

<sup>1</sup>Clerici, S.P.\* <sup>1</sup>, Victório, J.A.\*\* <sup>1</sup>, Santos-Silva, J.C.\*\* <sup>3</sup>, Bessa, K. L. <sup>2</sup>, Rossoni, L.V. <sup>1</sup>, Davel, A.P.

<sup>1</sup>Depto. de Biologia Estrutural e Funcional – IB/ UNICAMP, <sup>2</sup>Depto Fisiologia e Biofísica – ICB/ USP, <sup>3</sup>Depto de Engenharia Mecânica - UFRN

## Introdução e Objetivo

Os receptores β-adrenérgicos (β-AR) participam do controle do tônus vascular por causar vasodilatação. Mais recentemente foi demonstrado que a atividade endógena dos receptores β-AR também pode controlar propriedades mecânicas da aorta de ratos (Sokolis *et al.*, *Hellenic J Cardiol.* 51:19-26, 2010).

A hiperativação e consequente disfunção dos receptores β-AR é um dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia de doenças cardiovasculares que cursam com aumento da atividade simpática. O tratamento de ratos com isoproterenol (ISO) é um modelo experimental de hiperativação dos receptores β-AR e causa hipertrofia cardíaca e disfunção endotelial. Mas apesar dos efeitos cardiovasculares descritos, não se sabe se o tratamento com ISO induziria modificações na estrutura vascular.

A ativação dos receptores β-AR pode causar liberação de renina com consequente aumento dos níveis plasmáticos de angiotensina II (Ang II) (Kim *et al.*, *Hypertension*, 50:103-9, 2007). A Ang II, via receptor AT<sub>1</sub>, no coração e artérias induz remodelamento, vasoconstrição e estresse oxidativo. Assim, o **objetivo** deste trabalho é avaliar o efeito da hiperativação dos receptores β-AR sobre a estrutura vascular e o possível papel da Ang II via receptor AT<sub>1</sub> como mediadora das alterações cardiovasculares induzidas pelo ISO.

## Materiais e Métodos

### Animais:

Ratos Wistar com 3 meses de idade foram divididos em 4 grupos e tratados por 7 dias com:

- Veículo: grupo **CT** (óleo de soja, s.c.)
- Isoproterenol (agonista β-AR não-seletivo): grupo **ISO** (0,3 mg/kg/dia, s.c.)
- Losartan (antagonista dos receptores AT<sub>1</sub>): grupo **LOS** (40 mg/kg/dia, v.o.)
- Isoproterenol + Losartan: grupo **ISO + LOS** (ISO 0,3 mg/kg/dia, s.c. + LOS 40 mg/kg/dia, v.o.).

### Medidas Hemodinâmicas:

Com os animais anestesiados (uretana 1,2 g/kg de rato, *i.p.*) fez-se a canulação da artéria carótida direita para aferição da pressão arterial e da frequência cardíaca. Em seguida, o cateter foi suavemente posicionado no ventrículo esquerdo para aquisição da hemodinâmica ventricular.

### Índice de Hipertrofia Cardíaca:

Após a hemodinâmica os animais foram pesados e mortos por exsanguinação. O coração foi removido e os ventrículos pesados para o cálculo da razão massa ventricular/ massa corpórea.

### Análise da estrutura da aorta torácica:

**Preparação de lâminas histológicas:** Após a retirada do coração, o arco aórtico foi canulado e a aorta foi perfundida com salina (0,9%) e, em seguida, com solução de formol (10%, pH= 7,4) em pressão de perfusão igual à pressão arterial média obtida *in vivo*. As aortas foram então retiradas, submetidas à desidratação e incluídas em parafina. Cortes (5 μm) foram obtidos em micrótomo e corados com hematoxilina e eosina.

**Análise de imagens:** As imagens dos cortes transversais de aorta foram capturadas em aumento de 5x em microscópio óptico (Leica DFC300FX). Com o *software Image J*, as imagens foram analisadas para obtenção dos valores das áreas interna e externa e dos perímetros (P) interno e externo. Como  $P = 2\pi R$ , calculou-se os diâmetros interno (Di) e externo (De). A área de secção transversa (AST) foi calculada pela fórmula  $AST = \pi(R_e^2 - R_i^2)$  e a tensão circunferencial da parede (CWT) =  $PAM \times Di/2$ .

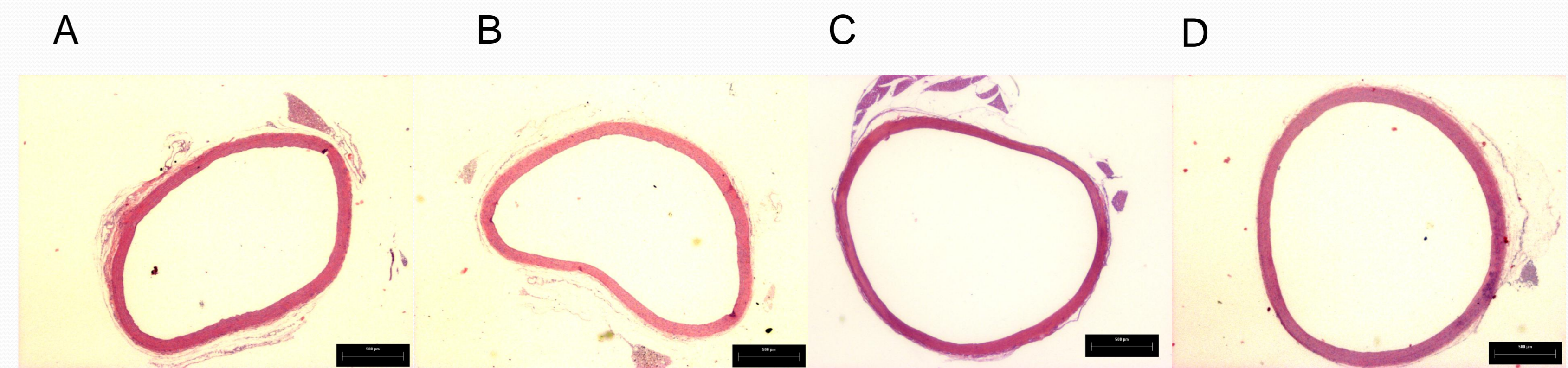
## Resultados

**Tabela 1.** Hemodinâmica arterial e ventricular e índice de hipertrofia cardíaca avaliados nos ratos dos grupos CT, LOS, ISO e ISO+LOS.

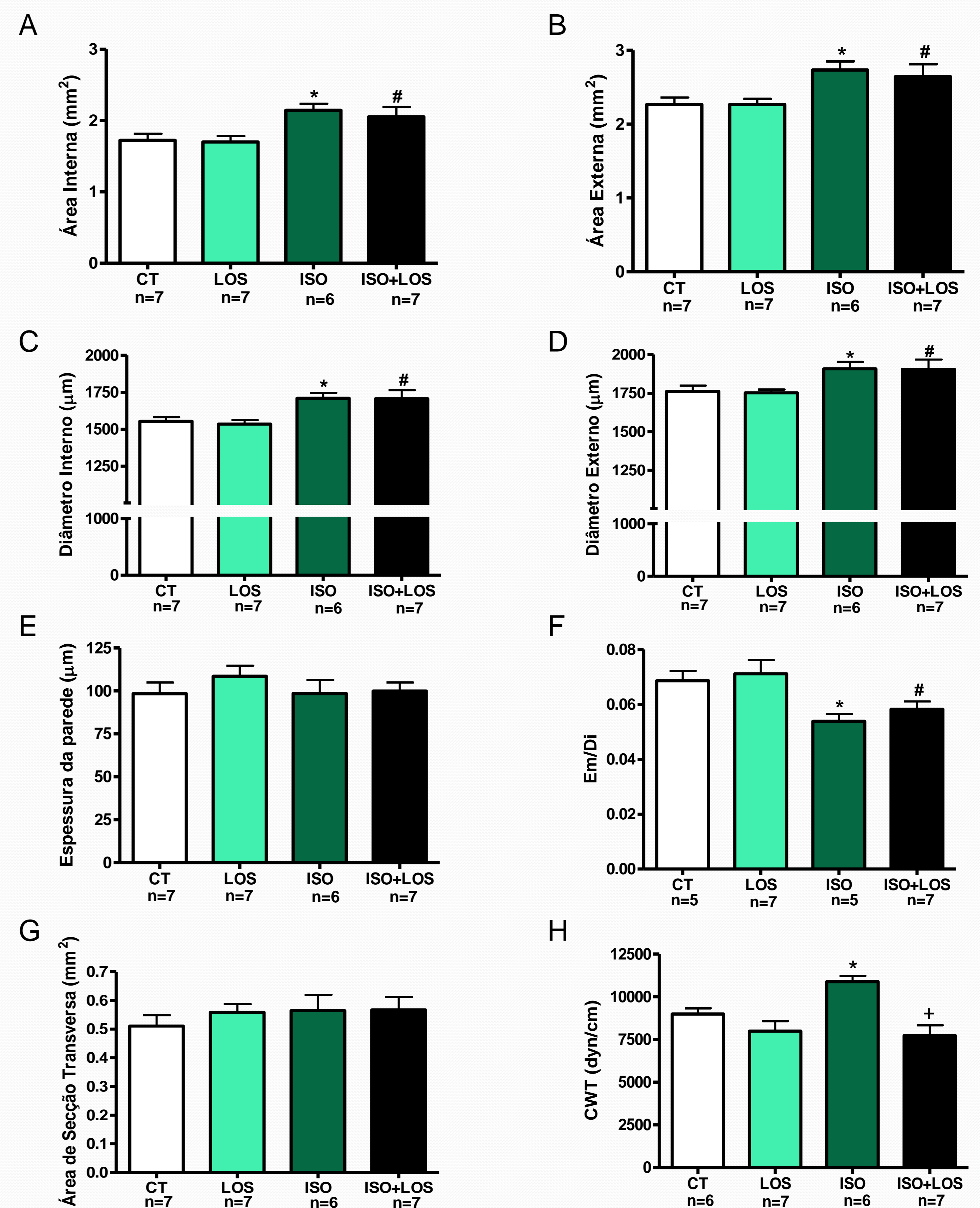
	CT	LOS	ISO	ISO+LOS
<b>PAS (mmHg)</b>	121 ± 3,5 (n=8)	113 ± 4,3 (n=6)	116 ± 3,1 (n=7)	105 ± 3,9 (n=6)
<b>PAD (mmHg)</b>	69 ± 2,4 (n=8)	58 ± 2,4 (n=6)*	79 ± 2,1 (n=7)	58 ± 5,3 (n=6)+
<b>PAM (mmHg)</b>	88 ± 1,5 (n=8)	76 ± 2,5 (n=6)*	93 ± 1,4 (n=7)	74 ± 4,9 (n=6)+
<b>FC (bpm)</b>	408 ± 16 (n=8)	407 ± 20 (n=6)	374 ± 24 (n=7)	393 ± 27 (n=6)
<b>PDfVE (mmHg)</b>	3,53 ± 0,5 (n=10)	2,57 ± 0,7 (n=5)	4,38 ± 1,0 (n=6)	4,59 ± 1,3 (n=5)
<b>PSVE (mmHg)</b>	144 ± 2,1 (n=7)	122 ± 2,5 (n=5)*	139 ± 5,0 (n=6)	109 ± 2,5 (n=5)+
<b>dp/dt+ (mmHg/s)</b>	8188 ± 639 (n=7)	7236 ± 773 (n=5)	7620 ± 671 (n=6)	5960 ± 504 (n=6)
<b>dp/dt - (mmHg/s)</b>	-5051 ± 317 (n=7)	-4328 ± 494 (n=5)	-4346 ± 493 (n=6)	-3195 ± 53 (n=5)
<b>massa ventricular/ massa corporal (mg/g)</b>	2,45 ± 0,09 (n=6)	2,31 ± 0,05 (n=6)	3,16 ± 0,12 (n=6)*	2,63 ± 0,09 (n=6)+#

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; PAM, pressão arterial média; FC, frequência cardíaca; PDfVE, pressão diastólica final no ventrículo esquerdo; PSVE, pressão sistólica do ventrículo esquerdo; dp/dt+, derivada de pressão pelo tempo positiva; dp/dt-, derivada de pressão pelo tempo negativa. Dados estão expressos como média ± EPM. ANOVA 2-vias: \*p<0,05 vs. CT; +p<0,05 vs. ISO; #p<0,05 vs. LOS. O número de animais utilizados em cada grupo experimental (n) está entre parênteses.

## Losartan não modula os efeitos da hiperativação dos receptores β-AR com isoproterenol na estrutura da aorta



**Figura 1:** Imagens típicas (4x) de cortes transversais (5 μm) de aorta coradas com hematoxilina e eosina obtidas dos ratos dos grupos Controle (CT, A), Losartan (LOS, B), Isoproterenol (ISO, C) e ISO+LOS (D).



**Figura 2:** Áreas interna (A) e externa (B), diâmetros interno (C) e externo (D), espessura da parede (E), razão espessura da parede (Em)/diâmetro interno (Di) (F), área de secção transversa (G) e tensão circunferencial da parede (PAMxDi/2) (H) obtidas em cortes transversais de aorta de ratos dos grupos Controle (CT), Isoproterenol (ISO), Losartan (LOS) e ISO+LOS. Imagens foram obtidas em objetiva de 5x. Dados estão expressos como média ± EPM. ANOVA 2-vias: \*p<0,05 vs. CT; +p<0,05 vs. ISO; #p<0,05 vs. LOS. O número de animais utilizados em cada grupo experimental (n) está indicado abaixo das barras.

## Conclusão

Os dados sugerem que a hiperativação dos β-AR causa um remodelamento eutrófico para fora da aorta, associado com uma maior CWT. Uma maior tensão circunferencial pode causar maior estiramento vascular e consequentemente pode modular genes relacionados à disfunção endotelial. Assim, este pode ser um mecanismo associado aos efeitos vasculares da hiperativação dos β-AR.

O co-tratamento com LOS, apesar de prevenir parcialmente o remodelamento cardíaco do ISO, não modificou as alterações morfológicas na aorta, mas por reduzir a PAM, LOS foi capaz de normalizar a CWT em aorta dos ratos ISO.