo 4: Ratos normotensos submetidos ao estudo da ANSR e controle barorreflexo da ANSR.

Grupo 5: Ratos hipertensos L-NAME 2 dias submetidos ao estudo da ANSR e controle barorreflexo da ANSR.

Grupo 6: Ratos hipertensos L-NAME 14 dias submetidos ao estudo da ANSR e controle barorreflexo da ANSR.

Procedimentos cirúrgicos

Implantação de cânula na artéria e veia femorais

Os animais foram submetidos à anestesia com tribromo-etanol (250 mg/kg de massa corpórea, i.p). Em seguida foram implantadas cânulas de polietileno (Becton Dickinson, New Jersey, USA), PE-10 soldada a um PE-50, na artéria e veia femorais esquerdas. Estas cânulas foram exteriorizadas no dorso do animal para registro da pressão arterial pulsátil (PAP) com os animais acordados, e para administração de drogas através da veia femoral esquerda. Alguns animais, de acordo com o protocolo experimental, receberam, somente, cânula na artéria femoral esquerda. Os animais submetidos apenas à canulação arterial foram colocados em gaiolas individuais para recuperação da cirurgia durante 24 horas. Os animais submetidos à canulação da artéria e veia femorais foram submetidos, também, ao implante de um eletrodo no nervo simpático renal.

Implantação do eletrodo no nervo simpático renal

A cirurgia para a implantação do eletrodo no nervo renal consistiu em uma laparotomia mediana, após a qual o intestino foi retraído para permitir a visualização do rim esquerdo, enquanto que a artéria e veia renais foram cuidadosamente tracionadas para expor o nervo renal. Um pequeno segmento do nervo foi isolado com o auxílio de um microscópio cirúrgico (mod. MC-M902MFZ, D.F.V. Com. Ind. Ltda, São Paulo, SP) e colocado sobre um eletrodo bipolar de aço inoxidável (figura 2), o qual foi fixado com resina de

polivinilsiloxano (Super-Dent, Carlisle Laboratories, Inc. Rockville Centre, NY, USA) para permitir o registro da ANSR mesmo durante a deambulação do animal. O eletrodo, uma vez implantado, foi exteriorizado na região dorsal do animal, juntamente às cânulas da artéria e da veia femoral. A seguir, os animais foram colocados em gaiolas individuais para recuperação da cirurgia durante 6 a 8 horas.

Registro da Pressão arterial e da ANSR

Após 6 a 8 horas do procedimento cirúrgico, o animal foi colocada no interior de uma gaiola de **Faraday** pelo menos 1 hora antes do início da coleta de dados. Os experimentos foram realizados sob condições apropriadas (luz e temperatura) para registro de sinais biológicos em animais acordados. A cânula arterial foi conectada a um transdutor de pressão (Statham P23Gb), e a PAP foi continuamente registrada em um microcomputador por meio de uma interface analógico-digital (CAD 12/36, Lynx Tecnologia, SP). A cânula venosa foi conectada a uma seringa contendo a substância a ser injetada (fenilefrina, FE, ou nitroprussiato de sódio, NPS). A ANSR foi amplificada e filtrada, em um amplificador (Cyberamp 320, Axon Instruments, USA) e registrada, continuamente, em um microcomputador por meio de uma interface analógico-digital (CAD 12/36, Lynx Tecnologia, SP), com uma frequência de amostragem de 10 kHz. Após o registro da PAP e da ANSR em condições basais, por aproximadamente 10 minutos, os animais receberam a administração de fenilefrina (4 µg/kg em 50 µL), seguida de nitroprussiato de sódio (32 µg/kg em 50 µL), a fim de promover alterações da PA suficientes para se determinar a faixa de ANSR.

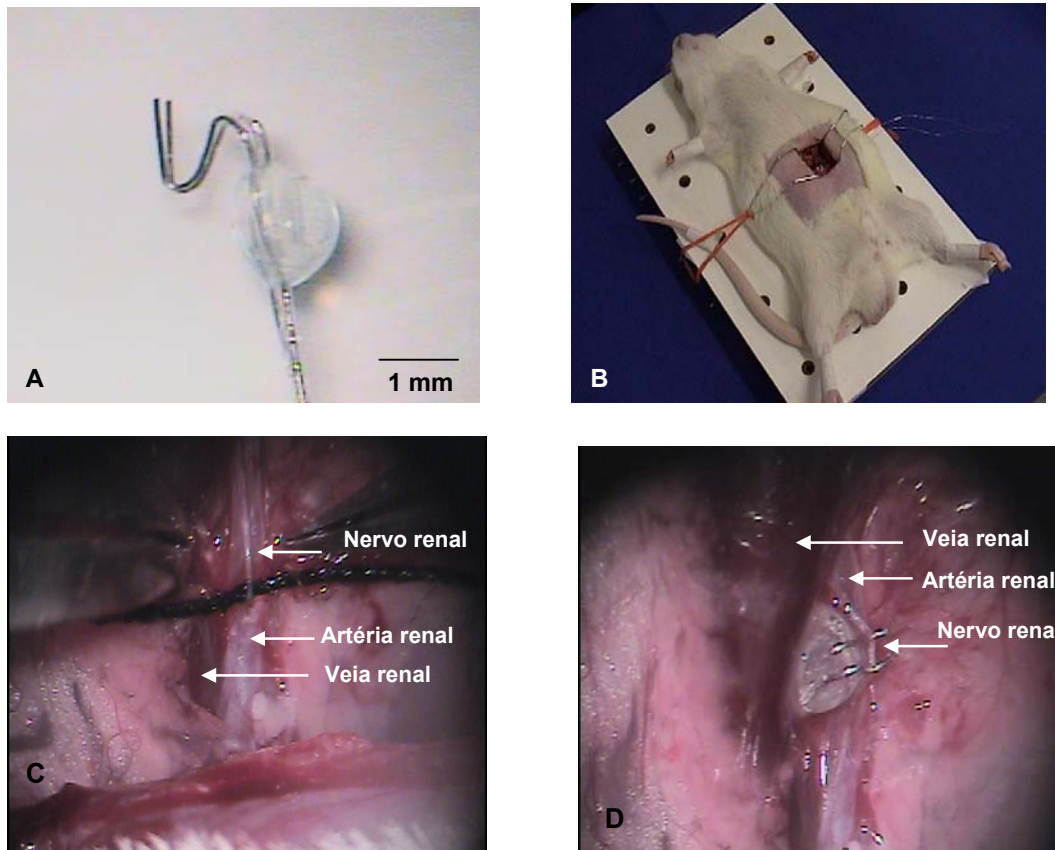


Figura 2: Eletrodo e estruturas anatômicas envolvidas no registro da ANSR. (A) Eletrodo bipolar de aço inoxidável. (B) Visão panorâmica da abordagem por meio da laparotomia mediana. (C) Relação anatômica entre veia renal, artéria renal e nervo renal. (D) Relação anatômica entre veia renal, artéria renal e nervo renal posicionado sobre o eletrodo.

Determinação da pressão arterial pela medida indireta do pulso arterial da cauda do rato

Para monitorizar a pressão arterial dos ratos durante o tratamento com água, ou L-NAME, foi utilizado o método indireto (não invasivo) de medida da PA, pela medida do pulso arterial da cauda do rato (*modelo 29-SSP, IITC, Incorporation, Woodland Hills, CA, USA*). A medida foi realizada antes de iniciar o tratamento, no período intermediário do tratamento (1 ou 7 dias), e no final do tratamento (2 e 14 dias), imediatamente antes da cirurgia.

Determinação da noradrenalina renal

Para a determinação da concentração renal de noradrenalina, um grupo de animais de cada condição experimental (normotenso, L-NAME 2 dias e L-NAME 14 dias) foi sacrificado por decapitação e os rins foram rapidamente retirados e imediatamente congelados em nitrogênio líquido, e mantidos sob refrigeração a -70°C para posterior análise. Os tecidos foram homogeneizados em ácido perclórico 0,2 N, contendo metabissulfito de sódio 1% e EDTA 1mM. O homogeneizado foi centrifugado sob refrigeração a 6000 g, durante 10 minutos, e o sobrenadante transferido para tubos de plástico contendo tampão Tris-HCl 2 M (pH 8,9) com 0,5% de metabissulfito de sódio, 2,5% de EDTA e 50 mg de alumina previamente ativada em estufa a 100°C (por meia hora). Diidroxibenzilamina foi utilizada como padrão interno. As amostras foram então agitadas durante 20 minutos, centrifugadas e após aspiração do sobrenadante a alumina foi lavada. As catecolaminas foram extraídas da alumina pela adição de solução eluidora contendo ácido perclórico 0,1 N, sob agitação de 10 minutos (Krustolovic,1982). Alíquotas de 100 μl das amostras assim obtidas

foram analisadas em um cromatógrafo modelo LC-7A, equipado com uma coluna de fase reversa Spherisorb ODS II (Sigma-Aldrich), acoplado a um detector eletroquímico modelo L-ESD-6A e a um polígrafo modelo C-R5A, todos da marca Shimadzu.

Protocolo experimental 1: Caracterização hemodinâmica do modelo de hipertensão L-NAME, estudo da variabilidade da PA e da FC e dosagem de noradrenalina renal

A figura 3 ilustra o protocolo experimental 1. O primeiro procedimento realizado foi a medida indireta da pressão arterial por meio da detecção do pulso arterial da cauda do rato, a fim de estabelecer os níveis pressóricos dos animais no decorrer do tratamento com água ou L-NAME. No dia anterior ao experimento, os animais foram submetidos à cirurgia para canulação da artéria femoral, para possibilitar a medida direta da PA. Após 24 horas de recuperação da cirurgia foram iniciados os procedimentos de registro da PA e FC. Após o registro, os animais foram submetidos à decapitação seguida de retirada dos rins.

Protocolo Experimental 2: Registro da ANSR e estudo do barorreflexo

A figura 4 ilustra o protocolo experimental 2. Os animais submetidos a este protocolo foram submetidos às mesmas condições de tratamento e monitorização indireta da PA durante o tratamento com água ou L-NAME. No dia do experimento, os animais foram submetidos à cirurgia para canulação de vasos e implantação do eletrodo no nervo simpático renal. Após 6 a 8 horas de recuperação da cirurgia foram iniciados os procedimentos de registro da PAP, pressão arterial média (PAM) e ANSR, com o animal acordado. Os registros foram realizados, inicialmente, num período basal de 10 minutos, e em seguida foram feitos registros contínuos após administração de drogas vasoativas até o final de seus efeitos.

Figura 3: Protocolo experimental 1: Caracterização hemodinâmica do modelo de hipertensão L-NAME, estudo da variabilidade da PA e da FC, e dosagem de noradrenalina renal

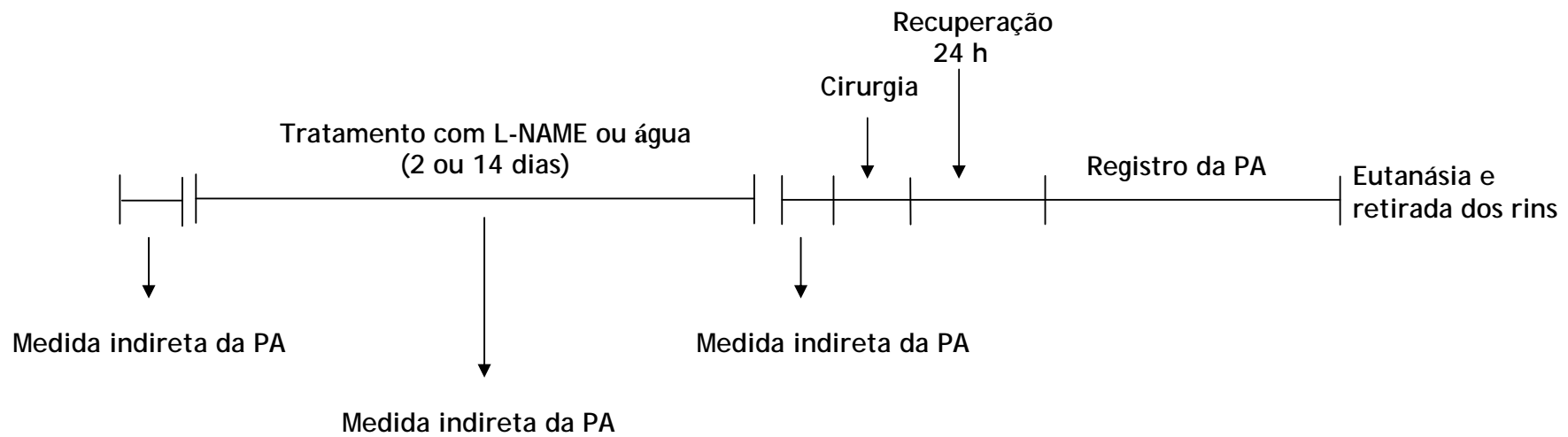
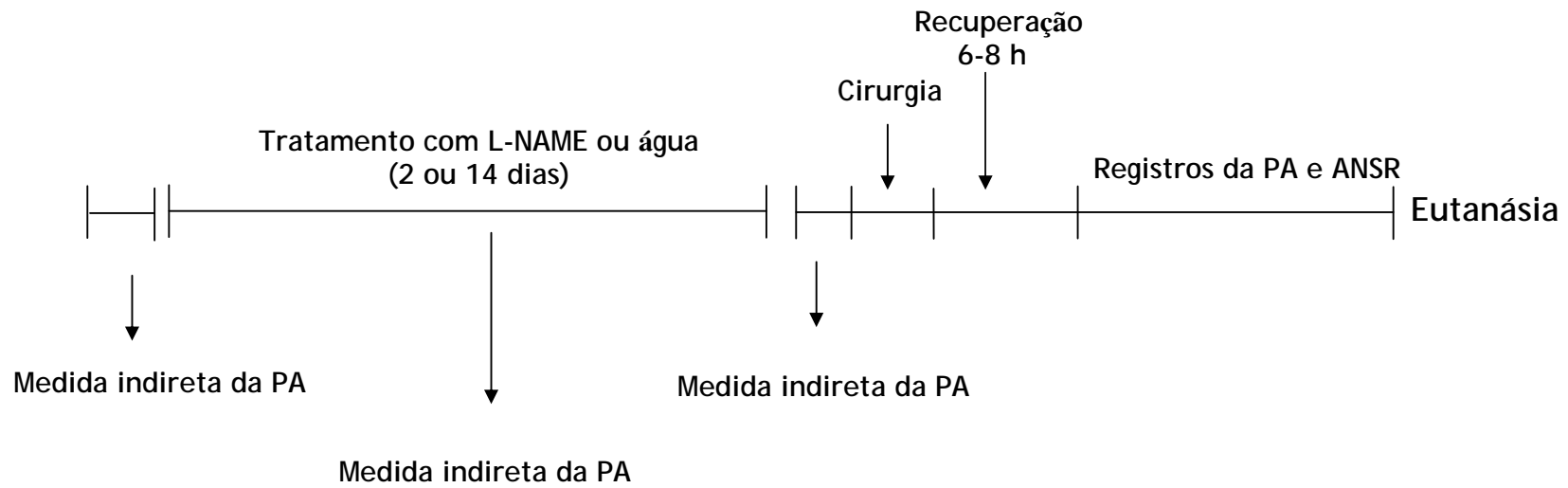


Figura 4: Protocolo experimental 2: Registro da ANSR e barorreflexo



Análise dos Dados: Atividade média do nervo simpático renal

Para obtenção da ANSR média foram separados trechos de 15 segundos do registro da PAP e da ANSR do período basal (Figura 5). Para o cálculo da média da ANSR foi realizada uma integração a cada batimento cardíaco, por meio do programa *Advanced CODAS/Windaq, Dataq Instruments Inc., Akron, EUA*. No período em que foi administrada fenilefrina foi calculada a atividade neural mínima. Este valor foi considerado como ruído e subtraído da série temporal da ANSR. No período em que foi administrado o NPS foi calculada a ANSR máxima. Por se tratar de um registro multifibras, a ANSR foi normalizada em função de sua atividade máxima (máxima = 100%), para permitir a comparação entre animais.

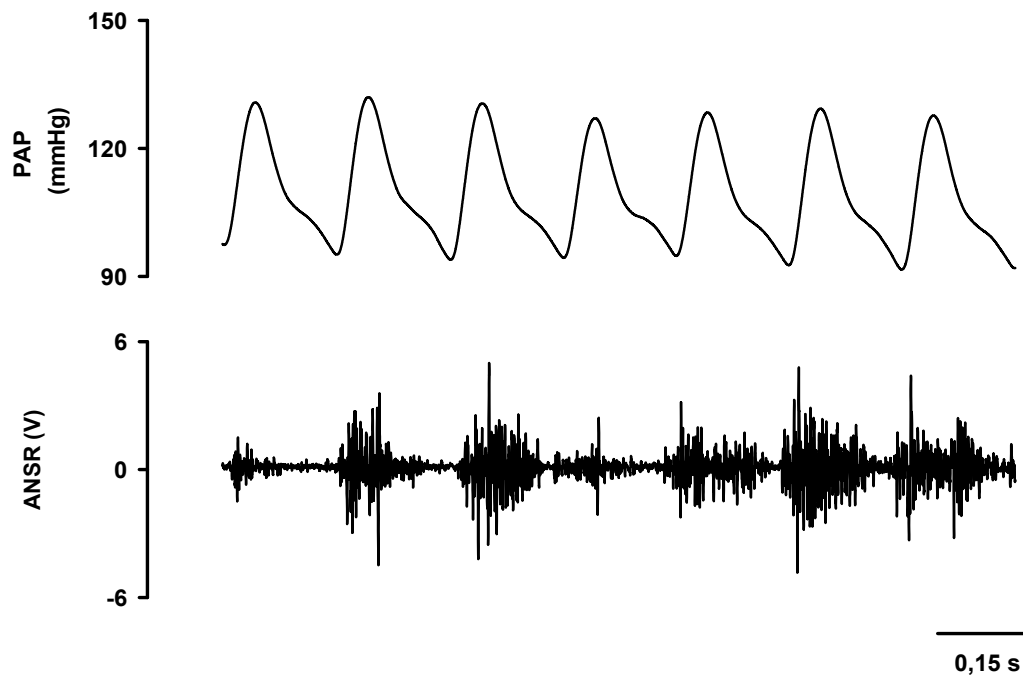


Figura 5: Registro da pressão arterial pulsátil (PAP, painel superior) e atividade do nervo simpático renal (ANSR, painel inferior) de um rato representativo do grupo normotenso.

Curva de Pressão Arterial Média versus ANSR

Para a construção da curva de PAM versus ANSR, foram separados trechos do registro da PA e da ANSR, durante as elevações e reduções da PA promovidas pela administração de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, respectivamente, como ilustrado na figura 6. A PAM do trecho selecionado foi calculada e a ANSR foi integrada a cada batimento cardíaco por meio do programa *Advanced CODAS/Windaq, Dataq Instruments Inc., Akron, EUA*.

A partir dos valores de PAM obtidos após a administração de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, e os valores correspondentes da ANSR integrada e normalizada, foram construídas curvas de PAM versus ANSR. Uma regressão logística sigmoideal de 4 parâmetros, baseada no algoritmo de Levenberg-Marquadt (Marquadt 1967), foi aplicada à curva, da qual foram extraídos os parâmetros para o estudo da ANSR (*Sigmaplot v9.0, SPSS Inc., IL, USA*), como ilustrado na figura 7. Os parâmetros compreendem: faixa ou variação da atividade neural, ganho máximo (obtido pela inclinação da curva ou por meio da 1ª derivada da regressão sigmoideal), PAM correspondente a 50% do máximo da atividade neural (PAM_{50}), e valor mínimo da atividade neural. A PAM que induz descargas contínuas (saturação) do nervo renal (PAM_{sat}) e a PAM correspondente ao limiar de ativação do nervo renal (PAM_{lim}) foram obtidas por meio da terceira derivada da regressão sigmoideal, a partir do primeiro e segundo pontos de inflexão, respectivamente (Figura 7).

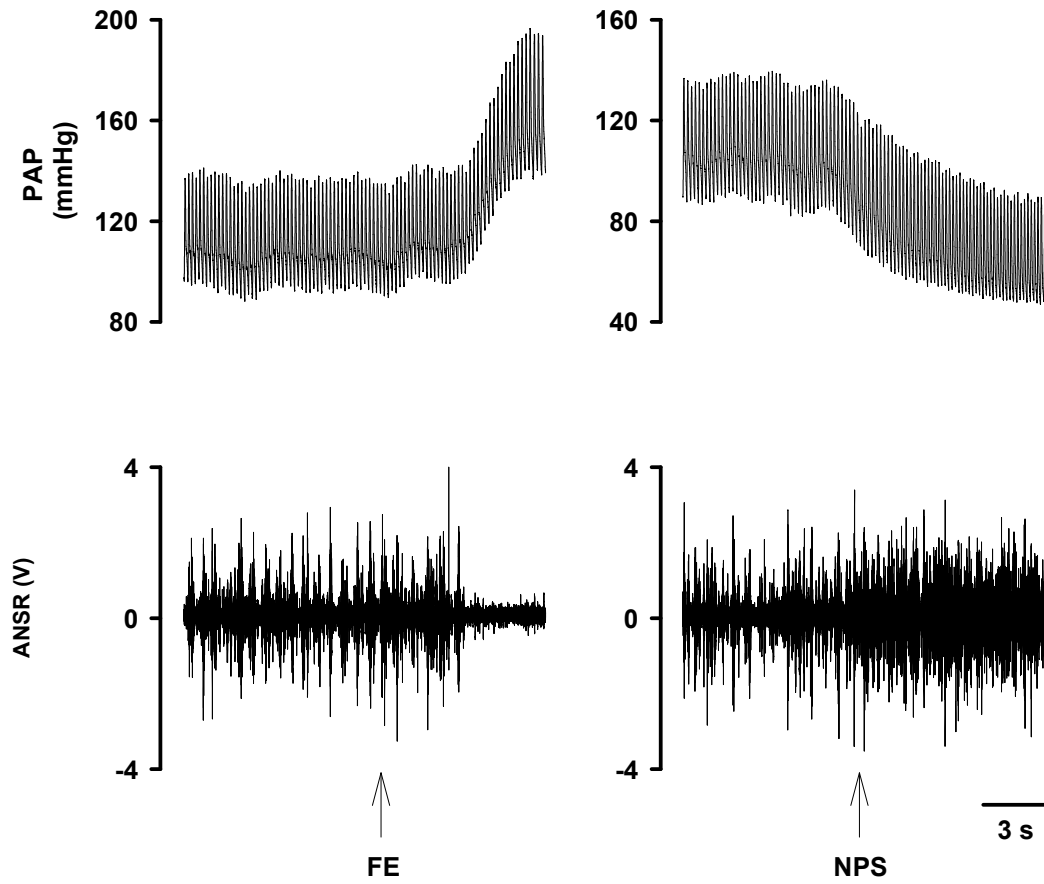


Figura 6: Registro típico da pressão arterial pulsátil (PAP) e da atividade do nervo simpático renal (ANSR), no período basal e após administração de fenilefrina (FE, painel esquerdo) e nitroprussiato de sódio (NPS, painel direito).

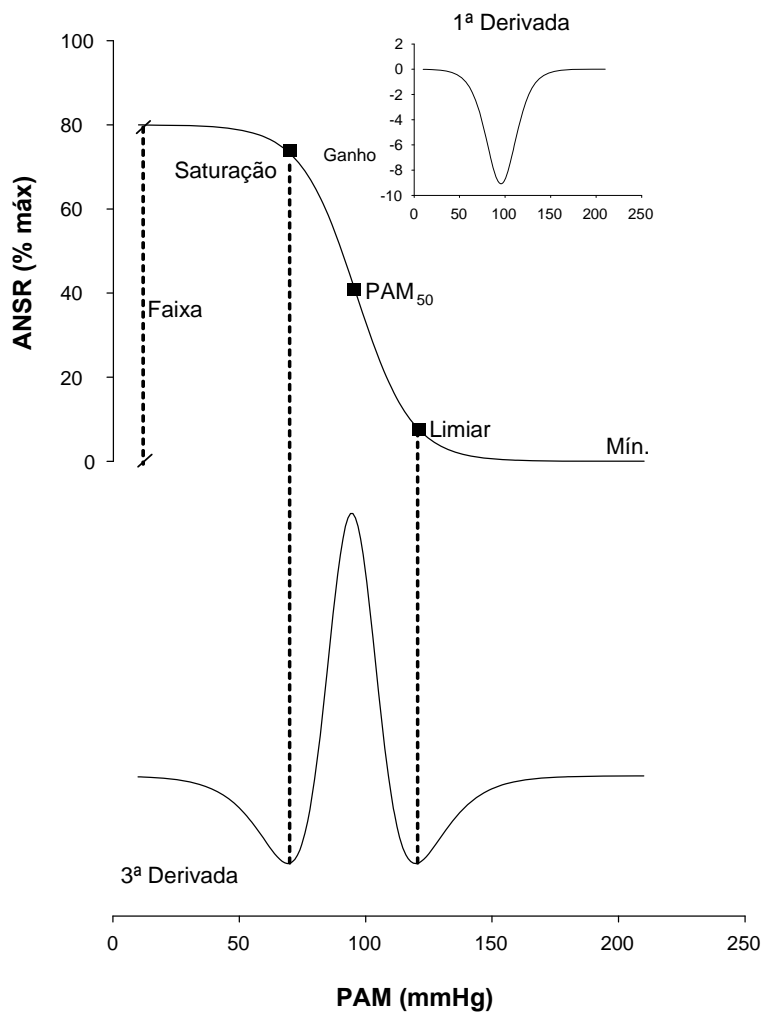


Figura 7: Correlação entre pressão arterial média (PAM) e atividade do nervo simpático renal (ANSR). No painel superior está representada a regressão sigmoide calculada a partir da curva de PAM versus ANSR. Em destaque encontra-se a 1ª derivada da regressão sigmoide, a qual representa o ganho da curva. No gráfico inferior está representada a 3ª derivada da regressão sigmoide, utilizada para localizar os pontos de inflexão máximos, representando a PAM_{sat} e a PAM_{lim} .

Análise da Variabilidade da Pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca

Para análise da variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) e da FC foram separados trechos com 15 minutos de duração, onde estes parâmetros se apresentaram relativamente estáveis, ou seja, com ausência de artefatos ou grandes oscilações. No presente estudo, valores de intervalos de pulso (IP) foram utilizados para a realização da análise da variabilidade da FC. Os valores de PAS e IP foram re-amostrados em 10 Hz (1 valor a cada 100 ms) por interpolação cúbica do tipo “spline”, para regularização do intervalo de tempo entre batimentos. As séries com 15 minutos, ou seja, 9000 valores interpolados de PAS e IP foram divididas em 34 segmentos com 512 valores cada, com sobreposição de 50 % (Protocolo de Welch, Figura 8).

A estacionariedade dos valores de PAS e IP de cada segmento foi examinada visualmente, e aqueles segmentos com artefatos ou grandes oscilações foram excluídos. Cada segmento estacionário de PAS e IP teve sua média e desvio padrão da média calculados, e foram submetidos à análise espectral pela Transformada Rápida de Fourier (FFT), após janelamento do tipo Hanning. Os espectros de PAS e IP foram integrados em bandas de baixa (LF: 0,2 - 0,75 Hz) e alta frequência (HF: 0,75 - 3 Hz), como ilustrado na Figura 9.

As médias das potências dos espectros da PAS e da IP, em ambas as bandas de frequência (LF e HF), foram utilizadas para expressar a potência de LF e HF da PAS e do IP para cada rato. A potência relativa (%) dos espectros de PAS e IP, em cada banda de frequência, bem como a razão entre as potências de LF e HF (LF/HF) do IP dos mesmos, foram determinadas.

No presente estudo, a análise da variabilidade da FC e da PAS também foi realizada no domínio do tempo. Para isto, períodos estacionários (15 minutos) foram separados das séries de IP, e a média e o desvio padrão foram calculados, permitindo a representação das médias do IP, da PAS, e de suas respectivas variâncias.

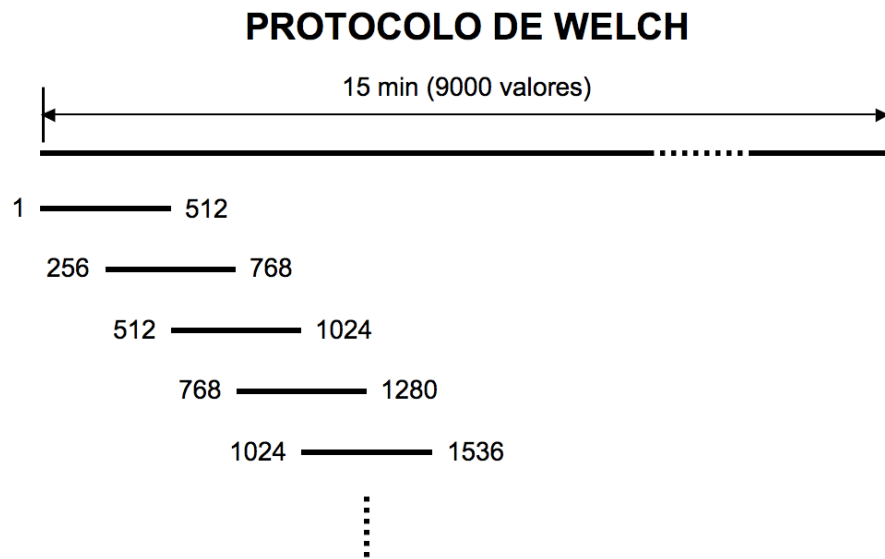


Figura 8: Representação esquemática da segmentação das séries temporais (Protocolo de Welch) para análise espectral da frequência cardíaca e da pressão arterial.

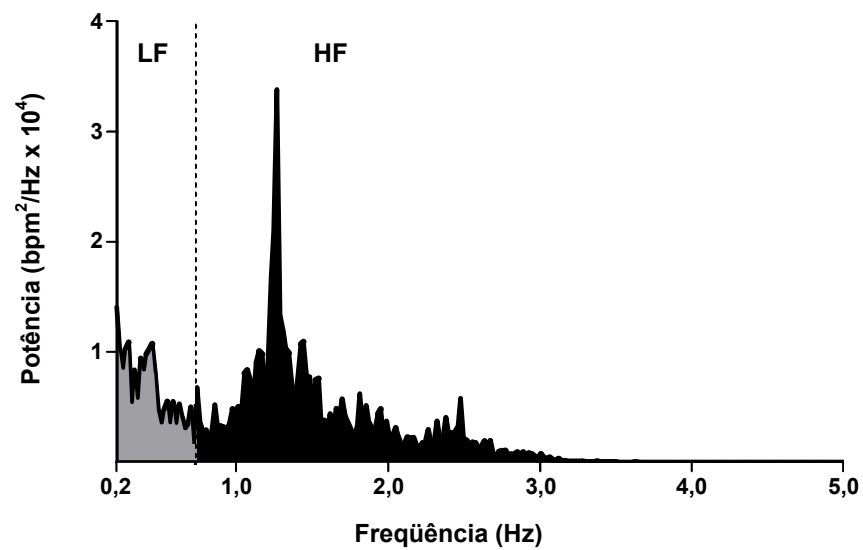


Figura 9: Espectro representativo da frequência cardíaca de um rato Wistar normotenso em condições basais. As bandas de baixa e alta frequência (LF e HF) do espectro estão representadas nas cores cinza e preto, respectivamente.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores foram expressos como média \pm EPM. A pressão arterial média, a frequência cardíaca, os dados de variabilidade, os valores do conteúdo renal de noradrenalina, a atividade do nervo renal, bem como os parâmetros da curva PAM versus ANSR foram comparados entre os animais normotensos e os animais hipertensos L-NAME 2 e 14 dias por meio da análise de variância de uma via (ANOVA *one way*) seguido do *pós-teste* de Bonferroni. Comparações de variáveis entre animais do mesmo grupo foram feitas através do teste t-pareado. O nível de significância adotado foi de $p < 0.05$.

Resultados

4.0 RESULTADOS

Os resultados são apresentados como média \pm EPM, sob a forma de figuras e tabelas. Os valores individuais são apresentados no apêndice sob a forma de tabelas.

Pressão arterial pelo método de medida na cauda do rato.

Os grupos normotensos (2 e 14 dias) apresentaram níveis estáveis de PAS durante o tratamento com água (tabelas 1 e 2), enquanto que os grupos hipertensos L-NAME (2 e 14 dias) apresentaram aumento da PAS nos mesmos períodos (tabelas 1 e 2). As figuras 10 e 11 ilustram os resultados da PAS dos grupos estudados.

Parâmetros Hemodinâmicos

A tabela 3 apresenta a PAM e a FC do grupo normotenso, e dos grupos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. A figura 12 ilustra os resultados da PAM de ratos acordados normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. A figura 13 ilustra os resultados da FC de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias.

Tabela 1: Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) pelo método de medida na cauda de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME, antes e 2 dias após o tratamento com água ou L-NAME.

| PAS | Normotensos (n=7) | L-NAME (n=7) |
|--------------|------------------------------|-------------------------|
| Antes | 110 ± 2 | 110 ± 2 |
| Após | 108 ± 8 | 145 ± 4 * |

* p<0,05 em relação ao início (antes) do tratamento.

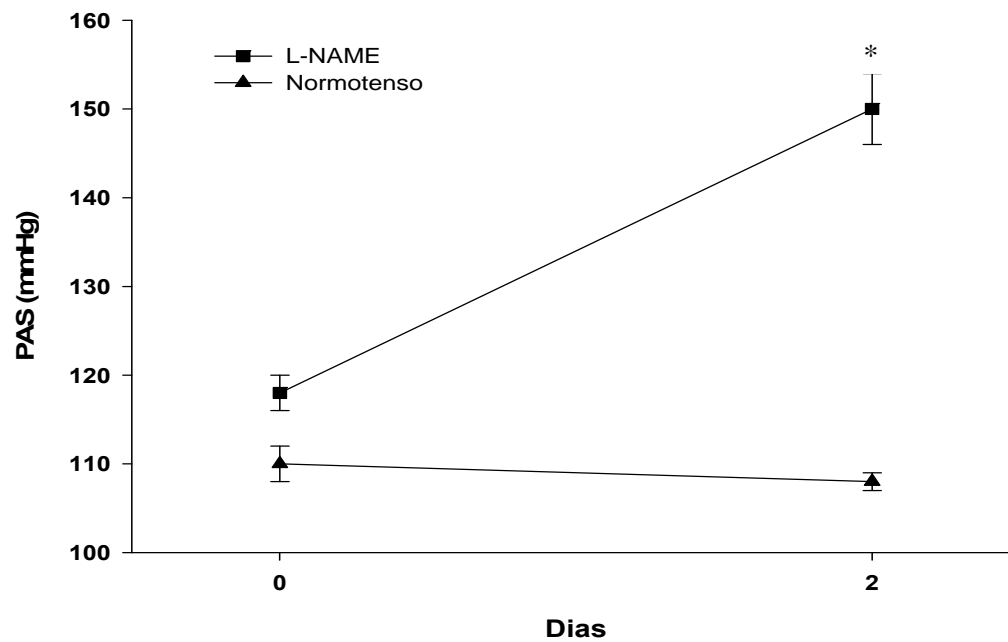


Figura 10: Pressão arterial sistólica (PAS) pelo método de medida na cauda de ratos acordados, normotensos (n=7) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=7). * $p < 0,05$ em relação ao dia zero (antes do tratamento).

Tabela 2: Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) pelo método de medida na cauda de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME, antes, 1ª semana, e 2ª semana após o tratamento com água ou L-NAME.

| PAS | Normotensos (n=5) | L-NAME (n=7) |
|------------------|------------------------------|-------------------------|
| Antes | 118 ± 5 | 119 ± 3 |
| 1º semana | 123 ± 4 | 153 ± 5 * |
| 2º semana | 123 ± 4 | 165 ± 3 * |

* p<0,05 em relação ao início (antes) do tratamento.

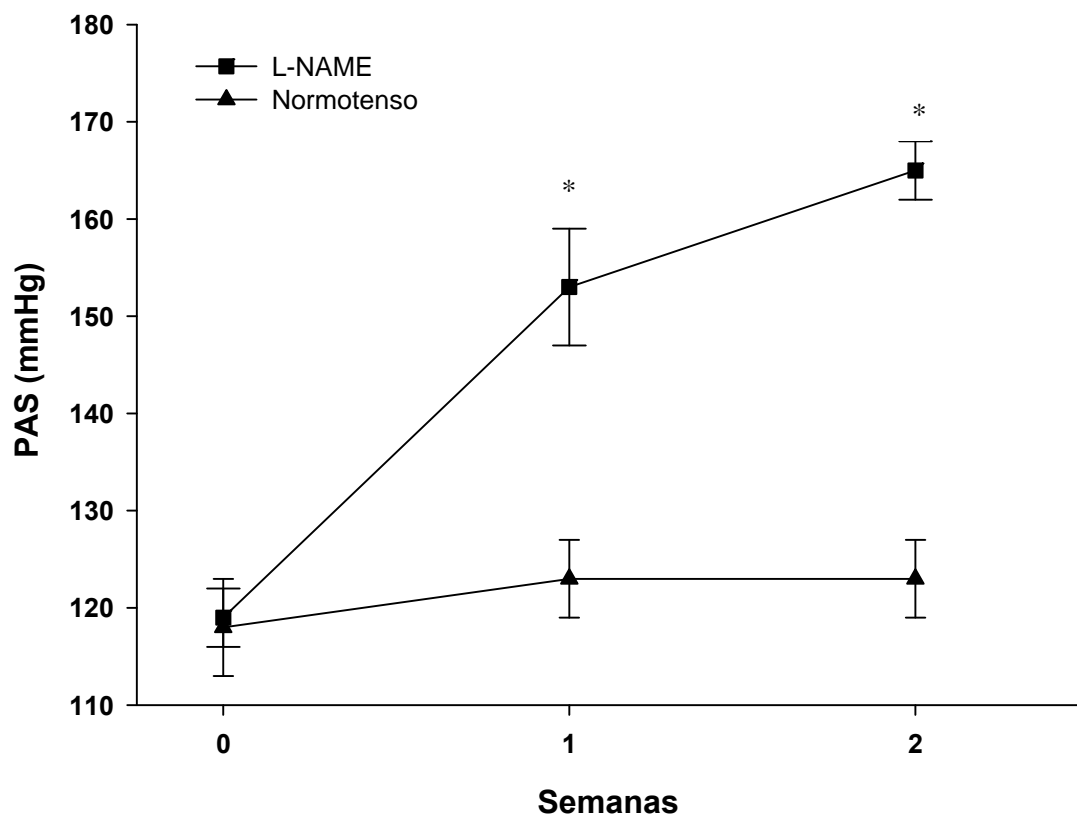


Figura 11: Pressão arterial sistólica (PAS) pelo método de medida na cauda de ratos acordados, normotensos (n=5) e hipertensos L-NAME 14 dias (n=7). * $p < 0,05$ em relação ao dia zero (antes do tratamento).

Tabela 3: Pressão arterial média (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, bpm) de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias.

| | PAM | FC |
|---------------------------------|------------|-----------|
| Normotenso (n=21) | 111 ± 2 | 383 ± 7 |
| L-NAME 2dias (n=14) | 139 ± 2* | 391 ± 13 |
| L-NAME 14 dias (n=9) | 147 ± 4 * | 376 ± 14 |

* p<0,05 em relação ao grupo normotenso.

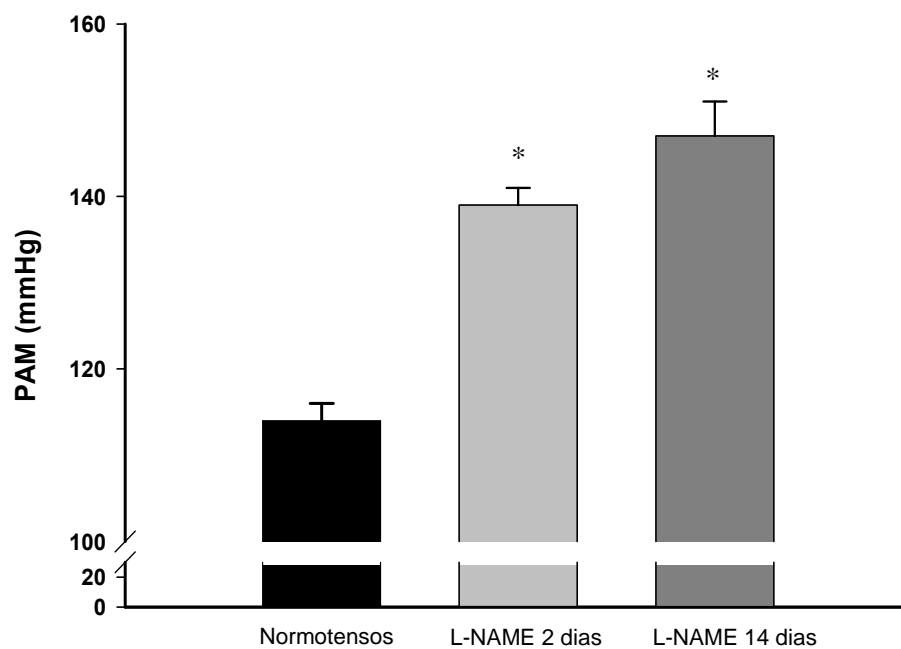


Figura 12: Pressão arterial média (PAM) de ratos acordados, normotensos (n=21) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=14) e 14 dias (n=9). * $p < 0,05$ comparado aos normotensos.

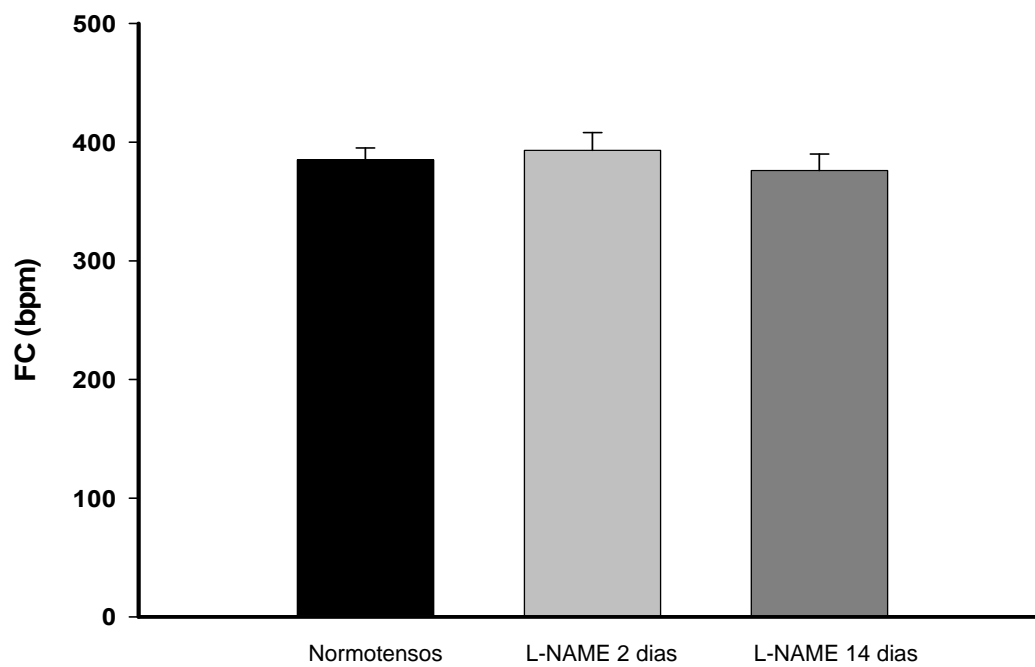


Figura 13: Frequência cardíaca (FC) de ratos acordados, normotensos (n=21) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=14) e 14 dias (n=9).

Variabilidade da PA e da FC no domínio do tempo e da frequência

As variâncias do IP e da PAS de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias estão ilustradas nas figuras 14 e 15, respectivamente. Não houve diferença na variância do IP entre os grupos estudados, mas a variância da PAS foi maior nos ratos hipertensos L-NAME 14 dias em comparação aos ratos hipertensos L-NAME 2 dias e os ratos normotensos. As figuras 16 e 17 ilustram as potências (NU) das bandas de LF e HF dos espectros do IP dos ratos normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. Não houve diferença entre as bandas de LF e HF do IP entre os grupos. A figura 18 ilustra o balanço simpato-vagal cardíaco (relação LF/HF) dos ratos normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. Não houve diferença entre os grupos. A figura 19 ilustra os valores absolutos da potência dos espectros da PAS na banda de LF. Não foi observada diferença entre os ratos normotensos e os hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. Os valores absolutos das potências das bandas de LF e HF dos espectros do IP, bem como da potência da banda de LF da PAS, e as variâncias do IP e da PAS encontram-se na tabela 4. Não houve diferença entre as demais variáveis estudadas.

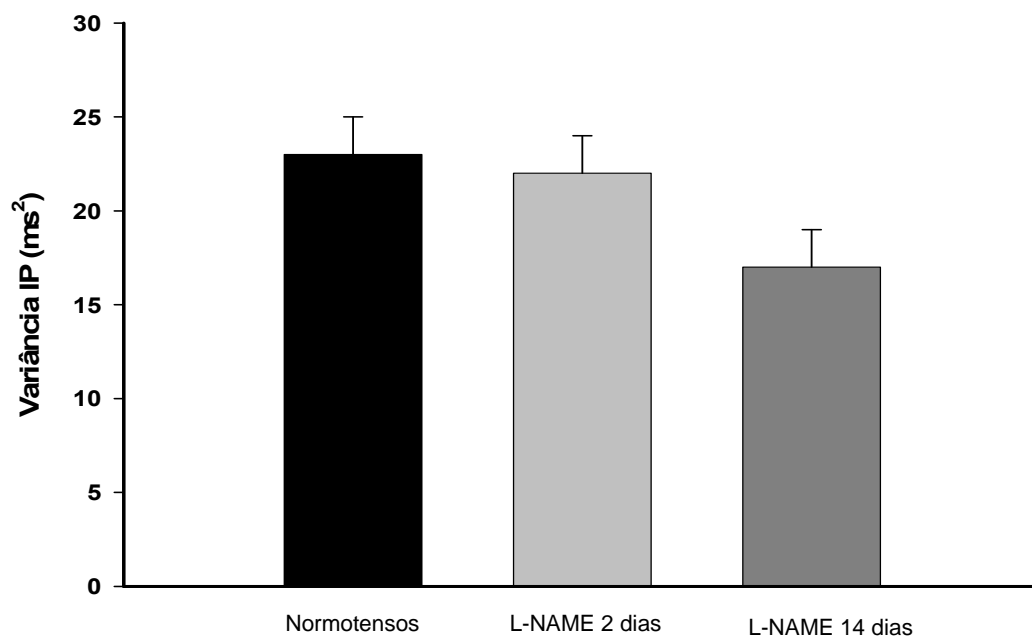


Figura 14: Variância do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7).

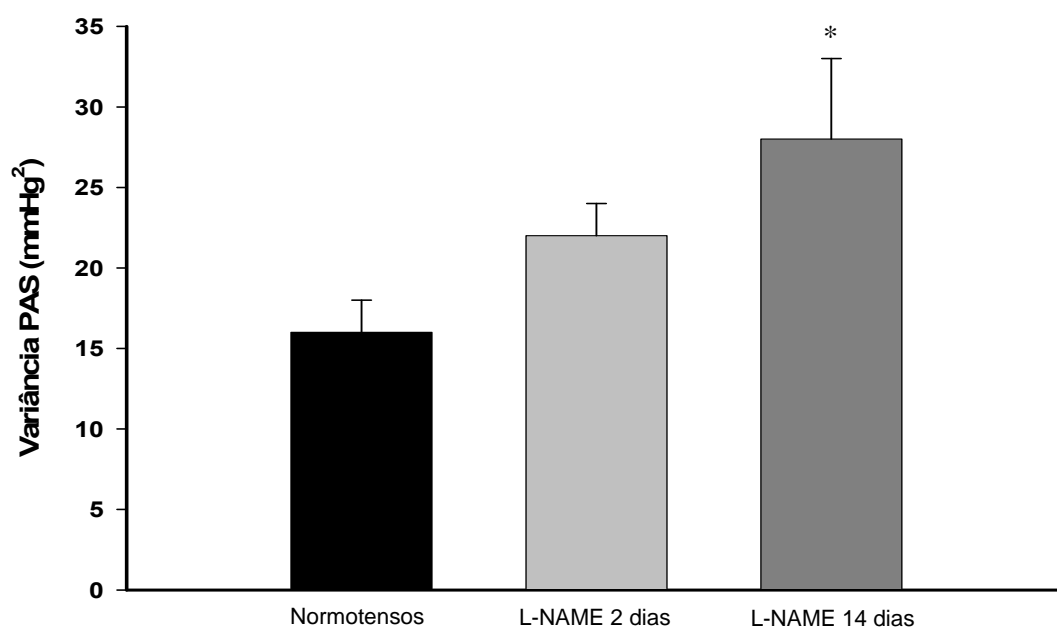


Figura 15: Variância da pressão arterial sistólica (PAS) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7).

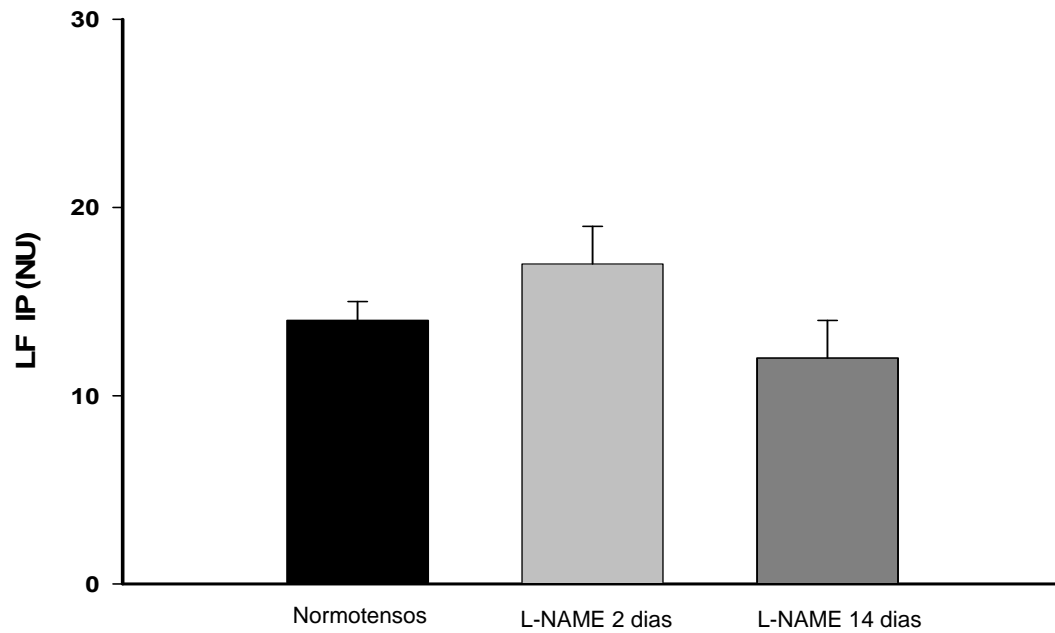


Figura 16: Potência da banda de baixa frequência (LF) do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7).

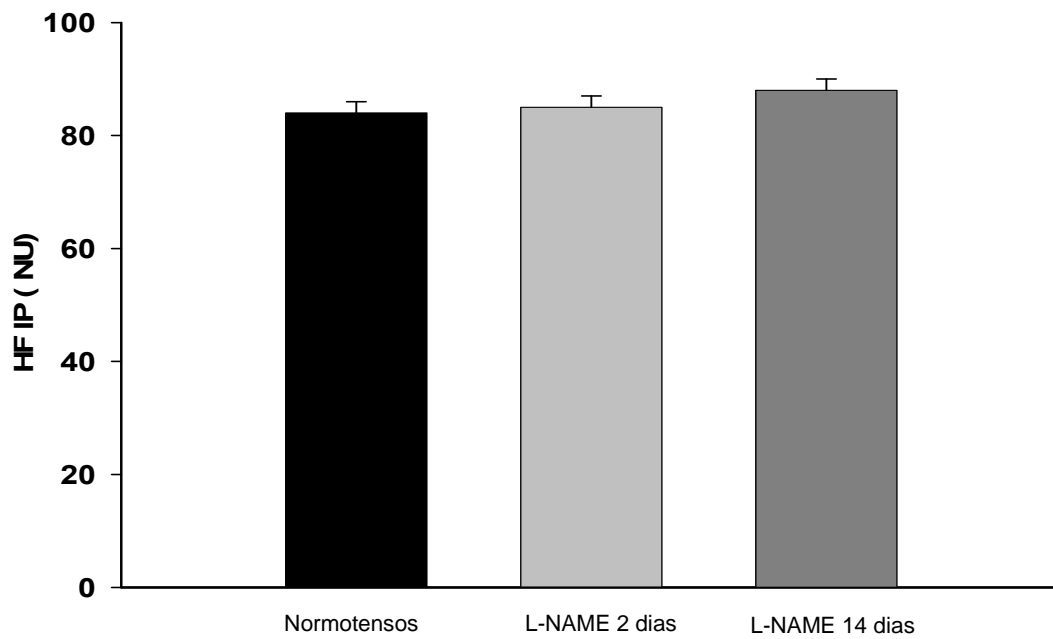


Figura 17: Potência da banda de alta frequência (HF) do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=12).

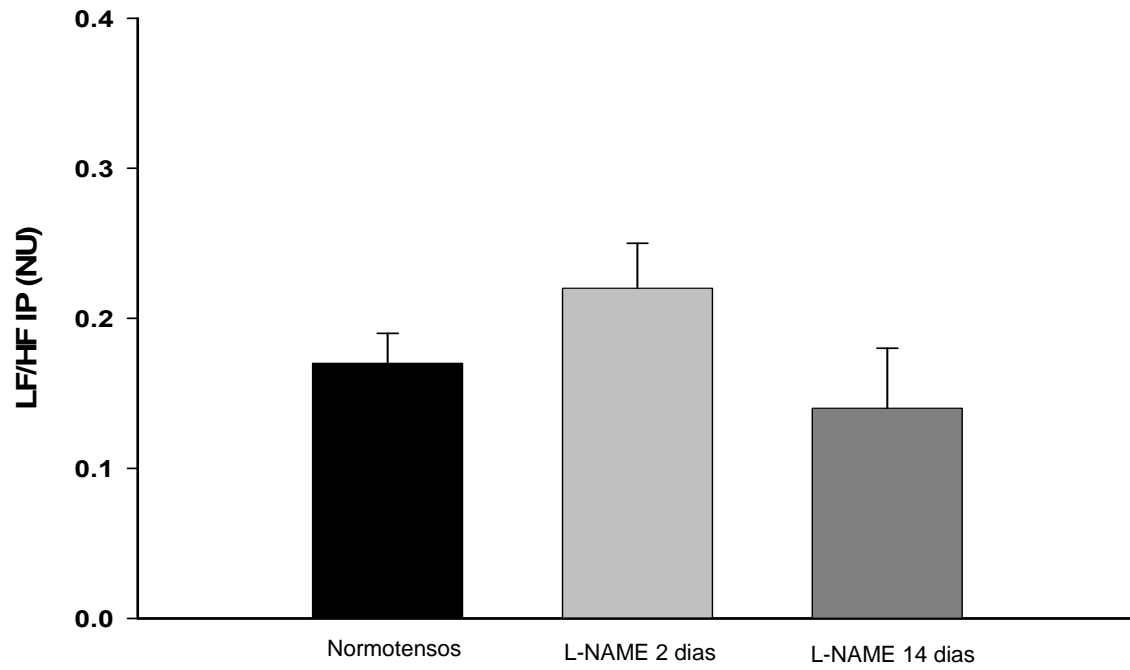


Figura 18: Razão entre as potências das bandas de LF/HF do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7).

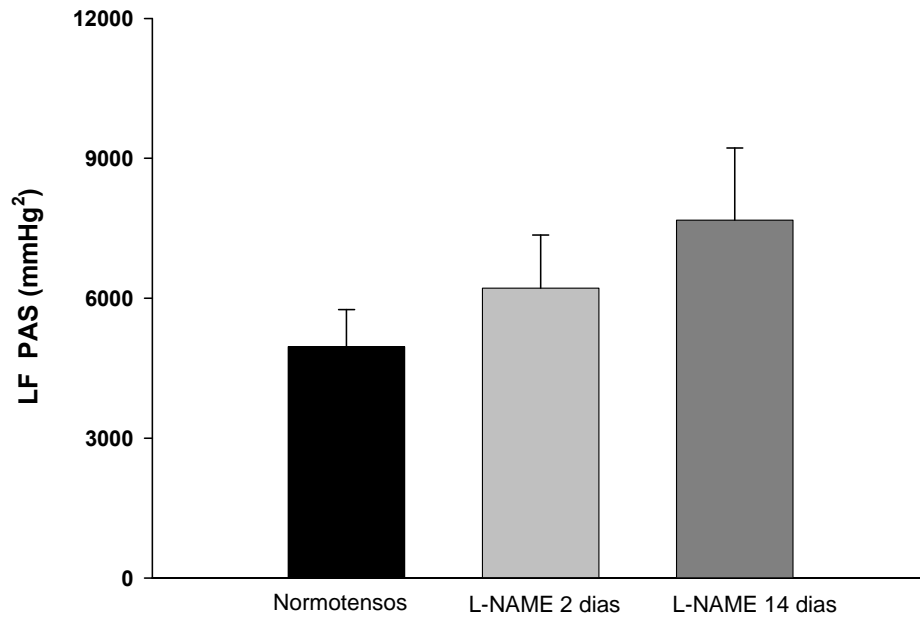


Figura 19: Potência da banda de baixa frequência (LF) da PAS, em valores absolutos, de ratos acordados, normotensos (n=17) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=12) e 14 dias (n=7).

Tabela 4: Valores absolutos das potências de baixa (LF) e de alta frequência (HF) do espectro do intervalo de pulso (IP), razão LF/HF, potência de LF da pressão arterial sistólica (PAS), e variâncias do IP e da PAS de ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias.

| Variável | Normotenso (n=17) | L-NAME 2 dias (n=12) | L-NAME 14 dias (n=7) |
|---|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Variância (ms²) | 23± 3 | 22± 2 | 17± 5 |
| IP LF Abs (ms²) | 985±139 | 1269±336 | 652±151 |
| IP HF Abs (ms²) | 5792±471 | 4837±856 | 4931±437 |
| IP LF (%) | 14±1 | 17±2 | 12±2 |
| IP HF (%) | 86±1 | 83±2 | 88±2 |
| IP LF/HF | 0.17±0.02 | 0.2±0.03 | 0.14±0.04 |
| PAS Variância (mmHg²) | 16±2 | 22±2 | 28±5 * |
| PAS LFAbs (mmHg²) | 4958 ±798 | 5641±963 | 7673±1447 |

*p<0,05 em relação ao normotenso

Dosagem de noradrenalina renal

A figura 20 ilustra os resultados do conteúdo de NOR renal em ratos normotensos (125 ± 9 ng/g), e hipertensos L-NAME 2 dias (106 ± 12 ng/g) e 14 dias (110 ± 10 ng/g). Não foi observada diferença entre os grupos.

Atividade do nervo simpático renal

As figuras 21 e 22 ilustram a ANSR de ratos acordados, normotensos (43 ± 5 %) e hipertensos L-NAME 2 dias (40 ± 4 %) e 14 dias (40 ± 5 %). Não houve diferença entre a ANSR nos diferentes grupos.

Regressão logística sigmoidal entre PAM e ANSR

A figura 23 ilustra as curvas de PAM versus ANSR, ajustadas por meio da regressão logística sigmoidal de 4 parâmetros, e os parâmetros (ganho, faixa da ANSR, PAM_{50} , PAM_{lim} e PAM_{sat}) que caracterizam a ANSR obtidos a partir das curvas. Houve alteração da PAM_{50} e PAM_{lim} entre os grupos estudados, e não houve alteração quanto à faixa de ANSR. O ganho, ilustrado na figura 24, e a PAM_{sat} diferiram entre os grupos L-NAME 14 dias e o normotenso. Enquanto que a PAM_{sat} diferiu também, entre os grupos L-NAME 2 dias e o normotenso.

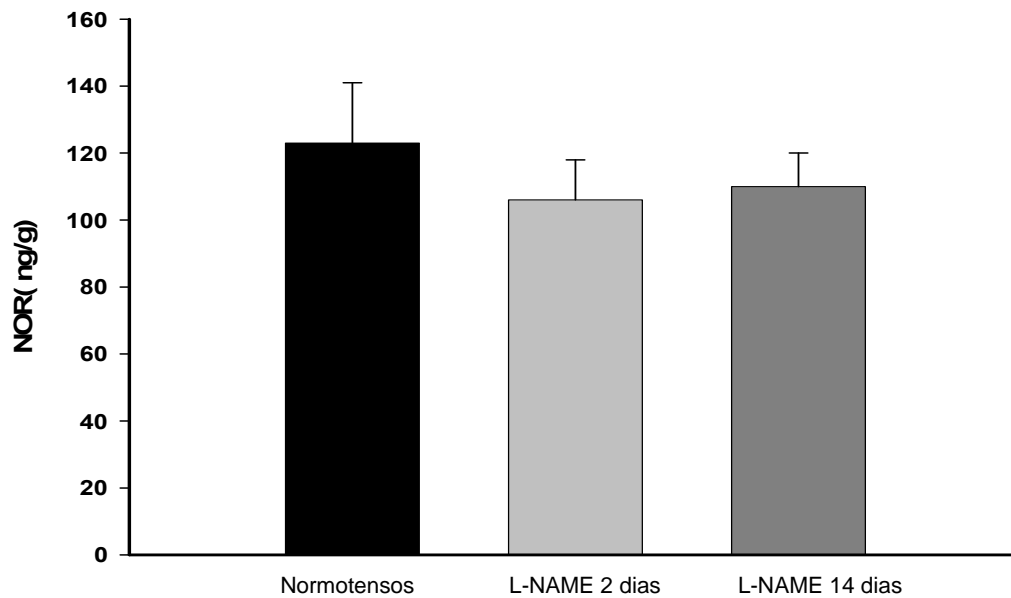


Figura 20: Conteúdo de noradrenalina renal (NOR) de ratos normotensos (n=14) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=5) e 14 dias (n=9).

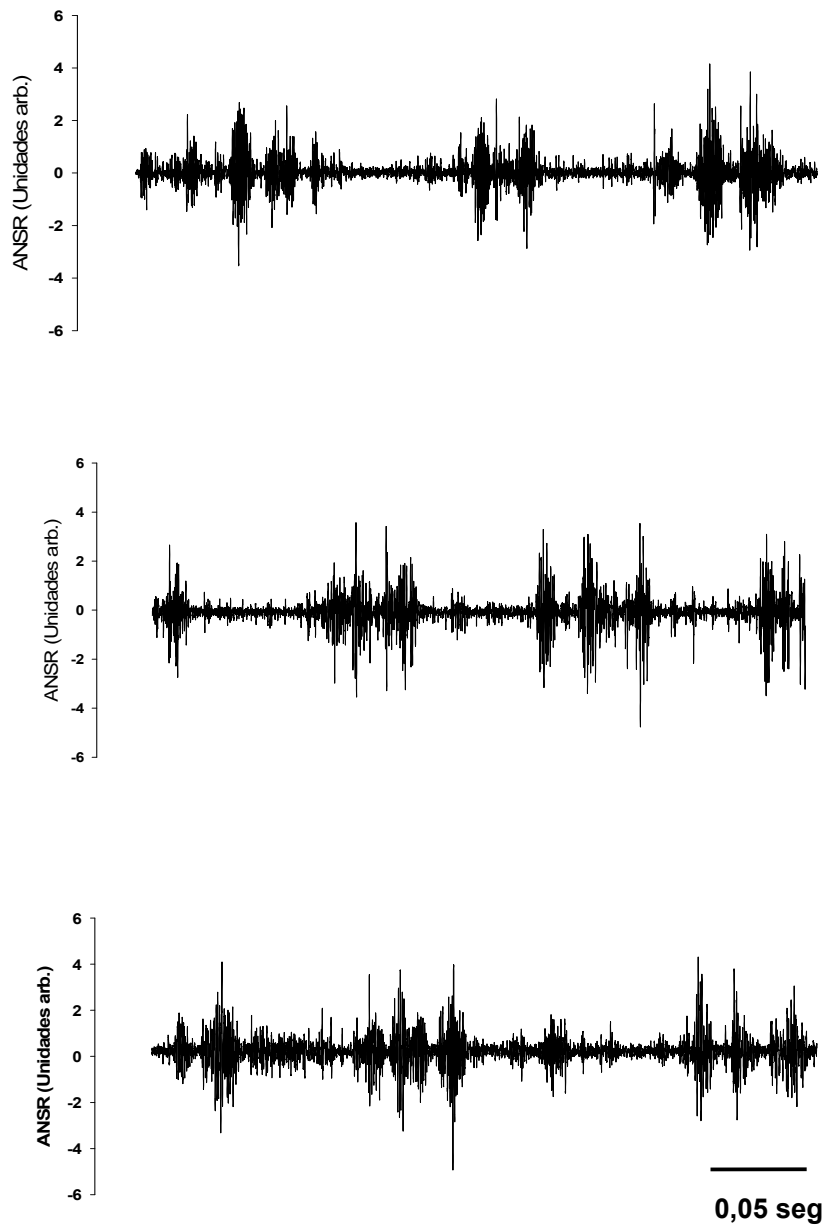


Figura 21: Traçados do registro da atividade do nervo simpático renal (ANSR, unidades arbitrárias) de animais representativos do grupo normotenso (painel superior), L-NAME 2 dias (painel central) e L-NAME 14 dias (painel inferior).

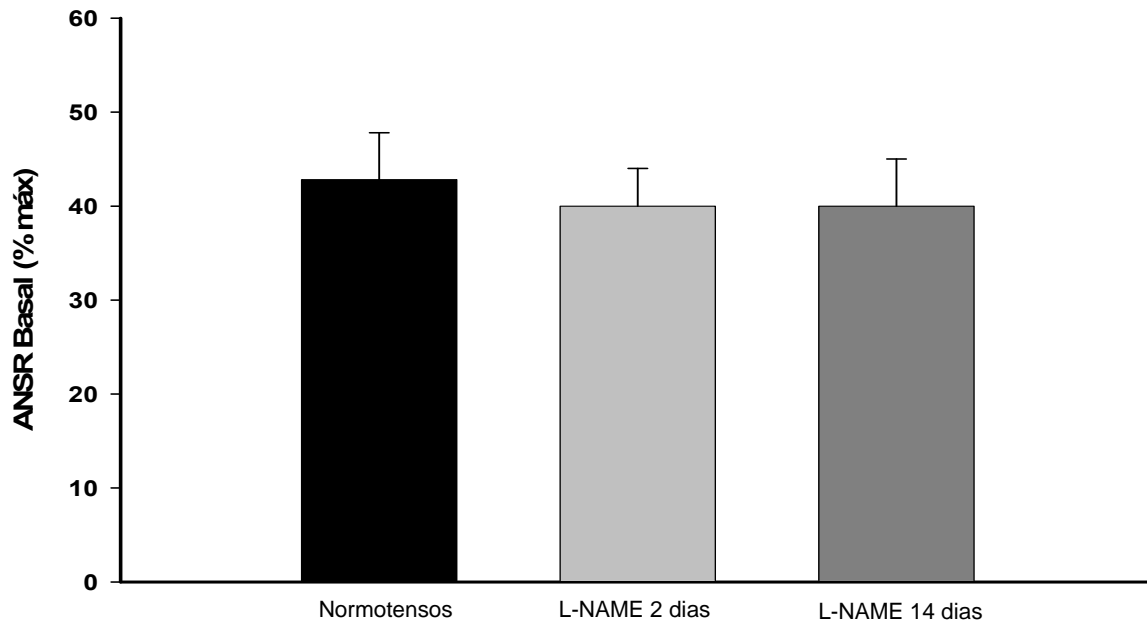
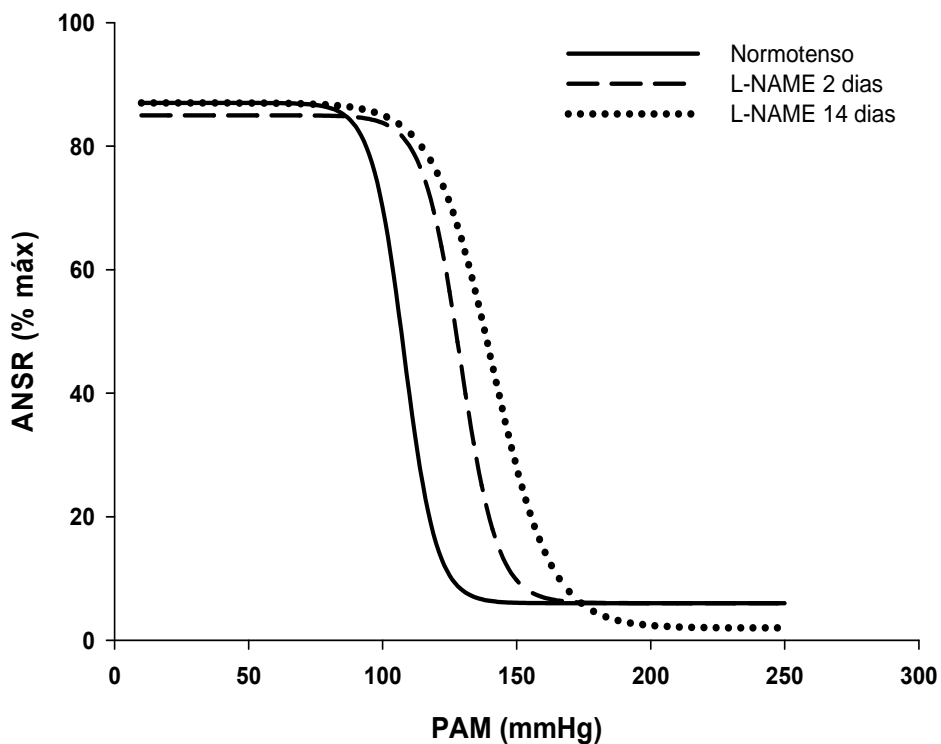


Figura 22: Atividade do nervo simpático renal (ANSR, % da atividade máxima) de ratos acordados, normotensos (n=10) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=7) e 14 dias (n=7).



| | Normotenso (n=10) | L-NAME 2 dias (n=7) | L-NAME 14 dias (n=7) |
|---------------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| Ganho(%máx/mmHg) | -4 ± 0.4 | -4 ± 0.8 | $-2 \pm 0.3^*$ |
| Faixa (% máximo) | 81 ± 5 | 80 ± 5 | 85 ± 4 |
| PAM₅₀ (mmHg) | 108 ± 3 | $129 \pm 3^*$ | $141 \pm 2^* \#$ |
| PAM_{lim} (mmHg) | 120 ± 2 | $143 \pm 5^*$ | $165 \pm 4^* \#$ |
| PAM_{sat} (mmHg) | 92 ± 5 | $112 \pm 4^*$ | $115 \pm 7^*$ |

* $p < 0,05$ em relação ao normotenso, # $p < 0,05$ em relação ao grupo L-NAME 2 dias

Figura 23: Painel superior: curvas de pressão arterial média (PAM) versus atividade do nervo simpático renal (ANSR) ajustadas por regressão logística sigmoideal de 4 parâmetros. Painel inferior: parâmetros obtidos a partir das curvas: ganho, faixa, PAM₅₀, PAM_{lim} e PAM_{sat}.

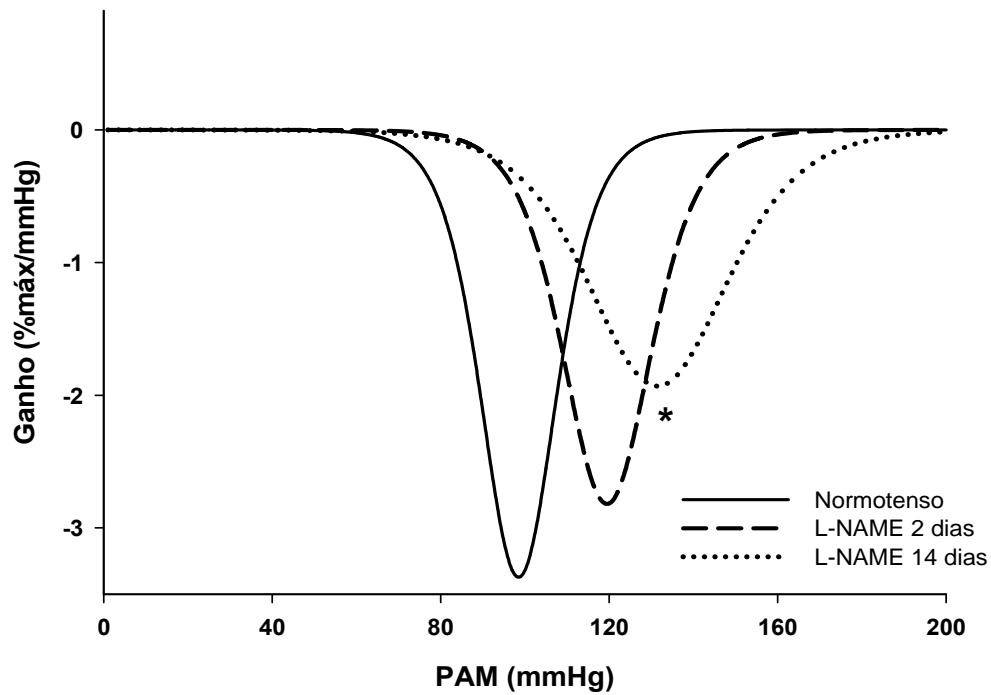


Figura 24: Ganho máximo do barorreflexo no controle da atividade do nervo simpático renal (ANSR) de ratos acordados, normotensos (n=10) e hipertensos L-NAME 2 dias (n=7) e 14 dias (n=7).

DISCUSSÃO

5.0 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que: 1) O tratamento com L-NAME durante 2 e 14 dias elevou a pressão arterial média de forma similar em ambos os grupos, sem alteração da FC; 2) que a variância da PAS foi maior no grupo L-NAME 14 dias que no grupo normotenso, e que não houve diferença entre a variância do IP, nem no balanço simpato-vagal avaliado pela análise espectral da FC de ratos normotensos e os ratos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias; 3) O conteúdo renal de noradrenalina não apresentou diferença entre os ratos normotensos e os ratos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias; 4) A ANSR dos ratos normotensos não diferiu dos ratos hipertensos; 5) A curva de ANSR versus PAM, ajustada por uma regressão logística sigmoidal de quatro parâmetros, mostrou adaptação do barorreflexo no controle da ANSR nos grupos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias, diminuição da sensibilidade barorreflexa no grupo L-NAME 14 dias, e nenhuma alteração da faixa de ANSR entre os ratos normotensos e os hipertensos L-NAME 2 e 14 dias.

Aspectos hemodinâmicos da hipertensão L-NAME

No presente estudo, a administração de L-NAME por 2 e 14 dias elevou, significativamente, a PAM registrada em ratos acordados, em ambos os grupos estudados. O modelo de hipertensão arterial induzido pelo bloqueio da NOS com L-NAME em ratos foi originalmente descrito por Ribeiro e cols.(1992), os quais mostraram o efeito hipertensor do L-NAME (70 mg/kg) administrado durante 4 semanas. Portanto, a mesma dose utilizada por Ribeiro e cols. (1992) foi utilizada neste estudo. O bloqueio da síntese de NO pode ser caracterizado pela diminuição

dos metabólitos deste gás no organismo, como já demonstrado em ratos tratados durante 8 semanas com L-NAME, os quais apresentaram menor excreção urinária de nitrito e nitrato do que ratos normotensos (Yuasa e cols., 2000). Arnal e cols. (1992) mostraram que a hipertensão arterial induzida pelo L-NAME pode ser parcialmente revertida pela administração de L-arginina, e que o nível de hipertensão depende da dose e do tempo de administração da droga. Entretanto, foi demonstrado, também, que a administração aguda de L-NAME é capaz de elevar a pressão arterial de forma significativa (Ramchandra e cols., 2006).

No presente estudo, a FC registrada com os animais acordados não se mostrou alterada após a administração de L-NAME durante 2 ou 14 dias. Estes resultados são consistentes com alguns relatos da literatura (Banting e cols., 1996; Blanc e cols., 1999; Scrogin e cols., 1994; e Biancardi e cols., 2007). Entretanto, há relatos também, de aumento (Souza e cols., 2001 e Cunha e cols., 1993) e de diminuição (Reinhart e cols., 1997; Liu e cols., 1998; Ramchandra e cols., 2007; Scrogin e cols., 1998 e Matsuoka e cols., 1994) da FC em animais tratados com L-NAME. Tal discrepância pode estar relacionada à duração do tratamento (dias ou semanas), ao método de administração da droga (água de beber ou endovenosamente), à dose (maior ou menor que 70 mg/kg), ao tempo de recuperação após cirurgia (horas ou dias), ao método de medida da FC (direto ou indireto), ou ainda, à espécie estudada (rato, cão ou coelho).

Variabilidade da PA e FC no modelo de hipertensão L-NAME

A análise da variabilidade da FC e da PA, no domínio do tempo e da frequência, é uma ferramenta bastante utilizada para avaliar a modulação autonômica cardiovascular (Akselrod e cols., 1981, Malliani e cols., 1991, Task Force, 1996), particularmente em condições fisiopatológicas, como por exemplo, a hipertensão arterial, tanto em humanos (Guzzetti e cols., 1988) quanto em animais de experimentação (Castellano e cols., 1995; Souza e cols., 2001). No presente estudo, a análise da variabilidade cardiocirculatória foi utilizada para se avaliar a regulação autonômica da PA e da FC de animais com hipertensão arterial induzida por L-NAME. A análise das oscilações rítmicas da FC e da PA permite inferir sobre a modulação simpática e parassimpática sobre o sistema cardiocirculatório (Task Force, 1996; Rimoldi e cols. 1990).

Variabilidade da frequência cardíaca

No presente estudo, a variância das séries de IP não foi diferente entre os grupos estudados. Existem poucos relatos na literatura relacionados com a variabilidade da FC neste modelo de hipertensão arterial. Contudo, os resultados do presente estudo são coerentes com aqueles obtidos por Wang e cols. (2005) e Persson e cols. (1992), os quais mostraram que o tratamento agudo e crônico com inibidores da síntese de NO não alterou a variabilidade da FC.

A análise da variabilidade no domínio da frequência mostrou que a potência das bandas LF e HF da FC não diferiram entre os ratos normotensos ou hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. Conseqüentemente, a relação LF/HF, um importante índice associado ao balanço simpato-vagal para o coração, também não foi diferente entre os grupos.

Já foi demonstrado em ratos normotensos acordados que a banda de LF da FC reflete ambos os componentes autonômicos, simpático e parassimpático (Cerutti e cols., 1991; Rimoldi e cols., 1990; Malliani e cols., 1991). No entanto, a banda de HF (relacionada com respiração) reflete, principalmente, a modulação vagal cardíaca, uma vez que a administração de um bloqueador muscarínico, como demonstrado em cães acordados, produziu apreciável redução da banda de HF da FC, e discreta atenuação da banda de LF (Akselrod e cols., 1981).

Numa condição de hiperatividade simpática, como observada em indivíduos com hipertensão essencial, a banda de LF da FC apresenta maior potência quando comparada à banda de LF de indivíduos normotensos (Guzzetti e cols., 1988). De maneira análoga, numa situação de hiperatividade simpática aguda observada durante a manobra de oclusão coronariana em ratos (Rimoldi e cols., 1990), ou durante a manobra de ortostatismo passivo, observou-se um aumento na potência de LF da FC (Pagani e cols., 1991), o que sugere uma importante influência do simpático sobre a banda de LF da FC. Assim, os resultados do presente estudo não são consistentes com aqueles obtidos em situações de hiperatividade simpática. Levando-se em consideração que a relação LF/HF provê um índice do balanço simpato-vagal (Task Force, 1996), sugere-se que os animais hipertensos L-NAME 2 e 14 dias não apresentam hiperatividade simpática cardíaca. Além disso, a ausência de taquicardia basal observada nos ratos hipertensos L-NAME está de acordo com a ausência de hiperatividade simpática nesse modelo.

Variabilidade da pressão arterial

No presente estudo, a variância das séries de PAS mostrou que ratos hipertensos L-NAME 14 dias apresentaram maior variabilidade que os ratos normotensos e os ratos hipertensos L-NAME 2 dias. E, a exemplo da FC, a literatura é escassa quanto aos dados de variância da PAS no modelo de hipertensão arterial induzida por L-NAME. Entretanto, foi demonstrado que o tratamento com L-NAME aumentou a variância da PAS, e que este evento parece estar relacionado a lesões vasculares neste modelo de hipertensão (Wang e cols., 2005). O presente estudo também corrobora os resultados de Blanc e cols. (1994) e Miao e cols. (2001), os quais observaram aumento da variância da PAS em ratos tratados durante 4 semanas com L-NAME. Geralmente, a hipertensão, tanto em humanos (Pagani e cols., 1988), quanto em animais, por exemplo, na hipertensão “2 rins, um clipe” e “DOCA sal” apresentam aumento da variabilidade da PAS (Wang e cols., 2005). Entretanto, não se sabe, ainda, qual o mecanismo responsável pelo aumento da variância da PAS no modelo de hipertensão L-NAME.

O estudo da variabilidade da PAS no domínio da frequência mostrou que a banda de LF da PAS não foi diferente entre os animais normotensos, e os animais hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. Oscilações de baixa frequência presentes na PAS, também conhecidas como ondas de Mayer, estão relacionadas principalmente com a modulação simpática do tônus vascular (Pagani e cols., 1986; Julien e cols., 1995). Esta modulação depende da integridade da porção aferente e eferente simpática do barorreflexo. Uma vez que, a desnervação sinoaórtica (Julien e cols., 1995), e a simpatectomia diminuem, consideravelmente, a potência da banda de LF da PAS (Rimoldi e cols., 1990; Julien e cols., 1995).

Já foi demonstrado que o NO também interfere com a variabilidade da PA, atuando como um agente tamponador da banda de LF da PAS, uma vez que a administração aguda de L-NAME provocou o aumento da potência dessa banda em cães acordados (Nafz e cols., 1997). Por outro lado, a inibição aguda de NO, em ratos e em seres humanos, levou à diminuição da banda de LF da PAS (Gouedárd e cols., 1996; Cordero e cols., 1994; Castellano e cols., 1995). Entretanto, sabe-se que a administração aguda de inibidores da síntese de NO inibem a atividade simpática pelo mecanismo barorreflexo, decorrente do aumento da PA (Ramchandra e cols., 2006), razão pela qual se observou diminuição da potência da banda de LF. Assim, a contradição entre os exemplos supracitados, bem como em relação aos presentes resultados deve estar relacionada à duração do tratamento com o L-NAME, ou com a espécie estudada. Além disso, a literatura é relativamente pobre quanto aos efeitos da inibição crônica da síntese de NO sobre a variabilidade da PA.

Levando-se em consideração que a banda de LF da PAS reflete, sobremaneira, a modulação simpática vascular, os resultados obtidos pela análise espectral da PAS dos animais hipertensos L-NAME levam a crer que não haja hiperatividade simpática neste modelo de hipertensão arterial. Pois, do contrário, numa situação de hiperatividade simpática, como por exemplo, na hipertensão essencial em humanos, observa-se uma elevada potência da banda de LF da PAS (Pagani e cols., 1985). De maneira semelhante, modelos experimentais de hiperatividade simpática, como por exemplo, a insuficiência cardíaca (Rondon e cols., 2006) e o modelo SHR (Silva e cols., 2001) também apresentam aumento da banda de LF da PAS. Neste sentido, a terapia anti-hipertensiva com administração de simpaticolíticos reduziu a potência da banda de LF da PAS de animais com hipertensão arterial “2 rins 1 clipe” (Nobre e cols., 2006), assim como no modelo

SHR (Silva e cols., 2001). Em contrapartida, os resultados obtidos no presente estudo não são consistentes com aqueles obtidos nos modelos de hiperatividade simpática supracitados. O que sugere que a atividade simpática vascular não está aumentada neste modelo de hipertensão arterial.

Avaliação da atividade simpática

Dosagem do conteúdo renal de noradrenalina

Dentre os métodos que permitem examinar o papel da atividade simpática em diferentes condições experimentais, destacam-se a medida do nível plasmático (Reinhart e cols., 1997; Liu e cols., 1998; Scrogin e cols., 1998), ou a técnica do “spillover” plasmático de catecolaminas, também realizada em humanos (Esler e cols., 1981; Ferrier e cols., 1993; Schlaich e cols., 2004), e, o estudo do conteúdo tecidual (Scrogin, e cols., 1998; Matsuoka e cols., 1994), ou do “spillover” tecidual (Garófalo e cols., 1996) de noradrenalina. O “spillover” total da noradrenalina está aumentado em torno de 40% na hipertensão essencial, e, metade deste aumento é devido aos níveis renais de noradrenalina, o que sugere uma hiperatividade seletiva para este órgão (Esler e cols., 1990). Estudos em animais mostraram que a desnervação renal atenuou a magnitude da hipertensão ou retardou o desenvolvimento de hipertensão arterial em diferentes modelos experimentais, como no SHR (Kleine e cols., 1978), e no modelo um rim (Vari e cols., 1986). Assim, parece existir uma relação muito estreita entre a atividade simpática para os rins e a regulação crônica da PA.

Com base em relatos de que o rim é um dos principais determinantes dos níveis totais de catecolaminas no organismo (Esler e cols., 1988), o presente estudo

utilizou a técnica da dosagem renal de noradrenalina como método auxiliar para a avaliação da atividade simpática no modelo de hipertensão arterial induzida por L-NAME, e também, com a finalidade de complementar os resultados da atividade simpática obtidos pelo registro da ANSR. No presente estudo, o conteúdo renal de noradrenalina não foi diferente entre os ratos normotensos e os ratos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. De forma semelhante, Scrogin e cols.(1998), e Matsuoka e cols.(1994), os quais trataram ratos com L-NAME durante 1 e 4 semanas, também não observaram diferença entre animais hipertensos e animais normotensos. Isso indica a ausência de hiperatividade simpática renal neste modelo de hipertensão arterial.

Os resultados obtidos no presente estudo encontram respaldo, ainda, em estudos que utilizaram a medida da noradrenalina plasmática como método de avaliação da atividade simpática, em ratos com hipertensão L-NAME, e mostraram que não houve diferença no conteúdo de noradrenalina plasmática entre os animais normotensos e os animais hipertensos L-NAME (Reinhart e cols., 1997; Liu e cols., 1998; Scrogin e cols., 1998).

Registro da ANSR

O registro direto da atividade de nervos simpáticos tem sido uma ferramenta de grande importância para acessar o papel do sistema nervoso simpático sobre o controle cardiovascular (Burke e cols., 2003). O registro de nervos multifibras, em animais acordados, tem sido realizado em várias espécies animais (Dorward e cols., 1985; Gross e Kirchheim, 1980; Riedel e cols., 1982) e também, em humanos (Sundlöf e Wallen , 1978; Hogarth e cols., 2007). O nervo simpático renal tem sido extensamente utilizado em diversos modelos experimentais, como na insuficiência

cardíaca (Koba e cols., 2006; Zucker e cols., 2004), obesidade (Schereiholfer e cols., 2007), e, inclusive, na hipertensão arterial L-NAME (Ramchandra e cols; 2007). Uma grande parte dos trabalhos que examinou o controle barorreflexo da atividade eferente simpática, em animais acordados, o fez por meio do registro da ANSR (DiBona e cols., 1996; Malpas e cols., 2006; Ramchandra e cols., 2007; Kanbar e cols., 2008). Acredita-se que esta preferência pelo registro da ANSR seja devido à característica do nervo, o qual é constituído quase que exclusivamente por fibras pós-ganglionares (Ramchandra e cols., 2006). Assim, no presente estudo, a atividade simpática foi igualmente avaliada por meio do registro da ANSR, em ratos acordados.

A atividade média basal do nervo simpático renal foi quantificada como a porcentagem da atividade máxima obtida após o estímulo com a administração (i.v) de nitroprussiato de sódio. Os resultados da ANSR mostraram que a atividade basal não diferiu entre os ratos normotensos e os hipertensos L-NAME 2 e 14 dias. Em contrapartida, Sakuma e cols. (1992) mostraram que a administração endovenosa de N-metil-L-arginina, um bloqueador inespecífico da NOS, provocou aumento da ANSR. Entretanto, este inibidor foi administrado de forma aguda, e em ratos anestesiados. Já se sabe que os anestésicos, de uma maneira geral, afetam as respostas reflexas cardiovasculares (Shimokawa e cols., 1998). Desta forma, no presente estudo, os resultados da ANSR obtidos em ratos acordados, normotensos e hipertensos L-NAME 2 e 14 dias, são consistentes com os resultados de Ramchandra e cols. (2007), os quais utilizaram o método de telemetria para acompanhar as respostas da PA e da ANSR em coelhos acordados, durante 1 semana de tratamento com L-NAME. Neste estudo não foi observada qualquer alteração da atividade do nervo simpático renal, apesar do aumento da PA

(Ramchandra e cols., 2007). Todavia, o fato de que no presente estudo não foi observada alteração da atividade simpática no modelo de hipertensão L-NAME em ratos acordados que apresentaram elevações da PAM da ordem de 30 mmHg, aos 2 e 14 dias de tratamento, afasta um possível efeito negativo devido à espécie estudada ou devido aos níveis de PA atingidos por Ramchandra e cols. (2007). Porém, tanto o estudo de Ramchandra e cols. (2007) em coelhos acordados, e os do presente estudo em ratos, também acordados, não afasta a hipótese de que o nervo renal possa não ser a melhor referência para o estudo da atividade simpática no controle cardiocirculatório. Uma vez que, há relatos da existência de um controle diferencial da atividade simpática para diferentes leitos vasculares (Barman e cols. 1984; Morrison, 2001; Ramchandra e cols., 2006).

Assim, os resultados obtidos no presente estudo se opõem àqueles obtidos por meio de métodos indiretos para avaliar a atividade simpática no modelo de hipertensão L-NAME. Por exemplo, Matsuoka e cols.(1994) sugeriram a participação do nervo renal no modelo de hipertensão L-NAME uma vez que a desnervação renal bilateral retardou o início da hipertensão. Por outro lado, Sander e cols. (1997), e Biancardi e cols. (2007) propuseram a existência de hiperatividade simpática ao observar maior queda de PA nos animais hipertensos L-NAME, após administração de um bloqueador ganglionar.

Não se pode excluir, também, a possibilidade de que animais tratados com L-NAME apresentem uma alteração da reatividade vascular a níveis normais de atividade simpática. Uma vez que, estudos *in vitro* mostraram que a artéria mesentérica de ratos tratados com L-NAME apresentou maior resposta constrictora do que a artéria de ratos normotensos exposta à mesma concentração de fenilefrina (Navarro-Cid e cols., 1996). Vials e cols. (1997) mostraram que a resposta

vasoconstrictora à eletroestimulação da artéria renal, ou à administração de noradrenalina, foi maior quando o L-NAME foi adicionado ao banho. De forma análoga, Bernátová e cols. (2002) mostraram que anéis de aorta de animais tratados cronicamente com L-NAME apresentaram maior resposta de contração que os anéis de aorta de animais normotensos, quando submetidos a uma mesma concentração de noradrenalina.

Controle barorreflexo da ANSR

Poucos estudos foram realizados para se caracterizar o fenômeno da adaptação do barorreflexo no controle da atividade simpática de animais com hipertensão L-NAME. Entretanto, esta abordagem já foi demonstrada por meio do registro da atividade do nervo simpático renal em coelhos (Ramchandra e cols., 2007), e ratos (Scrogin e cols., 1994) acordados com hipertensão L-NAME.

Os resultados do presente estudo mostraram que ratos com hipertensão L-NAME 2 e 14 dias apresentaram adaptação do barorreflexo no controle da ANSR, como observado pelo deslocamento à direita da curva de PAM versus ANSR, e também uma diminuição da sensibilidade barorreflexa no grupo L-NAME 14 dias.

A exemplo do observado no presente estudo, há dados na literatura que mostraram adaptação do controle barorreflexo da ANSR, acompanhada de diminuição da sensibilidade do mesmo, sem alteração da faixa de ANSR, tanto em coelhos (Ramchandra e cols., 2007), como em ratos (Scrogin e cols., 1994) acordados tratados com L-NAME durante 1 ou 5 semanas. Por outro lado, Souza e cols. (2001) e Lantelme e cols. (1994) observaram, também, adaptação do controle barorreflexo da FC associada à diminuição da sensibilidade, sem alteração da faixa de FC, em ratos com hipertensão arterial L-NAME após o

tratamento durante 1 e 4 semanas. Assim, é provável que a inibição da síntese de NO contribua com as alterações do barorreflexo induzidas pela hipertensão arterial, como sugerido por Wang e cols. (2005), os quais observaram que ratos com hipertensão L-NAME apresentam uma sensibilidade barorreflexa menor do que a de ratos com hipertensão renal “2 rins, 1 clipe”, ou hipertensão DOCA sal.

Por outro lado, o presente estudo mostrou que o tratamento com L-NAME durante 2 dias não alterou a sensibilidade do barorreflexo no controle da ANSR, como também observado após 3 dias de hipertensão L-NAME em coelhos acordados (Ramchandra e cols., 2007). Assim, pode-se concluir que a elevação mantida da PA durante 2 dias de tratamento com L-NAME não foi suficiente para alterar a sensibilidade barorreflexa, em contraposição à hipertensão obtida após 14 dias de tratamento. Como o NO inibe a mitogênese e a proliferação de células musculares lisas em cultura (Garg e Hassid, 1989), a inibição crônica deste mecanismo, ao contrário da aguda, deve afetar a distensibilidade vascular e, conseqüentemente, a interação entre a fibra muscular lisa do vaso e a terminação barorreceptora (McCubbin e cols., 1956; Nosaka e cols., 1972; Andresen e cols., 1984). Além disso, sabe-se que a hipertensão arterial prolongada altera a complacência vascular, e, conseqüentemente, interfere com a transdução mecanoelétrica do barorreceptor (Andresen e cols., 1980), a qual deve estar envolvida no mecanismo de adaptação e diminuição da sensibilidade do barorreflexo (Chapleau e cols., 1995). Todavia, não se sabe, ainda, se as alterações do barorreflexo presentes no modelo de hipertensão arterial induzida por L-NAME se devem a alterações na aferência, no centro integrador ou na eferência deste arco reflexo, como ressaltado, há aproximadamente uma década, por Souza e cols. (2001).

Em síntese, os resultados obtidos no presente estudo são consistentes com observações feitas por Scrogin e cols. (1994), em ratos acordados tratados durante 5 semanas com L-NAME, e Ramchandra e cols. (2007), em coelhos, também acordados, tratados durante 1 semana com L-NAME, os quais mostraram adaptação e diminuição da sensibilidade no controle barorreflexo, sem alteração da faixa da ANSR.

Conclusão

6.0 CONCLUSÕES

A hipertensão arterial induzida pelo L-NAME apresentou os seguintes aspectos:

- Hipertensão arterial desde as primeiras 48h de tratamento;
- Não apresentou alteração da frequência cardíaca;
- Não apresentou alteração do balanço simpato-vagal (LF/HF) cardíaco, mas induziu aumento na variância da PAS no grupo hipertenso L-NAME 14 dias;
- Não mostrou alteração do conteúdo de noradrenalina renal;
- Não apresentou hiperatividade simpática no 2º ou 14º dia de tratamento;
- Apresentou adaptação do barorreflexo no controle da ANSR com diminuição da sensibilidade somente no 14º dia de tratamento.

Referências bibliográficas

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Abboud FM, Thames MD.** Interaction of cardiovascular reflexes in circulatory control. Em: Handbook of Physiology: peripheral circulation and organ blood flow, ed. Shepherd JT, Abboud FM 2: 675-754, *American Physiological Society*, Bethesda, Maryland, 1983.
2. **Akserold S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Barger AC, Cohen RJ.** Power spectrum analysis of heart fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213: 220-2, 1981.
3. **Andresen MC, Kuraoka S, Brown AM.** Baroreceptor function and changes in strain sensitivity in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* Dec;47(6):821-8, 1980.
4. **Andresen MC.** Short- and long-term determinants of baroreceptor function in aged normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* Jun; 54(6):750-9, 1984.
5. **Arnal J-F, Warin L, Michel J-B.** Determinants of aortic cyclic guanosine monophosphate in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthase. *J. Clin. Invest.* 90: 647-652, 1992.
6. **Augustyniak RA, Victor RG, Morgan DA and Zhang W.** L-NAME and ADMA-induced sympathetic neural activation in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R726-R732, 5 A.D.
7. **Banting JD, Wiseman SL, Adams MA.** Hypertension without cardiac hypertrophy does not induce a cardiac baroreflex deficit. *J Hypertension* 14:1209-1214, 1996.
8. **Barman SM, Gebber GL, Calaresu FR.** Differential control of sympathetic nerve discharge by the brain stem. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 247:R513-R519, 1984.
9. **Baylis C, Mitruka B, Deng .** Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J. Clin. Invest.* 90: 278-281, 1992.
10. **Bergamaschi CT, Campos RR and Lopes OU.** Rostral ventrolateral medulla : A source of sympathetic activation in rats subjected to long-term treatment with L-NAME. *Hypertension* 34: 744-747, 1999.

11. **Bernatová I, Pechánová O, Babál P, Kyselá S, Stvrtina S, Andriantsitohaina R.** Wine polyphenols improve cardiovascular remodeling and vascular function in NO-deficient hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282:H942-H948, 2002.
12. **Biancardi VC, Bergamaschi CT, Lopes OU and Campos RR.** Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. *Braz J Med Biol Res* 40: 401-408, 2007.
13. **Blanc J, Ponchon P, Laude D, Elghozi J-L, Jover B.** Blood pressure variability in established L-NAME hypertension in rats. *J Hypertens.* 17: 1527-1534, 1999.
14. **Burke SL, Head GA.** Method for in vivo calibration of renal sympathetic nerve activity in rabbits. *J Neurosci Methods* 127:63-74, 2003.
15. **Caltellano M, Rizzoni D, Beschi M.** Relationship between sympathetic nervous system activity, baroreflex and cardiovascular effects after acute nitric oxide synthesis inhibition in humans. *J Hypertension* 13:1153-61, 1995.
16. **Cerutti S, Gustin MP, Paultre CZ, Lo M, Julien C, Vicent M, Sassard J.** Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analyses approach. *Am. J. Physiol.* 261 (Heart Circ. Physiol. 30): H1292-H1299, 1991.
17. **Chapleau MW and Abboud FM.** Neuro-cardiovascular regulation: from molecules to man. Introduction. *Ann N Y Acad Sci* 940: xiii-xxii, 2001.
18. **Chapleau MW, Cunningham JT, Sullivan MJ, Wachtel RE, Abboud FM.** Structural versus functional modulation of the arterial baroreflex. *Hypertension* Aug; 26(2):341-7, 1995.
19. **Cordero JJ, González J, Feria M.** Effects of N^w-Monomethyl-L-Arginine on short-term RR interval and systolic blood pressure oscillations. *J Cardiovasc Pharmacol* 24:323-327, 1994.
20. **Cunha RS, Cabral AM, Vasquez EC.** Evidence that the autonomic nervous system plays a mayor role in the L-NAME induced hypertension in conscious rats. *Am J Hypertension* 6:806-09, 1993.
21. **Di Vianna A, Braga AM, Laterza MC, Veno LM, Rondon MV, Baretto AC, Middlekauff HR, Negrão CE.** Blunted muscle vasodilatation during chemoreceptor stimulation in patients with heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H846–H852, 2007 on September 4, 2007 .
22. **DiBona GF, Jones SY, Sawin LL.** Effect of endogenous angiotensin II on renal nerve activity and its arterial baroreflex regulation. *Am J Physiol* 271 (Regulatory Integrative Physiol. 40): R361-R367, 1996.

23. **Donohue SJ, Stitzel RE, Head RJ.** Time course of changes in the norepinephrine content of tissues from spontaneously hypertensive and wistar Kyoto rats. *J Pharmacol Exp Ther* Vol. 245, 1:24-31, 1987.
24. **Dorward PK, Riedel W, Burke SL, Gipps J, Korner PI.** The renal sympathetic baroreflex in the rabbit. Arterial and cardiac baroreceptor influences, resetting, and effect of anesthesia. *Circ Res* 57:618-633, 1985.
25. **Elfering SL, Sarkela TM e Giulivi C.** Biochemistry of mitochondrial nitric-oxide synthase. *The journal of biological chemistry.* 277, 41: 38079-38086, 2002.
26. **Esler M, Jackman G, Bobik A, Leonard P, Kelleher D, Skews H, Jennings G, Korner P.** Norepinephrine kinetics in essential hypertension. Defective neuronal uptake of norepinephrine in some patients. *Hypertension* 3:149-156, 1981.
27. **Esler M, Jennings G, Biviano B, Lambert G, Hasking G.** Mechanism of elevated plasma noradrenaline in the course of essential hypertension. *J Cardiovas Pharmacol* 8 (suppl 5):S39-S43, 1986.
28. **Esler M, Jennings G, Korner P, Willet I, Dudley F, Hasking G, Anderson W, Lambert G.** Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension* Vol.11 n°1:3-20, 1988.
29. **Esler M, Lambert G, Jennings G.** Increased regional sympathetic nervous activity in human hypertension: causes and consequences. *J Hypertension suppl Dec;* 8(7):S53-S57, 1990.
30. **Ferrier C, Cox H, Esler M.** Elevated total body noradrenaline spillover in normotensive members of hypertensive families. *Clin Science* 84:225-230, 1993.
31. **Furchgott RT e Zawadzki JV.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 288: 373-376, 1980.
32. **Furlan R, Guzzetti S, Crivellaro W, Dassi Simonetta, Tinelli M, Baselli G, Cerutti S, Lombardi F, Pagani M, Malliani A.** Continuous 24-hour assessment of the neural regulation of systemic arterial pressure and RR variabilities in ambulant subjects. *Circulation* 81:537-547, 1990.
33. **Fushimi H, Inoue T, Namikawa H, Kishino B, Nishikawa M, Tochino Y, Funakawa S.** Increased norepinephrine content in diabetic rat heart. *J Biochem* 91:1805-07, 1982.

34. **Garg UC, Hassid A.** Nitric oxide-generating vasodilators and 8-Bromo-Cyclic Guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* May. Vol.83:1774-1777, 1989.
35. **Garófalo MAR, Kettelhut IC, Roselino JES, Migliorini RH.** Effect of acute cold exposure on norepinephrine turnover rates in White adipose tissue. *J Auton Nerv Sys* 60:206-08, 1996.
36. **Garthwaite J.** Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci* , 60-67. 1991.
- Granger J, Novak J, Schnackenberg C, Williams S and Reinhart GA.** Role of renal nerves in mediating the hypertensive effects of nitric oxide synthesis inhibition. *Hypertension* 27: 613-618, 1996.
37. **Gross R, Kirchheim.** Effects os bilateral carotid occlusion and auditory stimulation on renal blood flow and sympathetic nerve activity in conscious dog. *Pfügers Arch* 383:233-39, 1980.
38. **Guidelines.** Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task force of The European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *European Heart Journal* 17:354-381, 1996.
39. **Guoedard O, Blanc J, Gaudet E, Ponchon P, Elghozi JL.** Contribution of renin-angiotensin system to short-term blood pressure variability during blockade of nitric oxide synthesis in the rat. *Br J Pharmacol* 119: 1085-92, 1996.
40. **Guzzetti S, Piccaluga E, Casati R, Cerutti S, Lombardi F, Pagani M, Malliani A.** Sympathetic predominance in essential hypertension: a study employing spectral analysis of heart rate variability. *J. Hypertension* 6:711-717, 1988.
41. **Hirai T, Musch TI, Morgan DA, Kregel KC, Claassen DE, Pickar JG, Lewis SJ and Kenney MJ.** Differential sympathetic nerve responses to nitric oxide synthase inhibition in anesthetized rats. *Am J Physiol* 269: R807-R813, 1995.
42. **Hogarth AJ, Mackintosh AF, Mary DA.** The effect of gender on the sympathetic nerve hyperactivity of essential hypertension *J. Hum Hypertension*. Mar; 21(3): 239-45, 2007.
43. **Hu CT, Chang KC, Wu CY and Chen HI.** Acute effects of nitric oxide blockade with L-NAME on arterial haemodynamics in the rat. *Br J Pharmacol* 122: 1237-1243, 1997.
44. **Ignarro LJ.** Nitric oxide: a unique endogenous signaling molecule in vascular biology. *Biosc. Rep.* Apr 19 (2): 51-71, 1999.

45. **Irving H. Zucker, Kaushik P. Patel, Harold D. Schultz, Yi-Fan Li, Wei Wang, and Rainer U. Pliquett.** Exercise training and sympathetic regulation in experimental heart failure. *Exerc Sport Sci Rev*, Vol. 32, 3:107–111, 2004.
46. **Julien C, Zhang Z-Q, Cerutti C, Barrès C.** Hemodynamic analysis of arterial pressure oscillations in conscious rats. *J Auton Nerv Sys* 50:239-252, 1995.
47. **Kagiyama S, Tsuchihashi I, Abe I, Fujishima M.** Cardiovascular effects of nitric oxide in the rostral ventrolateral medulla of rats. *Brain Res* May 16; 757 (1): 155-8, 1997.
48. **Kanbar R, Chapuis B, Oréa V, Barres C, Julien C. Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats.** *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* Jul;295(1):R8-R14, 2008.
49. **Kanbar R, Orea V, Barres C and Julien C.** Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R362-R367, 2007.
50. **Kassab S, Kato T, Wilkins FC, Chen R, Hall JE, Granger JP.** Renal denervation attenuates the sodium retention and hypertension associated with obesity. *Hypertension* 25:893-897, 1995.
51. **Kline RL, Kelton PM, Mercer PF.** Effect of renal denervation on the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol* 56:818-822, 1978.
52. **Kline RL, Stuart PJ, Mercer PF.** Effect of renal denervation on arterial pressure and renal norepinephrine concentration in wistar-kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol* 58:1384-88, 1980.
53. **Koba S, Gao Z, Xing J, Sinoway LI, Li J.** Sympathetic responses to exercise in myocardial infarction rats: a role of central command. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Dec; 291(6):H2735-42, 2006.
54. **Krieger EM, Salgado HC and Michelini LC.** Resetting of the baroreceptors. *Int Rev Physiol* 26: 119-146, 1982.
55. **Krstulović AM.** Investigations of catecholamine metabolism using high-performance liquid chromatography: analytical methodology and clinical applications. *J Chromatogr*. Apr 16; 229(1):1-34, 1982.
56. **Krukoff TL.** Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions. *Brain Res Brain Res Rev* 30: 52-65, 1999.

57. **Lantelme P, Lo M, Sassard J.** Decreased cardiac baroreflex sensitivity is not due to cardiac hypertrophy in N^G-nitro-L-arginine methyl Ester-induced hypertension. *J Hypertens*. 12: 791-795, 1994.
58. **Laties A and Zrenner E.** Viagra (sildenafil citrate) and ophthalmology. *Prog Retin Eye Res* 21: 485-506, 2002.
59. **Liu Y, Tsuchihashi T, Kagiya S, Matsumura K, Abe I and Fujishima M.** Central and peripheral mechanisms involved in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthase in rats. *J Hypertens* 16: 1165-1173, 1998.
60. **Ma X, Abboud FM and Chapleau MW.** Neurocardiovascular regulation in mice: experimental approaches and novel findings. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 30: 885-893, 2003.
61. **Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S.** Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* Vol. 84, 2:482-492, 1991.
62. **Malpas SC, Ramchandra R, Guild SJ, McBryde F and Barrett CJ.** Renal sympathetic nerve activity in the development of hypertension. *Curr Hypertens Rep* 8: 242-248, 2006.
63. **Malpas SC.** What sets the long-term level of sympathetic nerve activity? Is there a role for arterial baroreceptors? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R1-R12, 2004.
64. **Marin E and Sessa WC.** Role of endothelial-derived nitric oxide in hypertension and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 16: 105-110, 2007.
65. **Marquadt DW.** An algorithm for least-squares estimates of non-linear parameters. *J. Soc. Ind. Appl. Math.* 11: 431-441, 1967.
66. **Matsumura K, Tsuchihashi I, Kagiya S, Abe I, Fujishima M.** Role of nitric oxide in nucleus of the solitary tract of rats. *Brain Res* Jul 6; 798 (1-2): 223-8, 1998.
67. **Matsuoka H, Nishida H, Nomura G, Van Vliet BN and Toshima H.** Hypertension induced by nitric oxide synthesis inhibition is renal nerve dependent. *Hypertension* 23: 971-975, 1994.
68. **McCubbin JW, Green JH, Page IH.** Baroreceptor function in chronic renal hypertension. *Circ Res* 1956 Mar;4(2):205-10.
69. **Menniti FS, Faraci WS and Schmidt CJ.** Phosphodiesterases in the CNS: targets for drug development. *Nat Rev Drug Discov* 5: 660-670, 2006.

70. **Miao C-Y, Shen F-M, Su D-F.** Blood pressure variability is increased in genetic hypertension and L-NAME induced hypertension. *Acta Pharmacol Sin.* Feb; 22 (2): 137-140, 2001.
71. **Morrisson SF.** Differential control of sympathetic outflow. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281:R698-R698, 2001.
72. **Murad F.** The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system for intracellular and intercellular communication. *Recent Prog Horm Res* 49:239-48, 1994 (Resumo).
73. **Murthy KS.** Activation of phosphodiesterase 5 and inhibition of guanylate cyclase by cGMP-dependent protein kinase in smooth muscle. *Biochem J* 360: 199-208, 2001.
74. **Nafz B, Wagner CD, Persson PB.** Endogenous nitric oxide buffers blood pressure variability between 0.2 and 0.6 Hz in conscious rat. *Heart Circ Physiol* 41:H632-H637, 1997.
75. **Navarro-Cid J, Maeso R, Rodrigo E, Muñoz-García R, Ruilope LM, Lahera V, Cachofeiro V.** Renal and Vascular consequences of the chronic nitric oxide synthase inhibition. Effects of antihypertensive drugs. *Am J Hypertension* 9:1077-1083, 1996.
76. **Ng CW, De MR and Badoer E.** Effect of muscimol and L-NAME in the PVN on the RSNA response to volume expansion in conscious rabbits. *Am J Physiol Renal Physiol* 287: F739-F746, 2004.
77. **Nobre F, Silva CAA, Coelho EB, Salgado HC, Fazan Jr. R.** Antihypertensive agents have different ability to modulate arterial pressure and heart rate variability in 2K1C rats. *Am J Hypertension* 19:1079-1083, 2006.
78. **Nosaka S, Wang SC.** Carotid sinus baroreceptor functions in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol* 222 (5):1079-1084, 1972.
79. **Pagani M, Furlan R, Dell'Orto S, Pizzinelli P, Baselli G, Cerutti S, Lombardi F, Malliani A.** Increased regional sympathetic nervous activity in human hypertension: causes and consequences. *J Hypertens Suppl* Dec;8(7):S53-S57, 1985.
80. **Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandrone G, Malfatto G, Dell'Orto S, Piccaluga E, Turiel M, Baselli G, Cerutti S, Malliani A.** Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympato-vagal interaction in man and conscious dog. *Circulation Research* 59: 178-193, 1986.

81. **Pagani M, Somers V, Furlan R, Dell'Orto S, Conway J, Baselli G, Cerutti S, Sleight P, Malliani A.** Changes in autonomic regulation induced by physical training in mild hypertension. *Hypertension* 12:600-10, 1988.
82. **Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S.** Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* Jun; Vol.333:664-6, 1988.
83. **Patel KP, Li YF and Hirooka Y.** Role of nitric oxide in central sympathetic outflow. *Exp Biol Med (Maywood)* 226: 814-824, 2001.
84. **Qiu C, Muchant D, Beierwaltes WH, Racusen L, Baylis C.** Evolution of chronic nitric oxide inhibition hypertension. *Hypertension* 31:21-26, 1998.
85. **Ramchandra R, Barret CJ, Guild SJ, McBryde F, Malpas SC.** Role of renal sympathetic nerve activity in hypertension induced by chronic nitric oxide inhibition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292:R1479-R1485, 2007.
86. **Ramchandra R, Barrett CJ and Malpas SC.** Nitric oxide and sympathetic nerve activity in the control of blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 32: 440-446, 2005.
87. **Ramchandra R, Barrett CJ, Guild SJ and Malpas SC.** Evidence of differential control of renal and lumbar sympathetic nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R701-R708, 2006.
88. **Randall M and Zusman MD.** Cardiovascular data on sildenafil introduction. 1999. *Nature*, vol.83, march 4, 1999.
Reinhart GA, Lohmeier TE, Mizelle HL. Temporal influence of the renal nerves on renal excretory function during chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Hypertension* Jan;29(1 Pt 2):199-204, 1997.
89. **Ribeiro MO, Antunes E, De NG, Lovisolo SM and Zatz R.** Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension* 20: 298-303, 1992.
90. **Riedel W, Kozawa E, Iriki M.** Renal and cutaneous vasomotor and respiratory rate adjustments to peripheral cold and warm stimuli and to bacterial endotoxin in conscious rabbits. *J Auton Nerv Sys* 5:177-194, 1982.
91. **Rimoldi O, Pierini S, Ferrari A, Cerutti S, Pagani M, Malliani A.** Analysis of short-term oscillations of R-R and arterial pressure in conscious dogs. *AM J Physiol* 285 (Heart Circ. Physiol. 27): H967-H976, 1990.
92. **Rondon E, Brasileiro-Santos MS, Moreira ED, Rondon MUPB, Mattos KC, Coelho MA, Silva GJJ, Brum PC, Fiorino P, Irigoyen MC, Krieger EM, Middlekauff HR, Negrão CE.** Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with

- ischemia-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2801-H2806, 2006.
93. **Rubens Fazan Júnior, Domitila A. Huber Carlos Alberto Aguiar Silva, Valdo José Dias da Silva, Maria Cristina O; Salgado Helio C. Salgado.** Sildenafil acts on the central nervous system increasing sympathetic activity. *J Appl Physiol* 104: 1683-9,2008.
 94. **Rumantir MS, Vaz M, Jennings GL, Collier G, Kaye DM, Seals DR, Wiesner GH, Rocca HP-B, Esler MD.** Neural mechanisms in human obesity-related hypertension. *J Hypertension* 17:1125-1133, 1999.
 95. **Sakuma I, Togashi H, Yoshioka M, Saito H, Yanagida M, Tamura M, Kobayashi T, Yasuda H, Gross SS and Levi R.** NG-methyl-L-arginine, an inhibitor of L-arginine-derived nitric oxide synthesis, stimulates renal sympathetic nerve activity in vivo. A role for nitric oxide in the central regulation of sympathetic tone? *Circ Res* 70: 607-611, 1992.
 96. **Sander M, Hansen J and Victor RG.** The sympathetic nervous system is involved in the maintenance but not initiation of the hypertension induced by N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester. *Hypertension* 30: 64-70, 1997.
 97. **Schlaich MP, Lambert E, Kaye DM, Krozowski Z, Campbell DJ, Lambert G, Hastings J, Aggarwall A, Esler MD.** Sympathetic augmentation in hypertension. Role of nerve firing, norepinephrine reuptake and angiotensin neuromodulation. *Hypertension* 43:169-175, 2004.
 98. **Scrogin HCD, Hatton DC, Chi Y, Luft FC.** Chronic nitric oxide inhibition with L-NAME: effects on autonomic control of the cardiovascular system. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 274: R367-R374, 1998.
 99. **Scrogin KE, Veelken R, Luft FR.** Sympathetic baroreceptor responses after chronic NG-Nitro-L-arginine methyl ester treatment in conscious rats. *Hypertension* 23:982-86, 1994.
 100. **Shimokawa A, Kunitake T, Takasaki M, Kannan H.** Differential effects of anesthetics on sympathetic nerve activity and arterial baroreceptor reflex in chronically instrumented rats. *J Auton Nerv Sys* 72:46-54, 1998.
 101. **Shreihof AM, Mandel DA, Mobley SC, Stepp DW.** Impairment of sympathetic baroreceptor reflex in obese Zucker rats. *Am J Physiol* 293: H2543-H2549, 2007.

102. **Silva VJD, Viana PCC, Alves RM, Salgado HC, Montano N, Fazan Jr. R.** Antihypertensive action of amiodarone in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 38:597-601, 2001.
103. **Souza HC, Ballejo G, Salgado MC, Da S, V and Salgado HC.** Cardiac sympathetic overactivity and decreased baroreflex sensitivity in L-NAME hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H844-H850, 2001.
104. **Sundlöf G, Wallin BG.** Muscle-nerve sympathetic activity in man. Relationship to blood pressure in resting normo- and hypertensive subjects. *Clin Sci Mol Med Suppl.* Dec; 4:387s-389s, 1978.
105. **Togashi H, Sakuma I, Yoshioka M, Kobayashi T, Yasuda H, Kitabatake A, Saito H, Gross SS, Levi R.** A central nervous system action of nitric oxide in blood pressure regulation. *J. Pharmacol Exp Ther* Jul; 262(1):343-7, 1992.
106. **Tseng CJ, Liu HY, Lin HC, Ger LP, Tung CS and Yen MH.** Cardiovascular effects of nitric oxide in the brain stem nuclei of rats. *Hypertension* 27: 36-42, 1996.
107. **Vari RC, Freeman RH, Davis JO, Sweet WD.** Role of renal nerves in rats with low-sodium, one-kidney hypertension. *Am J Physiol.* 250 (Heart Circ Physiol 19): H189-H194, 1986.
108. **Vasquez EC, Cunha RS and Cabral AM.** Baroreceptor reflex function in rats submitted to chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Braz J Med Biol Res* 27: 767-774, 1994.
109. **Vials AJ, Crowe R, Burnstock G.** A neuromodulatory role for neuronal nitric oxide in the rabbit renal artery. *Br J Pharmacol* 121:213-220, 1997.
110. **Wang D-S, Xie H-H, Shen F-M, Cai G-J, Su D-F.** Blood pressure variability, cardiac baroreflex sensitivity and organ damage in experimentally hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 32: 545-552, 2005.
111. **Whitesall SE, Hoff JB, Vollmer AP, D'Alecy LG.** Comparison of simultaneous measurement of mouse systolic arterial blood pressure by radiotelemetry and tail-cuff methods. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H2408-H2415, 2004.
112. **Yamada SS, Sasaki AL, Fujihara CK, Malheiros DM, De NG and Zatz R.** Effect of salt intake and inhibitor dose on arterial hypertension and renal injury induced by chronic nitric oxide blockade. *Hypertension* 27: 1165-1172, 1996.

113. **Yamada SS, Sasaki AL, Fujihara CK, Malheiros DM, De Nucci G, Zatz R.** Effect of salt intake and inhibitor dose on arterial hypertension and renal injury induced by chronic nitric oxide blockade. *Hypertension* May; 27(5):1165-72, 1996.
114. **Young JB, Saville E, Rothwell NJ, Stock MJ, Landsberg L.** Effect of diet and cold exposure on norepinephrine turnover in Brown adipose tissue of the rat. *J Clin Invest* May, 69:1061-71, 1982.
115. **Yuasa S, Li X, Hitomi H, Hashimoto M, Fujioka H, Kiyomoto H, Uchida K, Shoji T, Takahashi N, Miki S, Miyatake A, Mizushige K, Matsuo H.** Sodium sensitivity and sympathetic nervous system in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27:18-27, 2000.
116. **Zanchi A, Schaad NC, Osterheld MC, Grouzmann E, Nussberger J, Brunner HR and Waeber B.** Effects of chronic NO synthase inhibition in rats on renin-angiotensin system and sympathetic nervous system. *Am J Physiol* 268: H2267-H2273, 1995.
117. **Zaninger J.** Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular function. *Cardiovasc Res* 43: 639-649, 1999.
118. **Zhao H, Shimokawa H, Harasawa-Uragami L, Igarashi H, Takeshita A.** Long-term vascular effects of Nw-Nitro-L-arginine methyl ester are not solely mediated by inhibition of endothelial nitric oxide synthesis in the rat mesenteric artery. *J. Cardiovasc Pharmacol*, vol. 33, 4: 554-566, 1999.

8.0 APÊNDICE

Tabela 1: Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) medida na cauda de ratos normotensos tratados com água durante 2 dias.

| Rato | Antes | Após |
|--------------------|----------------|----------------|
| 1 | 114 | 105 |
| 2 | 107 | 107 |
| 3 | 117 | 107 |
| 4 | 112 | 111 |
| 5 | 105 | 108 |
| 6 | 107 | 107 |
| 7 | 110 | 114 |
| Média ± EPM | 110 ± 2 | 108 ± 1 |

Tabela 2: Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) medida na cauda de ratos hipertensos L-NAME 2 dias.

| Rato | Antes | Após |
|--------------------|----------------|------------------|
| 1 | 126 | 158 |
| 2 | 122 | 141 |
| 3 | 118 | 152 |
| 4 | 118 | 146 |
| 5 | 113 | 145 |
| 6 | 109 | 146 |
| 7 | 121 | 166 |
| Média ± EPM | 118 ± 2 | 150 ± 3 * |

* $p < 0,05$ comparado ao controle

Tabela 3: Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) medida na cauda de ratos normotensos tratados com água durante 14 dias.

| Rato | Antes | 1ª semana | 2ª semana |
|--------------------|----------------|------------------|------------------|
| 1 | 106 | 113 | 115 |
| 2 | 116 | 118 | 117 |
| 3 | 110 | 118 | 119 |
| 4 | 124 | 130 | 127 |
| 5 | 137 | 137 | 138 |
| Média ± EPM | 119 ± 5 | 123 ± 4 | 123 ± 4 |

Tabela 4: Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) medida na cauda de ratos hipertensos L-NAME 14 dias.

| Rato | Antes | 1ª semana | 2ª semana |
|--------------------|----------------|------------------|------------------|
| 1 | 110 | 122 | 167 |
| 2 | 112 | 152 | 166 |
| 3 | 120 | 163 | 179 |
| 4 | 114 | 165 | 171 |
| 5 | 123 | 156 | 163 |
| 6 | 129 | 153 | 153 |
| 7 | 129 | 161 | 156 |
| Média ± EPM | 119 ± 3 | 153 ± 5 * | 165 ± 3 * |

* p < 0,05 comparado ao controle

Tabela 5: Pressão arterial média (PAM, mmHg) de ratos acordados normotensos 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|-----------------|----------------|
| 1 | 114 | 100 |
| 2 | 114 | 117 |
| 3 | 108 | 101 |
| 4 | 110 | 96 |
| 5 | 121 | 109 |
| 6 | 122 | 114 |
| 7 | 122 | 102 |
| 8 | 105 | – |
| 9 | 97 | – |
| 10 | 114 | – |
| 11 | 115 | – |
| 12 | 118 | – |
| 13 | 122 | – |
| 14 | 108 | – |
| Média ± EPM | 115 ± 10 | 105 ± 3 |

Tabela 6 : Pressão arterial média (PAM, mmHg) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|--------------------|----------------|----------------|
| 1 | 132 | 139 |
| 2 | 137 | 135 |
| 3 | 149 | 160 |
| 4 | 145 | 151 |
| 5 | 138 | 142 |
| 6 | 133 | 136 |
| 7 | 156 | 137 |
| 8 | 152 | 169 |
| 9 | 130 | 151 |
| 10 | 140 | – |
| 11 | 137 | – |
| 12 | 142 | – |
| 13 | 131 | – |
| 14 | 135 | – |
| Média ± EPM | 139 ± 2 | 147 ± 4 |

Tabela 7 : Freqüência cardíaca (FC, bpm) de ratos acordados normotensos 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|-----------------|----------------|
| 1 | 309 | 413 |
| 2 | 383 | 355 |
| 3 | 394 | 349 |
| 4 | 400 | 384 |
| 5 | 408 | 398 |
| 6 | 421 | 382 |
| 7 | 354 | 363 |
| 8 | 371 | – |
| 9 | 362 | – |
| 10 | 395 | – |
| 11 | 450 | – |
| 12 | 357 | – |
| 13 | 444 | – |
| 14 | 364 | – |
| Média ± EPM | 387 ± 10 | 377 ± 8 |

Tabela 8 : Freqüência cardíaca (FC, bpm) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 412 | 352 |
| 2 | 393 | 371 |
| 3 | 313 | 362 |
| 4 | 409 | 340 |
| 5 | 367 | 362 |
| 6 | 337 | 339 |
| 7 | 491 | 467 |
| 8 | 367 | 428 |
| 9 | 530 | 365 |
| 10 | 366 | – |
| 11 | 384 | – |
| 12 | 399 | – |
| 13 | 368 | – |
| 14 | 340 | – |
| Média ± EPM | 391 ± 16 | 376 ± 14 |

Tabela 9: Variância do intervalo de pulso (IP, ms²) de ratos acordados normotensos 2 e 14 dias submetidos ao protocolo 1.

| Ratos | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|---------------|----------------|
| 1 | 19 | 16 |
| 2 | 44 | 19 |
| 3 | 29 | 25 |
| 4 | 29 | 16 |
| 5 | 18 | 10 |
| 6 | 37 | 20 |
| 7 | 34 | 24 |
| 8 | 30 | – |
| 9 | 12 | – |
| 10 | 18 | – |
| Média ± EPM | 27 ± 3 | 19 ± 2 |

Tabela 10: Variância do intervalo de pulso (IP, ms²) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 e 14 dias submetidos ao protocolo 1.

| Rato | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 35 | 16 |
| 2 | 15 | 20 |
| 3 | 30 | 14 |
| 4 | 18 | 22 |
| 5 | 20 | 11 |
| 6 | 17 | 24 |
| 7 | 21 | 15 |
| 8 | 12 | – |
| 9 | 19 | – |
| 10 | 24 | – |
| 11 | 33 | – |
| 12 | 18 | – |
| Média ± EPM | 21 ± 3 | 17 ± 2 |

Tabela 11: Variância da PAS (mmHg²) de ratos acordados normotensos 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|---------------|----------------|
| 1 | 8 | 12 |
| 2 | 44 | 7 |
| 3 | 25 | 12 |
| 4 | 26 | 25 |
| 5 | 19 | 13 |
| 6 | 10 | 13 |
| 7 | 11 | 7 |
| 8 | 23 | – |
| 9 | 16 | – |
| 10 | 6 | – |
| Média ± EPM | 19 ± 4 | 13 ± 2 |

Tabela 12: Variância da PAS (mmHg²) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 31 | 15 |
| 2 | 23 | 27 |
| 3 | 19 | 53 |
| 4 | 25 | 22 |
| 5 | 30 | 26 |
| 6 | 11 | 20 |
| 7 | 26 | 31 |
| 8 | 19 | – |
| 9 | 33 | – |
| 10 | 15 | – |
| 11 | 12 | – |
| 12 | 20 | – |
| Média ± EPM | 22 ± 2 | 28 ± 5 |

Tabela 13: Potência das bandas de LF (%), HF (%) e razão LF/HF (%) do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados normotensos 2 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | LF IP | HF IP | LF/HF IP |
|--------------------|---------------|---------------|-------------------|
| 1 | 10 | 90 | 0.1 |
| 2 | 9 | 91 | 0.1 |
| 3 | 22 | 78 | 0.3 |
| 4 | 15 | 85 | 0.2 |
| 5 | 7 | 93 | 0.1 |
| 6 | 14 | 86 | 0.2 |
| 7 | 15 | 85 | 0.2 |
| 8 | 25 | 75 | 0.4 |
| 9 | 25 | 75 | 0.3 |
| 10 | 8 | 92 | 0.1 |
| Média ± EPM | 15 ± 2 | 85 ± 2 | 0.2 ± 0.03 |

Tabela 14: Potência das bandas de LF (%), HF (%) e razão LF/HF (%) do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados normotensos 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | LF IP | HF IP | LF/HF IP |
|--------------------|---------------|---------------|-------------------|
| 1 | 13 | 87 | 0.2 |
| 2 | 11 | 89 | 0.1 |
| 3 | 7 | 93 | 0.1 |
| 4 | 19 | 81 | 0.3 |
| 5 | 9 | 91 | 0.1 |
| 6 | 14 | 86 | 0.2 |
| 7 | 11 | 89 | 0.1 |
| Média ± EPM | 12 ± 2 | 88 ± 2 | 0.2 ± 0.02 |

Tabela 15: Potência das bandas de LF (%), HF (%) e razão LF/HF (%) do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | LF IP | HF IP | LF/HF IP |
|--------------------|---------------|---------------|-------------------|
| 1 | 28 | 72 | 0.4 |
| 2 | 18 | 82 | 0.2 |
| 3 | 19 | 81 | 0.3 |
| 4 | 32 | 68 | 0.5 |
| 5 | 23 | 77 | 0.4 |
| 6 | 7 | 93 | 0.1 |
| 7 | 17 | 83 | 0.2 |
| 8 | 13 | 87 | 0.2 |
| 9 | 13 | 87 | 0.2 |
| 10 | 10 | 90 | 0.1 |
| 11 | 11 | 89 | 0.1 |
| 12 | 12 | 88 | 0.1 |
| Média ± EPM | 17 ± 2 | 83 ± 2 | 0.2 ± 0.03 |

Tabela 16: Potência das bandas de LF (%), HF (%) e razão LF/HF (%) do intervalo de pulso (IP) de ratos acordados hipertensos L-NAME 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | LF IP | HF IP | LF/HF IP |
|--------------------|---------------|---------------|-------------------|
| 1 | 5 | 95 | 0.1 |
| 2 | 12 | 88 | 0.1 |
| 3 | 10 | 90 | 0.1 |
| 4 | 12 | 88 | 0.1 |
| 5 | 11 | 89 | 0.1 |
| 6 | 25 | 75 | 0.4 |
| 7 | 6 | 94 | 0.1 |
| Média ± EPM | 12 ± 2 | 88 ± 2 | 0.1 ± 0.04 |

Tabela 17: Potência da banda de LF (mmHg^2/Hz) da PAS de ratos acordados normotensos 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1 | 2795 | 5145 |
| 2 | 10019 | 2404 |
| 3 | 8712 | 2964 |
| 4 | 10626 | 8355 |
| 5 | 2906 | 4812 |
| 6 | 706 | 3740 |
| 7 | 1740 | 1255 |
| 8 | 8589 | – |
| 9 | 7382 | – |
| 10 | 2148 | – |
| Média ± EPM | 5562.3 ± 1213.173 | 4097.5 ± 874.1285 |

Tabela 18: Potência da banda de LF (mmHg^2/Hz) da PAS de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|-----------------------------------|---------------------------------------|---|
| 1 | 12395 | 2121 |
| 2 | 3567 | 8407 |
| 3 | 1710 | 15347 |
| 4 | 10448 | 7125 |
| 5 | 11916 | 8786 |
| 6 | 3160 | 4762 |
| 7 | 4518 | 7166 |
| 8 | 3522 | – |
| 9 | 10212 | – |
| 10 | 3840 | – |
| 11 | 2512 | – |
| 12 | 6781 | – |
| Média \pm EPM | 6215.083 \pm 0.83 | 7673.429 \pm 1547.069 |

Tabela 19: Conteúdo de noradrenalina renal (NOR; ng/g) de ratos normotensos 2 e 14 dias submetidos protocolo 1.

| Rato | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|-----------------|-----------------|
| 1 | 156 | 104 |
| 2 | 58 | 92 |
| 3 | 90 | 181 |
| 4 | 175 | 123 |
| 5 | 107 | 114 |
| 6 | 153 | 122 |
| 7 | – | 147 |
| 8 | – | 122 |
| Média ± EPM | 123 ± 18 | 125 ± 10 |

Tabela 20: Conteúdo de noradrenalina renal (NOR; ng/g) de ratos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias e submetidos protocolo 1.

| Ratos | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 64 | 113 |
| 2 | 122 | 90 |
| 3 | 89 | 103 |
| 4 | 129 | 71 |
| 5 | 128 | 127 |
| 6 | – | 101 |
| 7 | – | 94 |
| 8 | – | 119 |
| 9 | – | 174 |
| Média ± EPM | 106 ± 12 | 110 ± 10 |

Tabela 21 : Pressão arterial média (PAM, mmHg) de ratos acordados normotensos 2 e 14 dias submetidos protocolo 2.

| Ratos | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|----------------|----------------|
| 1 | 118 | 126 |
| 2 | 115 | 106 |
| 3 | 123 | 106 |
| 4 | 110 | 98 |
| 5 | 101 | — |
| 6 | 107 | — |
| Média ± EPM | 112 ± 3 | 109 ± 6 |

Tabela 22 : Pressão arterial média (PAM, mmHg) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 e 14 dias submetidos protocolo 2.

| Ratos | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 137 | 148 |
| 2 | 139 | 144 |
| 3 | 143 | 131 |
| 4 | 152 | 148 |
| 5 | 145 | 152 |
| 6 | 152 | 147 |
| 7 | 132 | 155 |
| Média ± EPM | 143 ± 3 | 146 ± 3 |

Tabela 23 : Frequência cardíaca (FC, bpm) de ratos acordados normotensos 2 e 14 dias submetidos protocolo 2.

| Ratos | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|-----------------|-----------------|
| 1 | 446 | 447 |
| 2 | 459 | 397 |
| 3 | 389 | 408 |
| 4 | 416 | 399 |
| 5 | 446 | – |
| 6 | 373 | – |
| Média ± EPM | 422 ± 12 | 413 ± 12 |

Tabela 24 : Freqüência cardíaca (FC, bpm) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 e 14 dias submetidos protocolo 2.

| Rato | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 434 | 436 |
| 2 | 377 | 398 |
| 3 | 507 | 362 |
| 4 | 451 | 392 |
| 5 | 349 | 411 |
| 6 | 354 | 388 |
| 7 | 474 | 500 |
| Média ± EPM | 421 ± 23 | 412 ± 16 |

Tabela 25: Atividade espontânea do nervo simpático renal (ANSR, % da atividade máxima) de ratos acordados normotensos 2 e 14 dias submetidos protocolo 2.

| Rato | 2 dias | 14 dias |
|--------------------|---------------|----------------|
| 1 | 51 | 25 |
| 2 | 42 | 69 |
| 3 | 44 | 60 |
| 4 | 37 | 56 |
| 5 | 23 | – |
| 6 | 21 | – |
| Média ± EPM | 36 ± 5 | 52 ± 10 |

Tabela 26: Atividade espontânea do nervo simpático renal (ANSR, % da atividade máxima) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 e 14 dias submetidos protocolo 2.

| Ratos | L-NAME 2 dias | L-NAME 14 dias |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 55 | 54 |
| 2 | 48 | 28 |
| 3 | 31 | 32 |
| 4 | 35 | 22 |
| 5 | 24 | 44 |
| 6 | 35 | 48 |
| 7 | 49 | 55 |
| Média ± EPM | 40 ± 4 | 40 ± 5 |

Tabela 27: Parâmetros obtidos a partir da curva PAM versus ANSR: Ganho (% máx/mmHg), faixa (% máximo), PAM₅₀ (mmHg), PAM_{lim} (mmHg) e PAM_{sat} (mmHg) dos ratos acordados normotensos 2 dias submetidos protocolo 2.

| Rato | Ganho (%máx/mmHg) | Faixa (% máx) | PAM 50 (mmHg) | PAM_{lim} (mmHg) | PAM_{sat}(mmHg) |
|--------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1 | -3.7 | 59 | 111 | 119 | 100 |
| 2 | -4.3 | 71 | 117 | 125 | 106 |
| 3 | -4.7 | 66 | 107 | 113 | 97 |
| 4 | -4.0 | 90 | 115 | 126 | 100 |
| 5 | -2.5 | 63 | 101 | 114 | 85 |
| 6 | -2.2 | 107 | 85 | 111 | 56 |
| Média ± EPM | -3.6 ± 0.4 | 76 ± 8 | 106 ± 5 | 118 ± 3 | 91 ± 7 |

Tabela 28: Parâmetros obtidos a partir da curva PAM versus ANSR: Ganho (% máx/mmHg), faixa (% máximo), PAM₅₀ (mmHg), PAM_{lim} (mmHg) e PAM_{Sat} (mmHg) de ratos acordados normotensos 14 dias submetidos protocolo 2.

| Rato | Ganho (% máx/mmHg) | Faixa (% máx) | PAM 50 (mmHg) | PAM lim (mmHg) | PAMsat(mmHg) |
|--------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|
| 1 | -5.7 | 82 | 118 | 124 | 108 |
| 2 | -4.7 | 84 | 111 | 119 | 99 |
| 3 | -3.5 | 82 | 110 | 121 | 95 |
| 4 | -2.4 | 103 | 104 | 126 | 78 |
| Média ± EPM | -4 ± 0.7 | 88 ± 10 | 110 ± 6 | 123 ± 3 | 95 ± 13 |

Tabela 29: Parâmetros obtidos a partir da curva PAM versus ANSR: Ganho (% máx/mmHg), faixa (% máximo), PAM₅₀ (mmHg), PAM_{lim} (mmHg) e PAM_{Sat} (mmHg) de ratos acordados hipertensos L-NAME 2 dias submetidos protocolo 2.

| Ratos | Ganho (% máx/mmHg) | Faixa (% máx) | PAM 50 (mmHg) | PAM lim (mmHg) | PAMsat(mmHg) |
|--------------------|-----------------------|---------------|------------------|-------------------|----------------|
| 1 | -6.5 | 59 | 130 | 134 | 123 |
| 2 | -6.8 | 51 | 125 | 128 | 119 |
| 3 | -4.4 | 88 | 126 | 135 | 113 |
| 4 | -2.3 | 89 | 142 | 163 | 118 |
| 5 | -1.7 | 86 | 130 | 157 | 100 |
| 6 | -3.3 | 89 | 133 | 147 | 116 |
| 7 | -2.4 | 88 | 119 | 138 | 96 |
| Média ± EPM | -4 ± 0.8 | 80 ± 5 | 129 ± 3 | 143 ± 5 | 112 ± 4 |

Tabela 30: Parâmetros obtidos a partir da curva PAM versus ANSR: Ganho (% máx/mmHg), faixa (% máximo), PAM₅₀ (mmHg), PAM_{lim} (mmHg) e PAM_{Sat} (mmHg) de ratos acordados hipertensos L-NAME 14 dias submetidos protocolo 2.

| Ratos | Ganho (% máx/mmHg) | Faixa (% máx) | PAM 50 (mmHg) | PAM lim (mmHg) | PAMsat(mmHg) |
|-------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------|
| 1 | -1.4 | 82 | 147 | 180 | 111 |
| 2 | -3 | 91 | 138 | 154 | 119 |
| 3 | -1.8 | 90 | 133 | 160 | 102 |
| 4 | -1.5 | 60 | 140 | 161 | 116 |
| 5 | -3.7 | 83 | 143 | 154 | 128 |
| 6 | -2 | 98 | 141 | 169 | 110 |
| 7 | -1.8 | 88 | 148 | 174 | 118 |
| Média ±EPM | -2 ± 0.3 | 85 ± 4 | 141 ± 2 | 164 ± 4 | 115 ± 7 |

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](#)