

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

GEÓRGIA DE ANDRADE LIMA LEAL

**DIETA HIPERLIPÍDICA INDUZ ALTERAÇÕES FUNCIONAIS, ESTRUTURAIS E
MECÂNICAS EM ARTÉRIAS DE RESISTÊNCIA DE RATO: EFEITO DO
TRATAMENTO COM ANTAGONISTA DO RECEPTOR AT₁**

Recife
2019

GEÓRGIA DE ANDRADE LIMA LEAL

**DIETA HIPERLIPÍDICA INDUZ ALTERAÇÕES FUNCIONAIS, ESTRUTURAIS E
MECÂNICAS EM ARTÉRIAS DE RESISTÊNCIA DE RATO: EFEITO DO
TRATAMENTO COM ANTAGONISTA DO RECEPTOR AT₁**

Tese de Doutorado apresentada como um dos requisitos para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Orientador: Fabiano Elias Xavier

Coorientadora: Valéria Nunes de Souza

Recife

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Leal, Geórgia de Andrade Lima

Dieta hiperlipídica induz alterações funcionais, estruturais e mecânicas em artérias de resistência de rato: efeito do tratamento com antagonista do receptor AT₁ / Geórgia de Andrade Lima Leal - 2019.

151 folhas: il., fig.

Orientador: Fabiano Elias Xavier

Coorientadora: Valéria Nunes de Souza

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia. Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Obesidade 2. Disfunção endotelial 3. Remodelamento vascular
I. Xavier, Fabiano Elias (Orient.) II. Souza, Valéria Nunes de (Coorient.) III. Título

616.398

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-380

GEÓRGIA DE ANDRADE LIMA LEAL

DIETA HIPERLIPÍDICA INDUZ ALTERAÇÕES FUNCIONAIS, ESTRUTURAIS E
MECÂNICAS EM ARTÉRIAS DE RESISTÊNCIA DE RATO: EFEITO DO
TRATAMENTO COM ANTAGONISTA DO RECEPTOR AT₁

Tese de Doutorado apresentado
como um dos requisitos para o
cumprimento parcial das
exigências para obtenção do título
de Doutor em Bioquímica e
Fisiologia pela Universidade
Federal de Pernambuco.

Aprovada em: 27/09/2019

Banca Examinadora:

Fabiano Elias Xavier/ UFPE
(Orientador)

Glória Isolina Boente Pinto Duarte/ UFPE
(Examinadora interna)

Leucio Duarte Vieira Filho/ UFPE
(Examinador interno)

Luiza Antas Rabêlo/ UFAL
(Examinadora externa)

Giulia Alessandra Wiggers/ UNIPAMPA
(Examinadora externa)

Dedico esse trabalho aos meus familiares e amigos, sempre presentes em todas as etapas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Realizar um doutorado é uma tarefa longa que requer empenho, determinação e concentração. Foram quatro intensos anos acompanhados de alegrias e tristezas, certezas e incertezas, ânimos e desânimos. É chegada a etapa final e hoje fica o sentimento de extrema felicidade, gratidão e de como tudo valeu a pena.

Durante essa extensa jornada, tive a oportunidade de conhecer pessoas que acrescentaram imensamente ao meu amadurecimento profissional e colaboraram para os resultados desta tese. São a essas pessoas que vão os meus mais sinceros agradecimentos.

Gostaria de iniciar agradecendo ao meu orientador, professor Fabiano Elias Xavier, pelas oportunidades, ensinamentos, dedicação e confiança. É sem dúvida grande fonte de inspiração para mim e para todos que fazem e já fizeram parte do laboratório de reatividade vascular.

À professora Valéria Nunes Souza, pela co-orientação e suporte durante os anos de dedicação a essa pesquisa.

À professora Glória Isolina Boente Pinto Duarte, pelo incentivo, experiência e conselhos. O laboratório de fisiologia e farmacologia cardiovascular certamente não seria o que é sem a sua liderança.

À professora Cristina, pela atenção, suporte e apoio demonstrado.

À Hicla, com quem dividi intensamente os experimentos, aulas, seminários, reflexões e sentimentos. Sem dúvida esses anos foram mais produtivos e agradáveis porque você esteve sempre presente em cada passo que eu dava. A sua amizade levarei por toda a vida.

À Juliana Rocha, pela amizade e pela companhia em cada novo desafio que surgia. Agradeço pelos ensinamentos, pela sua presença constante e por toda a colaboração dada para este trabalho.

A Diego Queiroz, o melhor conselheiro do mundo. Suas palavras sempre foram de estímulo e conforto. Obrigada por estar tão presente mesmo com a distância e por torcer sempre por mim.

A Jairo Teixeira, pela disposição em ajudar, pelos experimentos, pelas conversas e pelos dias vividos e compartilhados também em Roma. Muito obrigada.

A Leonardo Gomes. Obrigada pelo suporte, colaboração e companhia diária principalmente nos experimentos finais deste trabalho.

À Lavínia, jovem cientista, dedicada e mesmo que com dias inteiros de aulas encontrava tempo para estar presente. Obrigada pela sua colaboração nos experimentos e principalmente pelo cuidado com os animais.

À Luíza Mayara, Brydja, Santiago e Rosa pelo suporte dado sempre que solicitado.

Agradeço também a todos os colegas que fizeram parte do laboratório, por todos os ensinamentos deixados.

Alla Sapienza Università di Roma e al professor Fabio Naro per l'opportunità di fare parte del mio dottorato nel suo laboratorio. Grazie Mille.

Vorrei ringraziare a tutti i miei colleghi della Sapienza Università di Roma: Federica Barbagallo, Rita Assenza, Mary Venery, Silvia, Marisa, Luciana, Lucia, Sara, Salvatore, Ramtin, Vincenzo e Manuela. Sono stati mesi di intenso apprendimento che sono stati fondamentali per la mia crescita professionale.

À Thays Carvalho, a quem tive o privilégio de compartilhar momentos únicos e inesquecíveis em Roma e que ficarão guardados nas minhas melhores recordações. Obrigada pela sua amizade e por todo o apoio dado enquanto estive realizando o doutorado sanduíche.

A todos os professores, alunos e funcionários do programa de pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia da UFPE.

À professora Luiza Antas Rabelo do laboratório de reatividade cardiovascular da Universidade Federal de Alagoas por disponibilizar a dieta hiperlipídica, fundamental para

a realização desse trabalho. Assim como também gostaria de agradecer aos seus alunos que dedicaram tempo para a manipulação da dieta.

Um agradecimento especial a minha família por todo o apoio proporcionado, pelo amor incondicional e momentos de descontração que tornaram a caminhada mais leve até aqui.

Agradeço também aos amigos que embora não tenham participado diretamente deste trabalho, vibram junto a mim a cada etapa concluída na minha vida.

Por fim, gostaria de agradecer a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

“Um galo sozinho não tece uma manhã: ele precisará sempre de outros galos. De um que apanhe esse grito que ele e o lance a outro; de um outro galo que apanhe o grito de um galo antes e o lance a outro; e de outros galos que com muitos outros galos se cruzem os fios de sol e de seus gritos de galo, desde uma teia tênue, se vá tecendo, entre todos os galos. E se encorpando em tela, entre todos, se erguendo tenda, onde entrem todos, se entretendendo para todos, no toldo (a manhã) que plana livre de armação. A manhã, toldo de um tecido tão aéreo que, tecido, se eleva por si: luz balão”

(João Cabral de Melo Neto).

RESUMO

A obesidade é considerada um dos principais fatores de riscos para doenças cardiovasculares (DCVs). Seu crescimento acelerado despertou preocupação e interesse da comunidade científica a fim de compreender melhor os principais mecanismos envolvidos entre essa comorbidade e os distúrbios que acometem o sistema cardiovascular. É possível que parte dessas alterações seja decorrente da ativação do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), uma vez que esse sistema pode estar superativado em condição de obesidade. A angiotensina II, como principal peptídeo efetor do SRAA, exerce inúmeras ações na vasculatura, dentre elas proliferação do músculo liso vascular e vasoconstrição. Esses efeitos podem acarretar uma maior probabilidade de desenvolvimento de disfunção endotelial e remodelamento vascular. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos de uma dieta hiperlipídica sobre a função e estrutura de artérias de ratos bem como o envolvimento do SRAA nas possíveis alterações vasculares induzidas pela dieta. Para isso, ratos da linhagem Wistar receberam dieta hiperlipídica aos 2 meses de idade e a partir dos 4 meses uma parte dos animais foi tratada com losartan (15mg/kg/dia, via oral, por gavagem). Aos 6 meses, os animais foram submetidos a experimentos de reatividade vascular em artéria mesentérica de resistência (AMR), medida das propriedades mecânicas e estruturais em AMR e medida da liberação de óxido nítrico e produção de espécies reativas de oxigênio. Os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram prejuízo do relaxamento à acetilcolina em AMR. Na presença do inibidor da ciclooxigenase (Indometacina), do mimético da superóxido dismutase (tempol) e do inibidor da NADPH oxidase (apocinina) essas alterações foram revertidas, sugerindo um aumento do perfil inflamatório e oxidativo nas artérias desses animais. A espessura da parede e a relação parede/lúmen foram aumentadas, enquanto a distensibilidade e o diâmetro do vaso e do lúmen apresentaram-se diminuídos em AMR dos animais alimentados com dieta hiperlipídica. A área de secção transversal não foi modificada nesses animais. A produção de espécies reativas de oxigênio não apresentou diferença entre os animais controles e os alimentados com a dieta hiperlipídica, já a biodisponibilidade de óxido nítrico mostrou-se reduzida no grupo experimental. O

tratamento crônico com losartan reverteu o prejuízo da função endotelial e alterações estruturais em AMR dos animais alimentados com a dieta hiperlipídica. A biodisponibilidade de óxido nítrico também foi restaurada nesses animais pelo tratamento com losartan. Os resultados obtidos indicam que a dieta hiperlipídica foi capaz de provocar alterações no sistema vascular dos animais. Essas alterações ao que tudo indica são mediadas pelo estresse oxidativo e pelos metabólitos derivados da ciclooxigenase. A dieta também provocou alterações estruturais em AMR dos animais e a angiotensina II parece ser responsável por estimular essas alterações.

Palavras-chave: Obesidade. Disfunção endotelial. Remodelamento vascular. Angiotensina II.

ABSTRACT

Obesity is considered a major risk factor for cardiovascular disease (CVD). Its accelerated growth aroused concern and interest in the scientific community in order to better understand the main mechanisms involved between this comorbidity and the disorders that affect the cardiovascular system. It is possible that part of these alterations is due to the activation of the aldosterone angiotensin renin system (AARS), since this system may be overactivated in obesity conditions. Angiotensin II, as the main effector peptide of AARS, exerts several actions on the vasculature, among them vascular smooth muscle proliferation and vasoconstriction. These effects may lead to a great probability of developing endothelial dysfunction and vascular remodeling. Thus, the aim of the present study was to investigate the effect of high fat diet on the function and structural of the arteries of rats and the involvement of the AARS in the possible vascular changes induced by the diet. For this, Wistar rats received a high fat diet at 2 months of age and from 4 months one group of the animals was treated with losartan (15 mg/kg day, via gavage). At 6 months of age, the animals were submitted to vascular reactivity experiments in the resistance mesenteric artery (RMA), measured the structure and mechanics properties of the RMA and measurement of vascular nitric oxide release and vascular reactive oxygen species production in RMA. The high fat diet group showed relaxation impairment to acetylcholine in RMA. In the presence of indomethacin (COX inhibitor), tempol (SOD mimetic) and apocynin (NADPH oxidase inhibitor) these changes were reversed, suggesting an increase in the oxidative and inflammatory profile in the arteries of this group. Wall thickness and wall-to-lumen ratio were increased. On the other hand, distensibility and vessel and lumen diameter were decreased in RMA of high fat diet group. The cross-sectional area was not modified in these animals. The reactive oxygen species production showed no difference between the studied groups; however the bioavailability of nitric oxide was reduced in high fat diet group. Chronic treatment with losartan was able to reverse the damage of endothelial function and structural alterations in RMA of high fat diet group. The bioavailability of nitric oxide was also restored in these animals by treatment with losartan. The results obtained demonstrate that high fat diet was able to cause changes on the vascular system of the animals, which appear to be

mediated by oxidative stress and increased metabolites derived from COX-2. The high fat diet was also able to cause structural alterations in resistance mesenteric artery of animals and angiotensin II seems to be responsible for stimulating these alterations.

Keywords: Obesity. Endothelial dysfunction. Vascular remodeling. Angiotensin II.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação da estrutura da artéria.....	32
Figura 2 -	Tipos de remodelamento arterial.....	38
Figura 3 -	Esquema da formação de espécies reativas de oxigênio.....	44
Figura 4 -	Revisão do sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	53
Figura 5 -	Relação do sistema renina-angiotensina-aldosterona com a obesidade.....	55
Figura 6 -	Esquema da síntese e mecanismos de sinalização dos prostanóides.....	57
Figura 7 -	Esquema da interação da PGE ₂ com seus receptores.....	59
Figura 8 -	Peso corporal e índice de adiposidade.....	74
Figura 9 -	Teste de resistência à insulina e teste de tolerância à glicose dos grupos experimentais estudados.....	76
Figura 10 -	Relaxamento dependente e independente do endotélio induzido por acetilcolina e nitroprussiato de sódio, respectivamente, em artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados.....	78
Figura 11 -	Efeito do antagonismo da ciclooxigenase com indometacina sobre a resposta relaxante induzida com acetilcolina em artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados.....	79
Figura 12 -	Efeito do antagonismo da sintase de óxido nítrico endotelial com L-NAME sobre a resposta relaxante induzida com	

	acetilcolina em artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados.....	81
Figura 13 -	Efeito do mimético da SOD com tempol sobre a resposta relaxante induzida com acetilcolina em artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados.....	83
Figura 14 -	Efeito do antagonismo da NADPH oxidase com apocinina sobre a resposta relaxante induzida com acetilcolina em artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados.....	85
Figura 15 -	Efeito do antagonismo do receptor AT1 com losartan sobre a resposta relaxante induzida com acetilcolina em artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados.....	86
Figura 16 -	Respostas contráteis induzidas por noradrenalina em artéria mesentérica de resistência dos grupos experimentais estudados.....	87
Figura 17 -	Imagens representativas da fluorescência emitida pela geração de espécies reativas de oxigênio e análise quantitativa média da produção de espécies reativas de oxigênio em artéria mesentérica de resistência dos grupos experimentais estudados.....	89
Figura 18 -	Imagens representativas da fluorescência emitida pela geração de óxido nítrico e análise quantitativa média da produção de óxido nítrico em artéria mesentérica de resistência	

	dos grupos experimentais estudados.....	91
Figura 19 -	Relação pressão-diâmetro em artérias mesentéricas de resistência dos grupos NF e HF em condições ativas e passivas.....	93
Figura 20 -	Relação pressão-diâmetro externo e pressão-diâmetro interno em artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados em condições passivas.....	94
Figura 21 -	Espessura da parede, relação parede:lúmen e área de secção transversal das artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados em condições passivas.....	96
Figura 22 -	Stress da parede, relação stress-strain e o módulo elástico das artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados em condições passivas.....	98
Figura 23 -	Distensibilidade e complacência das artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados em condições passivas.....	100
Figura 24 -	Conteúdo total de colágeno em artérias mesentéricas de resistência dos grupos experimentais estudados.....	102

LISTA DE ABREVIATURAS

•NO	Óxido nítrico
AA	Ácido araquidônico
AC	Adenilato ciclase
AKT	Proteína quinase B
AMPc	Adenosina 3,5 monofosfato
AMR	Artéria mesentérica de resistência
AST	Área de secção transversa
BH4	Tetrahydrobiopterina
Ca ²⁺	Cálcio
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
COX-1	Ciclooxigenase-1
COX-2	Ciclooxigenase-2
DAF	Diaminifluoresceína
DAG	Diacylglicerol
DCVs	Doenças cardiovasculares
De	Diâmetro externo
DHE	Dihidroetidium
Di	Diâmetro interno
DM	Diabetes mellitus
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EDHF	Fator hiperpolarizante derivado do endotélio
eNOS	Sintase de óxido nítrico endotelial
ERK	Quinase regulada por sinal extracelular

ERO	Espécies reativas de oxigênio
ET-1	Endotelina-1
GC	Guanilato ciclase
GMPc	Guanosina 3,5 monofosfato
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
iNOS	Sintase de óxido nítrico induzível
K ⁺	Potássio
KCL	Cloreto de potássio
LDL	Proteína de baixa densidade
LOXs	Lipoxigenases
MAPK	Proteína quinase de atividade mitogênica
MMPs	Metaloproteinases de matriz
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NPS	Nitroprussiato de sódio
OMS	Organização mundial de saúde
PGD ₂	Prostaglandina D ₂
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PGF _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PGG ₂	Prostaglandina G ₂
PGH ₂	Prostaglandina H ₂
PGHS	Prostaglandina H sintetase

PGI ₂	Prostaciclina
PGs	Prostaglandinas
PKA	Proteína quinase A
PKC	Proteína quinase C
PLC	Fosfolipase C
PVAT	Tecido adiposo perivascular
SHR	Ratos espontaneamente hipertenso
SOD	Superóxido dismutase
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TGF- β	Fator de crescimento transformador β
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TxA ₂	Tromboxano A ₂
VSMC	Células do músculo liso vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	24
2.1	OBESIDADE.....	24
2.2.	O SISTEMA VASCULAR EM CONDIÇÕES FISIOLÓGICAS E PATOLÓGICAS	26
2.2.1	Disfunção endotelial.....	32
2.2.2	Remodelamento vascular.....	35
2.2.3	Tônus miogênico.....	40
2.3	EQUILÍBRIO REDOX E ESTRESSE OXIDATIVO.....	42
2.3.1	Estresse oxidativo e obesidade.....	45
2.4	SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA: PAPEL SOBRE O SISTEMA VASCULAR E SUA RELAÇÃO COM A OBESIDADE	47
2.4.1	Características fisiológicas do SRAA.....	48
2.4.2	O SRAA e sua relação com a obesidade.....	53
2.5	AS PROTAGLANDINAS E O SEU PAPEL SOBRE O SISTEMA VASCULAR EM CONDIÇÕES FISIOLÓGICAS E PATOLÓGICAS.....	55
3	OBJETIVOS.....	61
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	61
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	62
4.1	ANIMAIS.....	62
4.2	AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA À GLICOSE E DE SENSIBILIDADE À INSULINA.....	63
4.3	ESTUDO DE REATIVIDADE VASCULAR E PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS.....	63
4.3.1	Protocolos experimentais.....	64
4.4	METODOLOGIA UTILIZADA PARA O ESTUDO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E ESTRUTURAIS DE ARTÉRIAS MESENTÉRICAS DE RESISTÊNCIA DE RATO.....	65
4.4.1	Cálculos das propriedades mecânicas e estruturais das artérias mesentéricas de resistência.....	66
4.5	DETERMINAÇÃO <i>IN SITU</i> DA PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO.....	70
4.6	MEDIDA DA LIBERAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO VASCULAR.....	71
4.7	DETERMINAÇÃO DE COLÁGENO NA PAREDE ARTERIAL.....	72
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	72

5	RESULTADOS.....	74
5.1	PESO CORPORAL E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE.....	74
5.2	TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE E DE SENSIBILIDADE À INSULINA.....	75
5.3	ESTUDO DE REATIVIDADE VASCULAR.....	77
5.3.1	Relaxamento dependente e independente do endotélio.....	77
5.3.1.1	Efeito da inibição da ciclooxigenase sobre o relaxamento dependente do endotélio.....	78
5.3.1.2	Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico sobre o relaxamento dependente do endotélio.....	80
5.3.1.3	Efeito do mimético da SOD sobre o relaxamento dependente do endotélio.....	82
5.3.1.4	Efeito da inibição da NADPH oxidase sobre o relaxamento dependente do endotélio.....	84
5.3.1.5	Efeito do antagonista do receptor AT1 sobre o relaxamento dependente do endotélio.....	86
5.4	VASOCONSTRIÇÃO INDUZIDA POR ESTIMULAÇÃO ALFA-ADRENÉRGICA.....	87
5.5	DETERMINAÇÃO <i>IN SITU</i> DA PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO.....	88
5.6	DETERMINAÇÃO <i>IN SITU</i> DA PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO.....	90
5.7	ESTUDOS DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E ESTRUTURAIS EM ARTÉRIAS MESENTÉRICAS DE RESISTÊNCIA.....	92
5.8	QUANTIFICAÇÃO DO CONTEÚDO DE COLÁGENO.....	101
6	DISCUSSÃO.....	103
7	CONCLUSÃO.....	118
	REFERÊNCIAS.....	119

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas um grande problema de saúde por serem as principais causas de mortalidade no mundo (WHO). Dados epidemiológicos mostram que mais de 17 milhões de pessoas morrem anualmente por doenças que acometem o coração e os vasos sanguíneos. Além da predisposição genética, diversos fatores de riscos, como a hipertensão arterial sistêmica (HAS), o diabetes e a obesidade podem colaborar para o surgimento de infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e insuficiência cardíaca (WHO). Uma vez que a variante genética não pode ser modificada, torna-se essencial um maior controle em torno dos fatores de riscos modificáveis, como uma dieta controlada com menor consumo de sal e gordura e a prática de atividade física (PAHO/WHO).

Dentre os principais fatores de riscos, a obesidade vem chamando a atenção da comunidade científica e tem se tornado alvo de intensos estudos devido ao seu crescimento alarmante nos últimos anos (WHO). Diante disso, pesquisadores investem tempo e recursos a fim de compreender melhor os principais mecanismos envolvidos entre a obesidade e o sistema cardiovascular (GRAMLICH et al., 2018; LINDERMAN et al., 2018; LOPEZ-JARAMILLO et al., 2018; FERRON et al., 2018).

Com o desenvolvimento da obesidade o tecido adiposo sofre expansão e com isso ocorrem infiltrações de células imunes, como macrófagos e células T. Essas células liberam uma série de adipocinas inflamatórias, caracterizando a obesidade como uma doença inflamatória crônica (RAMALINGAM et al., 2017). Dentre as adipocinas pró inflamatórias liberadas pelo tecido adiposo estão a interleucina 6 (IL-6), o fator de necrose tumoral α (TNF α) e a leptina (FELICE; FORNY-GERMANO; VIEIRA, 2019). Os adipócitos

também são capazes de liberar adipocinas anti-inflamatórias, como a adiponectina; entretanto, estudos mostram que esta adipocina encontra-se reduzida em condições de obesidade. Esse aumento na liberação de substâncias pró inflamatórias e redução de substâncias anti-inflamatórias é uma característica marcante da disfunção do tecido adiposo quando este encontra-se em expansão (ACHARI; JAIN, 2017; GUZIK et al., 2017).

Situações de obesidade têm sido fortemente associadas a uma maior ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), devido principalmente ao fato do tecido adiposo apresentar toda maquinaria bioquímica necessária para a produção dos componentes desse sistema (GRAUS-NUNES; SOUZA-MELLO, 2018; SCHUTTEN et al., 2017). O SRAA é considerado o principal sistema no controle de fluidos e por isso possui grande participação na regulação da pressão arterial. Diante disso, o tecido adiposo pode exercer grande contribuição para a elevação dos níveis circulantes de aldosterona e de angiotensina II, os quais podem contribuir para o comprometimento da estrutura e função do sistema cardiovascular (SCHUTTEN et al., 2017).

A angiotensina II é considerada o principal peptídeo bioativo do SRAA. Esse peptídeo, quando em excesso, atua ativando vias de sinalização que estão envolvidas com grandes prejuízos a diversos sistemas, como é o caso do sistema cardiovascular. Uma dessas vias está associada ao estresse oxidativo e à inflamação, com maior geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de citocinas inflamatórias (TREJO-MORENO et al., 2018). Além disso, a angiotensina II, através do seu potente papel vasoconstritor exerce grande influência no controle do tônus vascular e assim pode vir a colaborar para o desenvolvimento de um dos principais fatores de risco cardiovascular, a

hipertensão arterial (SILVA et al., 2017). A angiotensina II ainda pode interferir no funcionamento das células beta pancreáticas, através da ação das ERO que inibem a síntese e liberação de insulina. Diante disso, outro importante fator de risco para as DCV, o diabetes mellitus, tem maior risco de desenvolvimento (RAMALINGAM et al., 2017). Ainda na vasculatura, a angiotensina II induz crescimento da parede vascular, através da ativação de vias de sinalização ligadas à ERK, à MAPK e à Rho/ROCK, todas relacionadas com o processo de remodelamento vascular (KAWAI et al., 2017; NOUR-ELDINE et al., 2016; ZHAO et al., 2018).

Embora se saiba que a obesidade pode levar a prejuízos no funcionamento do sistema cardiovascular e ainda que evidências científicas mostrem um envolvimento do SRAA nessas alterações, tornam-se necessários estudos que visem identificar os tipos de comprometimento e principais mecanismos envolvidos nessas perturbações. Para isso, um modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica que cursa com alteração do metabolismo de glicose e da função endotelial vem sendo amplamente utilizado. Diante disso, o presente estudo possui como principal objetivo investigar os efeitos de uma dieta hiperlipídica nos parâmetros funcionais, estruturais e mecânicos de artérias de ratos e ainda avaliar se o SRAA pode estar envolvido em possíveis alterações decorrentes do consumo desta dieta.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 OBESIDADE

Considerada um grande problema de saúde pública, a obesidade surge de um desequilíbrio entre o consumo e o gasto energético com consequente hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos. A obesidade normalmente se desenvolve a partir de fatores múltiplos, porém, os fatores nutricionais bem como as alterações no estilo de vida são pontos determinantes para o surgimento desta condição (RASHID et al., 2018; SACERDOTI et al., 2018; SIBUYI et al., 2018;). Ela é caracterizada pela expansão do tecido adiposo e definida quando se atinge um IMC acima de 30 kg/m^2 (AROOR et al., 2013; GRUZDEVA et al., 2018; SEILER et al., 2019). O crescimento acelerado dos números de casos novos de obesidade na população de vários países, incluindo o Brasil, tem preocupado os sistemas de saúde, principalmente por ser a obesidade um importante fator de risco para as DCV (OIKONOMOU; ANTONIADES, 2019), considerada hoje a principal causa de morte no mundo (OMS). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2016 mais de 650 milhões de indivíduos apresentavam obesidade (OMS).

O tecido adiposo é classificado em dois tipos diferentes: o tecido adiposo branco ou unilocular e o tecido adiposo marrom ou multilocular. Além das diferenças morfológicas, os tipos de tecido adiposo são também fisiologicamente distintos (FERACO et al., 2013). Enquanto o primeiro tem características de estocagem de energia na forma de triglicerídeos, o segundo apresenta principalmente características termogênicas, dissipando energia na forma de calor (SCHOETTL; FISCHER; USSAR, 2018; MAO;

ZHANG, 2018). No entanto, o tecido adiposo branco possui a capacidade de se modificar, obtendo características do tecido adiposo marrom, processo este conhecido como “browning” (FERACO et al., 2013). O tecido adiposo produz e secreta substâncias conhecidas como adipocinas. Algumas dessas substâncias apresentam caráter pró-inflamatório, já outras são anti-inflamatórias. Dentre as principais adipocinas secretadas pelo tecido adiposo estão: as leptinas, adiponectinas, interleucinas (IL), resistinas e o $TNF\alpha$ (UNAMUNO et al., 2018; KANG, 2013). Devido a grande quantidade de substâncias liberadas, dentre elas hormônios, o tecido adiposo pode ser considerado um órgão endócrino que é capaz de exercer funções importantes, como na regulação da pressão arterial e na homeostase da glicose (KALUPAHANA; CLAYCOMBE; MOUSTAID-MOUSSA, 2011; DE SOUZA et al., 2018). No entanto, o tecido adiposo pode sofrer disfunção quando ocorre um acúmulo exagerado de gordura, o que acarreta desequilíbrio na secreção das adipocinas. A obesidade é um exemplo em que o tecido adiposo se encontra disfuncional. Nesta situação ocorre uma maior infiltração de células inflamatórias, com predominância da liberação de substâncias pró-inflamatórias, o que caracteriza a obesidade como uma doença inflamatória crônica (CARIA et al., 2018; KALUPAHANA; CLAYCOMBE; MOUSTAID-MOUSSA, 2011; OUAKININ; BARREIRA; GOUIS, 2018). Este desequilíbrio no funcionamento dos adipócitos contribui para o aparecimento de resistência a alguns hormônios, como a insulina e a leptina. Toda essa alteração na fisiologia do tecido adiposo decorrente da obesidade pode levar a grandes comprometimentos da função vascular (GRUZDEVA et al., 2018; OIKONOMOU; ANTONIADES, 2018).

No sistema vascular, a obesidade está ligada, sobretudo, ao desenvolvimento da

disfunção endotelial. Esta disfunção se deve principalmente a uma redução na produção de •NO, consequente do aumento do estresse oxidativo e do estado inflamatório (DUNN, DAS, 2017; RASHID et al., 2018). Um estudo realizado por Oishi et al., (2018) demonstrou um aumento de citocinas pró-inflamatórias e redução de citocinas anti-inflamatórias em um modelo de obesidade induzido por dieta. O perfil inflamatório dos animais também foi associado com redução de •NO e prejuízo na função endotelial. Além disso, os animais também apresentaram elevação tempo-dependente da pressão arterial.

2.2 O SISTEMA VASCULAR EM CONDIÇÕES FISIOLÓGICAS E PATOLÓGICAS

O sistema vascular é formado por uma extensa rede de vasos, cuja função principal é conduzir elementos essenciais para todos os tecidos do corpo (p.ex. nutrientes, oxigênio e hormônios) e coletar as excretas metabólicas para serem eliminadas por órgãos excretores (MONAHAN-EARLEY; DVORAK; AIRD, 2013). Com exceção dos capilares, os vasos sanguíneos são formados por três camadas bem definidas (Figura 1) (LAMMERT; AXNICK, 2012). A camada mais interna ou íntima é formada apenas por uma única camada de células endoteliais e uma lâmina basal de tecido conjuntivo. A camada intermediária, ou camada média, é formada por células musculares lisas capazes de regular o diâmetro dos vasos através da sua capacidade de vasoconstrição e vasorrelaxamento. A camada mais externa é chamada de adventícia e nela encontram-se componentes típicos do tecido conjuntivo, como fibroblastos, fibras elásticas e colágenas, além de terminações nervosas e pequenos vasos sanguíneos responsáveis pela nutrição da parede, o *vaso vasorum*. Envolvendo esse arcabouço da parede vascular, existe ainda uma camada de tecido adiposo perivascular (PVAT), que

atualmente vem sendo reconhecido como um tecido altamente ativo, capaz de liberar uma série de substâncias que influenciam de forma parácrina o tônus vascular, não apenas em vasos de condutância, mas também em vasos de pequeno calibre (AYALA-LOPEZ; WATTS, 2017; MULVANY; AALKJAER, 1990).

O endotélio foi considerado por muito tempo apenas como uma simples barreira mecânica para separar as camadas adjacentes da parede do sangue circulante (RADENKOVIC et al., 2016; VERSARI et al., 2009). No entanto, através de inúmeros estudos realizados a partir da década de 1980, descobriu-se que a função desta monocamada de células vai muito além de uma interface física entre o lúmen vascular e os demais componentes da parede (CAHILL; REDMOND, 2016). O endotélio é atualmente reconhecido como um componente indispensável para a regulação de importantes funções do sistema cardiovascular (VANHOUTTE, 2018). Embora sua função de maior destaque seja a de controlar o tônus vascular através da liberação de fatores vasodilatadores e vasoconstritores, o endotélio também libera substâncias que agem nos processos de crescimento, proliferação e migração de células da parede vascular, na coagulação sanguínea, no processo inflamatório e no equilíbrio redox (RADENKOVIC et al., 2016). Os fatores de relaxamento derivados do endotélio são: o óxido nítrico ($\bullet\text{NO}$), a prostaciclina (PGI_2) e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) (BAUERSACHS; WIDDER, 2008; DE VRIESE et al., 2000). O $\bullet\text{NO}$ é um gás e ao ser produzido pelas células endoteliais, através de uma reação catalizada pela sintase de $\bullet\text{NO}$, difunde-se até a musculatura lisa vascular, onde ativa a enzima guanilato ciclase solúvel, acarretando um aumento intracelular dos níveis de 3',5'-monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) (VANHOUTTE; SCOTT-BURDEN, 1994; ZHAO;

VANHOUTTE; LEUNG, 2013). A PGI_2 por sua vez, é um derivado do metabolismo do ácido araquidônico/ ciclooxigenase que age ativando a enzima adenilato ciclase e, portanto, aumentando os níveis de 3',5' adenosina-monofosfato-cíclico (AMPC) (SHIMOKAWA et al., 1988). Já o EDHF, cuja identificação química ainda é controversa, atua aumentando a condutância ao íon potássio (K^+) com consequente hiperpolarização das células musculares lisas (CAHILL; REDMOND, 2016).

Além dos fatores de relaxamento, o endotélio também produz fatores vasoconstritores, como os peptídeos angiotensina II e endotelina-1 (ET-1), os derivados da via da COX, as prostaglandinas E_2 , $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$ e PGE_2) e o tromboxano A_2 (TxA_2) e os ânions superóxidos (RADENKOVIC et al., 2016). A angiotensina II é um octapeptídeo que possui grande importância para o sistema vascular. Além do seu efeito vasoconstritor, também tem efeito pro-trombogênico, pro-oxidante e pro-inflamatório. Ademais, a angiotensina II também atua estimulando fatores de crescimento e de proliferação celular (RADENKOVIC et al., 2016). A ET-1 foi o primeiro fator contrátil derivado do endotélio identificado, sua descoberta data de 1988. Considerado o mais potente agente vasoconstritor, este peptídeo é formado por 21 aminoácidos e atua em dois tipos de receptores, o ET_A e o ET_B , que são expressos tanto nas células endoteliais quanto nas células do músculo liso vascular. Além da sua ação vasoconstritora, a ET-1 também possui efeitos pro-inflamatórios e de proliferação celular (CAHILL; REDMOND, 2016). Das prostaglandinas vasoconstritoras derivadas do endotélio, o TxA_2 é o que apresenta maior sensibilidade e potência pelo receptor TP. Além de vasoconstritor, o TxA_2 é um potente agente ativador da agregação plaquetária (WONG; VANHOUTTE, 2010). Quanto aos ânions superóxido, seus efeitos na contração da musculatura lisa

vascular se dão através de vários mecanismos, dentre eles: o aumento da concentração intracelular de cálcio, a redução na biodisponibilidade do •NO e a ativação da via da Rho-kinase (TOUYZ, 2005).

A camada média da parede vascular é separada da camada íntima pela lâmina elástica interna (RHODIN, 1980). Esta camada é formada por células musculares lisas que estão envolvidas por fibras elásticas, fibras de colágeno e proteoglicanos que compõem a matriz extracelular (WANG; ZEINALI-DAVARANI; ZHANG, 2016). A camada média possui grande importância na regulação direta do tônus vascular por responder com vasoconstrição ou vasodilatação a estímulos gerados por substâncias vasoativas circulantes ou localmente liberadas pelo endotélio ou pelas terminações nervosas. Em vasos de pequeno calibre, canais de baixa resistência, conhecidos como junções do tipo “gap” (*gap-junctions*) comunicam a camada média com a camada íntima. Esses canais permitem a passagem de substâncias vasoativas, garantindo alta condutividade e sincronização entre as células endoteliais e as células musculares (SCHMIDT et al., 2008). O funcionamento adequado das células da camada média, sobretudo das artérias de pequeno calibre e das arteríolas é de grande importância, uma vez que participam ativamente da regulação da pressão sanguínea e da perfusão tissular (WANG et al., 2015). Em algumas situações patológicas, uma das alterações comuns nesta camada é a alteração da responsividade das células musculares lisas a agentes vasoconstritores ou vasodilatadores. Isso pode se dar quando existem quantidades suficientes de substâncias vasoativas, como o •NO, porém com resposta vasodilatadora comprometida ou ainda quando a resposta a agentes vasoconstritores, como a noradrenalina, endotelina-1 ou angiotensina II, está exacerbada (VANHOUTTE, 2018). Outra situação

que pode comprometer a resposta vasomotora do músculo liso vascular é a alteração das conexinas, proteínas que compõem as junções do tipo “gap” entre as células musculares lisas e que podem estar relacionadas com situações patológicas importantes, como a hipertensão arterial (SCHMIDT et al., 2008). Alterações nos constituintes da matriz extracelular também contribuem para as complicações do sistema cardiovascular em algumas situações, as quais estão associadas ao desenvolvimento do remodelamento vascular, que será detalhado mais adiante neste trabalho (WANG; ZEINALI-DAVARANI; ZHANG, 2016).

A camada adventícia é separada da camada média pela lâmina elástica externa. Essa camada constitui uma rede de fibras colágenas e é formada por fibroblastos, linfócitos, macrófagos, terminações nervosas e por células progenitoras (SCHWARTZ; MAJESKY; VIRMANI, 2018; WANG; ZEINALI-DAVARANI; ZHANG, 2016). Esta camada tem uma importante função de suporte dos vasos, porém possui também capacidade de liberar substâncias vasoativas. A camada adventícia pode ser responsável em parte pela geração de ERO provenientes da enzima NADPH oxidase, assim como pode também ser responsável pela liberação de ET-1 proveniente de fibroblastos (NAVA; LLORENS, 2016). Diante disso, a camada adventícia também tem importante contribuição para as alterações vasculares em algumas condições patológicas que culminam com o processo de enrijecimento da parede vascular (GINGRAS et al., 2009).

O tecido adiposo perivascular (PVAT) circunda os vasos sanguíneos de praticamente todos os tecidos, com exceção do sistema nervoso central. Não se trata de uma camada apenas para suporte estrutural da parede vascular, mas sim de um local de importantes características que medeiam diferentes respostas fisiológicas. Dependendo

do leito vascular e até mesmo em um mesmo leito, o PVAT pode ser do tipo branco ou marrom. Nos vasos da circulação mesentérica predomina o tecido adiposo branco, enquanto na aorta podem ser encontrados os dois tipos: a porção torácica é circundada por tecido adiposo marrom, enquanto a porção abdominal está circundada por tipo adiposo branco. Essa diferença entre os tipos de tecido adiposo não é uma questão apenas fenotípica, mas principalmente funcional, uma vez que o tipo branco apresenta um caráter mais inflamatório comparado ao tipo marrom (PADILLA et al., 2013).

O PVAT possui importante papel na homeostase vascular, sendo capaz de participar da regulação do tônus dos vasos através da liberação tanto de fatores contráteis quanto vasodilatadores (KONG et al., 2018; WITHERS et al., 2013). As adipocinas, como a adiponectina e a leptina e as diversas substâncias ativas, como o •NO e as ERO, além de citocinas inflamatórias, como a IL-6 e o TNF α são algumas das substâncias liberadas pelos adipócitos perivasculares (AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2012; SZASZ; WEBB, 2012). Os fatores liberados pelo PVAT se difundem para as outras camadas do vaso, modulando assim a função vascular. Além disso, esta quarta camada pode também participar do processo de remodelamento vascular através da liberação de substâncias, como a angiotensina II e a leptina, que estimulam a proliferação da musculatura lisa da camada média (ALMABROUK et al., 2014; RAJSHEKER et al., 2010). Quando disfuncional, o PVAT pode estar envolvido na fisiopatologia de diversas alterações vasculares, como na hipertensão arterial, no diabetes, na obesidade, no aneurisma e na aterosclerose (ALMABROUK et al., 2014).

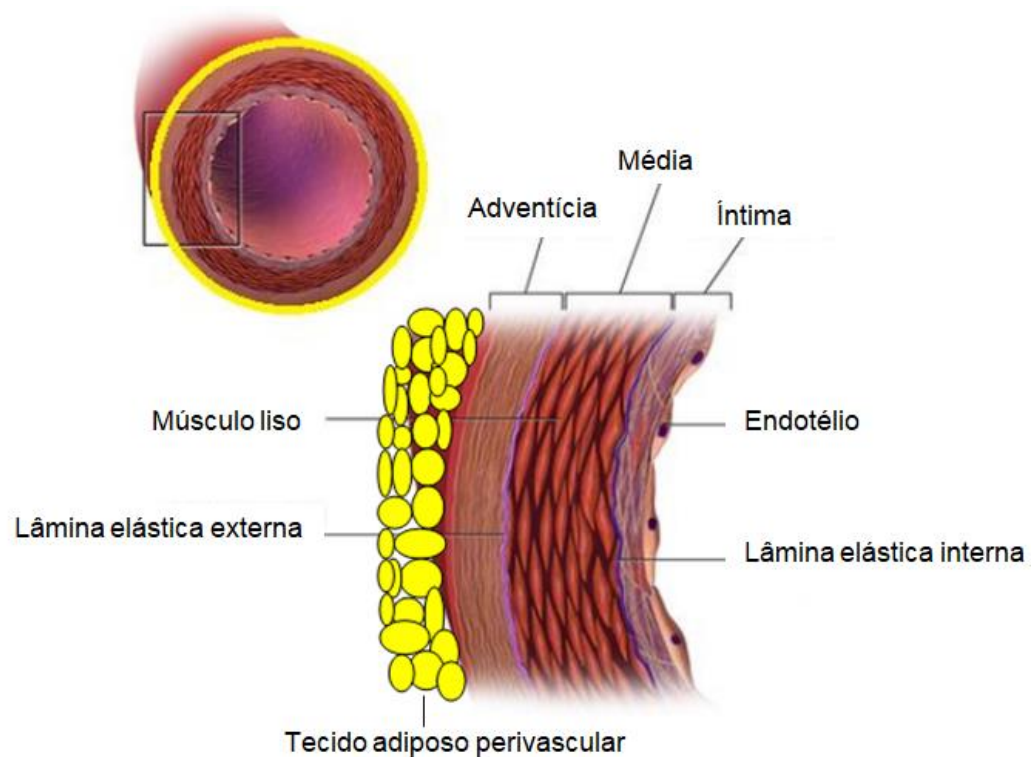


Figura – 1. Representação da estrutura da artéria. A artéria é composta por três camadas bem definidas: a camada íntima, média e adventícia. A camada íntima é formada por células endoteliais e é separada pela camada média pela lâmina elástica interna. A camada média por sua vez, é formada por células do músculo liso e é separada da camada adventícia pela lâmina elástica externa. A proposta de uma quarta camada formada por tecido adiposo perivascular também é proposta como parte estrutural da artéria. (Modificado de Blausen.com staff., 2014).

2.2.1 Disfunção endotelial

Na presença de fatores de risco cardiovascular como o diabetes mellitus, a hiperlipidemia, o tabagismo, o consumo excessivo de álcool e a hipertensão arterial, o equilíbrio homeostático do endotélio é perdido, alterando o padrão fisiológico de produção e liberação de vários mediadores. Esse desequilíbrio é caracterizado pela redução de fatores vasodilatadores e predominância da liberação de fatores vasoconstritores, fatores de crescimento, tendência à agregação plaquetária, maior adesão de leucócitos e desenvolvimento de trombose (AFLYATUMOVA et al., 2018; VANHOUTTE, 2009). A superprodução de fatores contráteis e uma produção prejudicada de fatores

vasodilatadores predispõe ao aumento da resistência vascular periférica, uma situação comum em doenças como a hipertensão arterial e o diabetes mellitus (TAKAOKA et al., 2009). Alguns estudos, tanto em humanos como em animais experimentais (GAMEZ-MENDEZ et al., 2015; MA et al. 2010, OISHI et al., 2018), têm demonstrado a existência de disfunção endotelial na obesidade e em situação de dislipidemia, a qual tem sido caracterizada por alterações no relaxamento dependente do endotélio induzido por agonistas como a acetilcolina e a bradicinina. Entretanto, a disfunção endotelial não se resume apenas a um prejuízo da resposta vasodilatadora dependente do endotélio. Outros estudos têm demonstrado que na obesidade, o endotélio disfuncional produz maiores quantidades de fatores vasoconstritores (LOBATO et al., 2012; TRAUPE et al., 2002). Estes fatores, além da ação vasoconstritora, também participam de processos de crescimento e proliferação celular e da agregação plaquetária (FUJINO et al., 2002; KASHIWAGI et al., 2018).

Os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da disfunção endotelial são múltiplos e dependem da situação de risco ao qual o indivíduo está exposto, bem como do leito vascular em questão (LOBATO et al., 2012; POBER; MIN; BRADLEY, 2008; SU, 2015). A diminuição da expressão e/ou atividade da eNOS, enzima responsável pela produção de óxido nítrico no endotélio, é um dos mecanismos relacionados com o desenvolvimento da disfunção endotelial (FORSTERMANN; MUNZEL, 2006). Alguns fatores, como o $TNF\alpha$ e a lipoproteína de baixa densidade oxidada (Ox-LDL) quando em concentrações elevadas, como na obesidade, podem alterar a expressão e atividade da eNOS (CARRIZO et al., 2018). Outro mecanismo relacionado com o desenvolvimento da disfunção endotelial é o estresse oxidativo. Uma produção exagerada de espécies

reativas de oxigênio e nitrogênio, juntamente com deficiência dos sistemas antioxidantes endógenos levam a um prejuízo da biodisponibilidade de $\bullet\text{NO}$ (MAURICIO et al., 2018), e, portanto, a uma maior predisposição à adesão e agregação plaquetária, à proliferação do músculo liso vascular, à inflamação e à aterogênese (MAURICIO et al., 2018). O estresse oxidativo também induz desacoplamento da eNOS e assim contribui ainda mais para a disfunção vascular (FORSTERMANN; MUNZEL, 2006).

Além desses mecanismos, merecem destaque no desenvolvimento da disfunção endotelial os produtos derivados do metabolismo do ácido araquidônico/ ciclooxigenase (COX). O aumento da expressão da COX e da liberação de prostanóides vasoconstritores têm sido associados ao desenvolvimento de disfunção endotelial em diversas condições de risco cardiovascular, como a obesidade, a hipertensão arterial e o diabetes mellitus (BAGI et al., 2006; TRAUPE et al., 2002; XAVIER et al., 2008). Os prostanóides derivados da via da COX quando liberados em excesso podem provocar prejuízo da vasodilatação dependente do endotélio e aumento da resposta vasoconstritora (DE QUEIROZ et al., 2017). Em condições basais, os prostanóides são encontrados em baixas concentrações, no entanto, em situações de estresse oxidativo ocorre um significativo aumento na concentração destes mediadores, devido maior geração de radicais livres (MUÑOZ et al., 2015; TIAN et al., 2012). Algumas ERO, a exemplo dos ânions superóxido, induzem a expressão e atividade da COX-2, ao mesmo tempo em que o metabolismo da COX-2 também gera ânions superóxido (HU et al., 2017; MARTÍNEZ-REVELLEZ et al., 2013; ONODERA et al., 2015). Esse ciclo vicioso potencializa o desequilíbrio redox e, portanto, contribui ainda mais para o prejuízo da biodisponibilidade do $\bullet\text{NO}$ e para o desenvolvimento da disfunção endotelial (VIRDIS et al., 2013).

A capacidade de reparação do endotélio também é um importante fator para manter a homeostase da parede vascular. As células progenitoras endoteliais têm a capacidade de se diferenciar e apresentar características de células endoteliais, auxiliando com isso na reparação do tecido lesado. Entretanto, em algumas condições patológicas, como o diabetes mellitus, a capacidade de diferenciação dessas células está prejudicada, o que contribui para a manutenção do quadro de disfunção endotelial (CARRIZO et al., 2018).

A disfunção do endotélio cursa com desequilíbrio no controle do tônus vascular podendo acarretar a longo prazo em elevação sustentada da pressão sanguínea. Em resposta a esta alteração hemodinâmica, a camada média da parede vascular é capaz de reorganizar os componentes celulares e extracelulares e assim participar ativamente do processo de remodelamento vascular (RUDIC, SESSA, 1999).

2.2.2 Remodelamento vascular

Está bem documentado na literatura que várias situações de risco cardiovascular, como a hipertensão arterial, o diabetes mellitus e o envelhecimento, cursam com alterações da estrutura dos vasos de resistência (INTENGAN & SCHIFFRIN, 2001; SPINETTI et al., 2008; WANG et al., 2015), as quais têm sido denominadas de remodelamento vascular. Este processo refere-se à capacidade da parede vascular reorganizar seus componentes celulares e extracelulares em resposta a um estímulo crônico, como por exemplo, o aumento de fluxo sanguíneo, o aumento da pressão transmural ou em resposta a alguns mediadores químicos (INTENGAN, SCHIFFRIN, 2001; LAWRENCE, GOOCH, 2009; MULVANY, 1999; TOUYZ, 2007). O remodelamento

vascular é um processo complexo e ativo que envolve vários outros processos, como apoptose, proliferação, migração e hipertrofia das células vasculares (PING et al., 2015).

O remodelamento vascular pode ser classificado como eutrófico (quando há somente um rearranjo dos constituintes da parede vascular, sem alteração na quantidade de material na parede do vaso), hipertrófico (quando existe um aumento desse material) ou hipotrófico (quando existe uma diminuição na quantidade de material na parede do vaso). Esse remodelamento pode ainda ser classificado como “para dentro”, quando ocorre redução do diâmetro interno, ou “para fora”, quando o diâmetro interno aumenta (MULVANY, 1999) (Figura 2). É importante destacar que o crescimento da parede vascular contribui de forma diferente para as alterações estruturais e podem depender do leito vascular e do modelo experimental estudado (BRIONES et al., 2006).

O remodelamento eutrófico para dentro é encontrado principalmente na hipertensão essencial humana, assim como em artérias de resistência de ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Neste tipo de remodelamento, existe uma redução no diâmetro do lúmen e aumento da espessura da parede, porém sem alteração na área de secção transversal do vaso. O mecanismo exato responsável por esse tipo de remodelamento ainda não é totalmente esclarecido (LITTLE et al., 2017; NÁDASY et al., 2010). Em um estudo com SHR, demonstrou-se a participação de integrinas $\alpha v \beta 3$ e $\alpha 5 \beta 1$ e de proteínas transmembranares juntamente com aumento do conteúdo de colágeno no desenvolvimento deste tipo de remodelamento (BAKKER et al., 2004, INTENGAN, THINBAULT, SCHIFFRIN, 1999). Existem ainda evidências de que o remodelamento eutrófico está presente em situações onde o sistema renina-angiotensina está ativado, o que indica a sua participação no desenvolvimento deste tipo alteração estrutural

(SCHIFFRIN, 2012).

O remodelamento hipertrófico pode ser evidenciado em portadores de hipertensão secundária, como nos modelos animais DOCA-Sal (DENG, SCHIFFRIN, 1992), Um-Rim Um-Clipe (KORSGAARD & MULVANY, 1988; DENG, SCHIFFRIN, 1991) e Dahl-Sal sensível (D'USCIO et al., 1997), assim como é observado em indivíduos com idade avançada (BRIONES; SALAICES; VILA, 2007). Além disso, esse tipo de remodelamento também é evidenciado na aorta torácica de animais SHR (QUINTANA-VILLAMANDOS et al., 2016). Caracteriza-se pelo aumento da espessura da parede, da relação parede:lúmen e da área de secção transversal (MULVANY, 1993; NEW et al., 2004).

O remodelamento hipotrófico caracteriza-se pela diminuição da área de secção transversal. Este tipo de remodelamento pode ser encontrado em alguns modelos de hipertensão arterial e em diferentes leitos vasculares, como por exemplo, nas artérias mesentérica de resistência de ratos hipertensos pela administração crônica de ouabaína (BRIONES et al., 2006), nas arteríolas aferentes renais de animais hipertensos (NORRELUND et al., 1994) e na aorta torácica de ratos obesos (CARMO et al., 2019).

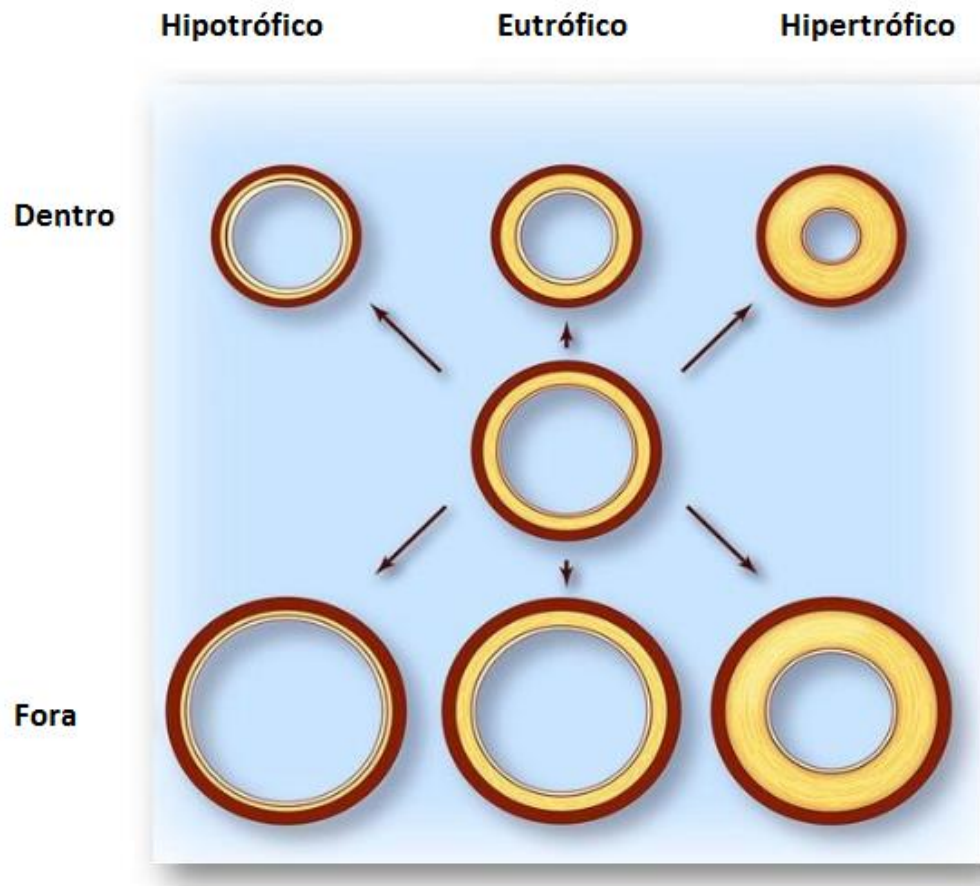


Figura – 2. Diferentes tipos de remodelamento vascular podem se desenvolver: Remodelamento hipertrórico (a área de secção transversal aumenta), hipotrórico (a área de secção transversal reduz) e eutrórico (a área de secção transversal não sofre alteração). O remodelamento pode ainda ser classificado como para dentro quando ocorre redução do diâmetro interno e para fora quando o diâmetro interno aumenta. (Modificado de Mulvany et al., 1996).

O remodelamento vascular também cursa com alterações das propriedades mecânicas da parede arterial, as quais também podem influenciar a relação pressão:diâmetro e assim a resistência ao fluxo sanguíneo (HADJU et al., 1994). Aumento da rigidez e redução da distensibilidade e complacência são alterações bastante comuns em artérias remodeladas. A complacência é a capacidade do vaso se distender frente a aumentos da pressão transmural; depende da geometria e da rigidez dos componentes da parede arterial. Uma diminuição do diâmetro interno resultante do

remodelamento vascular pode reduzir a complacência vascular. Entretanto, esta complacência pode ser normalizada pela redução da rigidez dos componentes da parede arterial (INTENGAN et al., 1999b). Já o módulo elástico é independente da geometria e depende basicamente da rigidez dos componentes da parede vascular. Assim, a elasticidade arterial é determinada pela combinação do módulo elástico dos componentes da parede vascular como: tecido conectivo, elastina, fibras colágenas, células musculares lisas e endoteliais (MULVANY, 1992).

Os mecanismos que levam ao enrijecimento da parede vascular estão relacionados com a degradação de fibras elásticas, hiperplasia e hipertrofia das células musculares lisas, com aumento da sua contratilidade, deposição de colágeno e calcificação arterial (VAN VARIK et al., 2012). A rigidez da parede vascular é considerada um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Além disso, em situações patológicas já instaladas, como na obesidade e no diabetes mellitus, o processo de enrijecimento dos vasos ocorre de maneira mais acelerada (AROOR et al., 2013). No remodelamento arterial, a matriz extracelular sofre alterações em sua composição e distribuição (VAN VARIK et al., 2012). Quando ocorre um aumento da pressão transmural, as fibras elásticas se reorganizam com o objetivo de suportar a maior tensão de parede (CUI; HU; KHALIL, 2017; WAGENHAUSER et al., 2018;). No entanto, a fim de evitar ruptura da parede, decorrente do aumento de tensão, as fibras de colágeno agem limitando a distensão das fibras elásticas (BRIONES; ARRIBAS; SALAICES, 2010). A degradação das fibras elásticas ocorre principalmente através do aumento da atividade de metaloproteinases (BRIONES; ARRIBAS; SALAICES, 2010; WAGENHAUSER et al., 2018).

As metaloproteinases (MMP) pertencem a família de endoproteases dependentes de zinco e desempenham papel fundamental na organização e no remodelamento da parede vascular. A primeira MMP foi descoberta em 1962 e atualmente já foram identificadas vinte e oito enzimas; quatorze delas são expressas na parede vascular (CUI; HU; KHALIL, 2017). O remodelamento vascular e a angiogênese são processos biológicos intensamente regulados pelas MMP, através da regulação da proliferação, migração e diferenciação celular. As MMP também estão envolvidas no processo de apoptose celular e nas respostas inflamatórias e imunes (LIU; KHALIL, 2017). O equilíbrio entre ativadores e inibidores dessas proteases define a sua atividade. Fatores inflamatórios, como o TNF- α e a IL-1 e alguns hormônios, como o estrógeno e a progesterona, bem como a angiotensina II e os fatores de crescimento podem regular a expressão das MMP (CUI, HU, KHALIL, 2017; MYASOEDOVA et al., 2018). Além disso, as ERO atuam estimulando a síntese e atividade das MMP (MARTINEZ-LEMUS et al., 2011), assim como o $\bullet$ NO também pode ser um de seus ativadores (LACOLLEY et al., 2017; MYASOEDOVA et al., 2018). No que diz respeito à inibição da atividade das MMP, além dos inibidores endógenos, inibidores sintéticos vêm sendo desenvolvidos a fim de frear sua ação sobre a matriz extracelular. Sendo assim, o desequilíbrio entre ativadores e inibidores das MMP pode modificar a sua atividade e colaborar para o remodelamento da parede vascular em diversas situações de risco cardiovascular, como na aterosclerose, na hipertensão e no aneurisma (LIU; KHALIL, 2017).

2.2.3 Tônus miogênico

Pequenas artérias de resistência e arteríolas apresentam um importante

mecanismo intrínseco para controlar o fluxo sanguíneo e evitar danos ocasionados pelo estresse da parede vascular, o tônus miogênico. Esta resposta se caracteriza por uma contração sustentada da musculatura lisa dos vasos e ocorre em resposta ao aumento de pressão transmural (HOLMBERG et al., 2018). Sendo assim, a resposta miogênica representa um importante mecanismo de autorregulação do fluxo sanguíneo e a alteração desse mecanismo pode comprometer gravemente o funcionamento do sistema vascular (LACOLLEY et al., 2017).

O mecanismo exato da resposta miogênica ainda não foi completamente elucidado. Ela se inicia com a ativação de canais sensíveis ao estiramento, seguida de despolarização das células do músculo liso, ativação dos canais para cálcio do tipo L, com consequente influxo de cálcio e contração muscular (HOLMBERG et al., 2018). Bjorling et al. (2018) demonstraram o envolvimento da via de sinalização da fosfolipase C (PLC) no desenvolvimento da resposta miogênica, assim como da via de sinalização da ROCK na manutenção do tônus miogênico em artérias mesentéricas de resistência de camundongos.

Assim como a redução do tônus miogênico pode comprometer a autorregulação do fluxo sanguíneo, o aumento desta resposta também pode estar relacionado com complicações hemodinâmicas devido ao aumento da resistência vascular periférica (EL-YAZBI; ABD-ELRAHMAN, 2017). Estudos prévios do Laboratório de Reatividade Vascular da UFPE demonstraram aumento da resposta miogênica em artérias mesentéricas de resistência em prole adulta de ratas alimentadas com uma dieta hipersódica. Além disso, os animais também apresentaram remodelamento vascular e disfunção endotelial (SANTOS-ROCHA, 2018).

2.3 EQUILÍBRIO REDOX E ESTRESSE OXIDATIVO

As ERO são compostos químicos resultantes da ativação ou redução do O_2 ou derivados dos produtos da redução. Dentre as ERO se destacam o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxila ($HO\bullet$) e o peroxinitrito ($ONOO^-$). Dessas, o radical hidroxila é a mais reativa e a mais nociva das ERO; além disso, até o momento nenhuma enzima foi identificada como capaz de realizar sua detoxificação (HAUCK et al., 2019). As ERO podem ser geradas por diversos sistemas enzimáticos como: a NADPH oxidase, a eNOS desacoplada, as mieloperoxidases, as lipoxigenases, as cicloxigenases, a xantina oxidase e o citocromo p450 (BARDAWEEL et al., 2018; SENA et al., 2018). Quando em níveis fisiológicos, as ERO possuem importantes funções no organismo; funcionam, por exemplo, como segundos mensageiros em diversas vias de sinalização (ALCALA et al., 2018). Entretanto, quando em níveis elevados, essas substâncias podem ser extremamente nocivas para células e tecidos, além do mais, a capacidade do sistema de defesa antioxidante do corpo em neutralizar e eliminar essas espécies fica prejudicada. Esse desequilíbrio no sistema redox leva à instalação do estresse oxidativo que representa peça chave no desenvolvimento e progressão de diversas doenças, como as DCV e as doenças neurodegenerativas (GARCÍA RUIZ; FERNÁNDEZ-CHECA, 2018; SENA et al., 2018). Proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos são importantes alvos das ERO, o que pode acarretar alterações do funcionamento celular devido a degradação de lipídeos da membrana e mutação do material genético (ALZOGHAIBI, 2013).

O sistema de defesa antioxidante do organismo pode ter origem endógena ou enzimática e exógena ou não enzimática. A superóxido dismutase (SOD), a catalase, a

glutathione peroxidase e a glutathione reductase são algumas das enzimas responsáveis por eliminar as ERO. Já a defesa não enzimática inclui aquelas provenientes da dieta, como os polifenóis e as vitaminas C e E (ORE; AKINLOIE, 2019; RESHI; SU; HONG, 2014). Existem três isoformas da SOD: a SOD1, presente no citosol da célula, a SOD2, encontrada dentro das mitocôndrias e a SOD3, situada no meio extracelular (PIGNATELLI et al., 2019). A SOD é uma importante enzima antioxidante que atua dismutando o ânion superóxido em peróxido de hidrogênio e moléculas de oxigênio. O peróxido de hidrogênio, por sua vez, também é considerado uma ERO e, portanto, quando em excesso contribui para o estresse oxidativo e para o dano celular. Diante disso, duas indispensáveis enzimas, a catalase e a glutathione peroxidase, atuam na conversão do peróxido de hidrogênio em moléculas de oxigênio e água (JEEVA et al., 2015; MATSCHKE; THEISS; MATSCHKE, 2019). Quando na presença do íon ferro, o peróxido de hidrogênio pode gerar o radical hidroxila (Figura 3) (INDO et al., 2015).

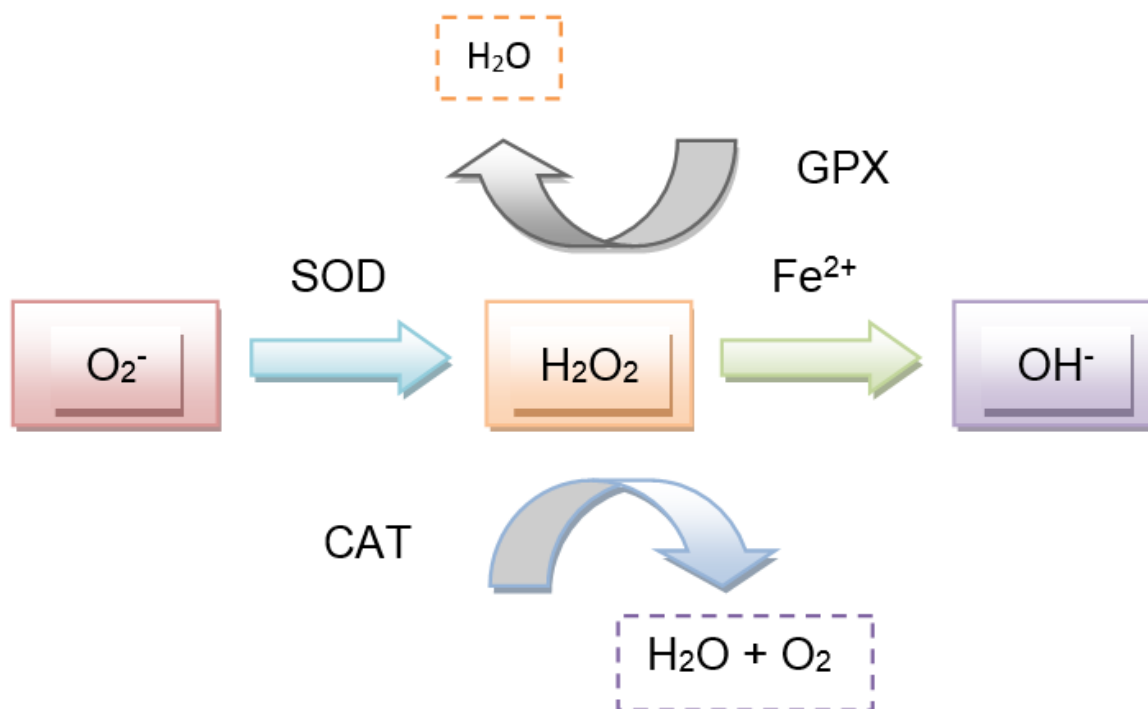


Figura – 3. Esquema da formação de espécies reativas de oxigênio. O ânion superóxido (O_2^-) é dismutado pela enzima superóxido dismutase (SOD) em peróxido de hidrogênio. Este por sua vez é convertido em moléculas de oxigênio e água por ação de duas enzimas: a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPX). O H_2O_2 pode gerar o radical hidroxila (OH^-) na presença do íon ferro (Fe^{2+}).

No sistema vascular, o estresse oxidativo promove inúmeros prejuízos, dentre eles estão a diminuição da vasodilatação dependente do endotélio e o aumento da resposta vasoconstritora. Uma das principais causas destas alterações é a interação dos ânions superóxidos com o $\bullet\text{NO}$. Essa reação ocorre com grande velocidade e diminui a biodisponibilidade do $\bullet\text{NO}$, além de gerar uma outra espécie reativa, o peroxinitrito (ONOO^-) que possui efeitos antagônicos aos do $\bullet\text{NO}$; isso, portanto, contribui ainda mais para o desequilíbrio redox (HERNANZ et al., 2012).

No sistema vascular, a principal fonte geradora de ERO é a enzima NADPH oxidase (MANEA, 2010). A NADPH oxidase é formada por seis subunidades: a gp91phox (a maior de todas as subunidades), a p22phox, uma proteína G regulatória conhecida por

Rac2 e três subunidades citoplasmáticas: p47phox, p40phox e p67phox. A sua ativação se inicia com a fosforilação da subunidade p47phox que subsequentemente forma um complexo com a subunidade p40phox (BURTENSHAW et al., 2017). A gp91phox compreende a família da NOX, composta por sete isoformas: NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, Duo1 e Duo2 (HAUCK et al., 2019; RABÊLO et al., 2010). A NOX1, NOX2, NOX3 e NOX5 produzem superóxido enquanto a NOX4, Duo1 e Duo2 produzem diretamente o H_2O_2 (BURTENSHAW et al., 2017; YAO et al., 2017).

Todas as camadas que compõem a parede vascular expressam isoformas da NOX. As células endoteliais, as células do músculo liso e a camada adventícia expressam as isoformas NOX1, NOX2, NOX4 e NOX 5, sendo a NOX4 a de maior expressão nessas três camadas. A NOX1 também é altamente expressa na camada média e a NOX 2 na camada adventícia (BURTENSHAW et al., 2017). Um aumento na expressão dessas isoformas está relacionado com estresse oxidativo vascular e disfunção endotelial (CHRISSOBOLIS et al., 2012; SIMPLICIO et al., 2017). Camargo et al. (2018) demonstraram um aumento na expressão de NOX1 e NOX 4, acompanhado de aumento da resposta contrátil à noradrenalina e redução da resposta relaxante à acetilcolina em um modelo de hipertensão arterial. Ademais, Mahmoud et al. (2017) demonstraram em artérias do músculo esquelético de humanos, aumento da produção de ERO e diminuição da biodisponibilidade de $\bullet NO$ que foi associada com maior expressão da NOX2 em um modelo de hiperinsulinemia.

2.3.1 Estresse oxidativo e obesidade

A obesidade está associada a uma maior produção de ERO devido, sobretudo, à expansão do tecido adiposo e sua infiltração por células inflamatórias (FERNÁNDEZ-SANCHEZ et al., 2011). Acredita-se que a grande quantidade de ácidos graxos no tecido adiposo seja o estímulo inicial para a produção excessiva de ERO (PERIS et al., 2019). As ERO do tecido adiposo são geradas através de diversas formas, entretanto as principais fontes geradoras dessas moléculas são provenientes da mitocôndria e da enzima NADPH oxidase (HAUCK et al., 2019). Nesse sentido, Alcalá et al. (2017) demonstraram que a obesidade induzida por dieta em camundongos foi acompanhada de aumento da atividade da NADPH oxidase mitocondrial do tecido adiposo marrom e de uma maior produção de ERO. Além de disfunção mitocondrial, a obesidade também está relacionada com o aumento da peroxidação lipídica (AMOS et al., 2017). O estresse oxidativo pode ainda estimular uma maior deposição de tecido adiposo branco, aumentar a proliferação, diferenciação e tamanho dos adipócitos. Ademais, o desequilíbrio redox está associado a uma piora do estado inflamatório e ao desenvolvimento de resistência à insulina no tecido adiposo através da ativação da via de sinalização do NF- κ B (DLUDLA et al., 2019). Esse quadro, portanto, contribui para o desenvolvimento de doenças metabólicas, dentre elas o diabetes mellitus do tipo 2 (TANGVARASITTICHA, 2015).

A NOX4 é a isoforma mais expressa no tecido adiposo e tem grande participação no desenvolvimento do estresse oxidativo em situação de obesidade (HAN, 2016). Hartigh et al. (2017) demonstraram que camundongos que não expressavam a NOX4 no tecido adiposo apresentaram um retardo no desenvolvimento de resistência à insulina. Além disso, esses animais tiveram uma melhora do perfil inflamatório do tecido adiposo.

Níveis elevados de leptina também são encontrados em indivíduos obesos e estão relacionados à quantidade de tecido adiposo (EKMEN et al., 2016). Tem sido demonstrado que a hiperleptinemia pode colaborar para o desenvolvimento de estresse oxidativo através da ativação da NADPH oxidase (PANDEY et al., 2015). Além disso, este hormônio estimula a proliferação de monócitos e macrófagos, além de induzir a maior produção de citocinas inflamatórias (PAZ-FILHO et al., 2012). Como consequência, mais ERO são geradas e maior é a progressão do estresse oxidativo induzido por obesidade (MANNA; JAIN, 2015).

Além destes mediadores citados acima, os componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) também são produzidos pelo tecido adiposo, os quais são potentes indutores de eventos pró-inflamatórios neste tecido. Os adipócitos têm a maquinaria enzimática necessária para a síntese e atividade dos componentes do SRAA incluindo angiotensinogênio, enzima conversora de angiotensina (ECA 1 e 2), receptores AT1 e AT2, sintase de aldosterona (CYP11B2) e receptor de mineralocorticóides (CASSIS et al., 2008; NGUYEN DINH CAT et al., 2011). Como é sabido, a angiotensina II, o principal mediador deste sistema, é um potente indutor da produção de ERO, a qual envolve ativação da NADPH oxidase e da COX-2 (NIAZI et al., 2017; ZHANG et al., 2015).

2.4 SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA: PAPEL SOBRE O SISTEMA VASCULAR E SUA RELAÇÃO COM A OBESIDADE.

O SRAA desempenha importante papel na regulação, a curto e longo prazo, da pressão arterial e do balanço hidroeletrólítico (JAGADEESH, 1998). Parte da ação do SRAA na regulação da pressão arterial se deve aos efeitos diretos e indiretos da

angiotensina II sobre a excreção renal de sódio (HARRIS; NAVAR, 1985). Entretanto, a ação deste hormônio sobre a função cardíaca e vascular também desempenha um papel importante na regulação da pressão arterial e na patogênese de várias doenças cardiovasculares. No coração, a expressão aumentada de RNAm para o angiotensinogênio (KAWAMURA; ITOH, YURA 2007) tem sido associada à hipertensão e ao remodelamento cardíaco, determinado por maior deposição de colágenos I e III, aumento de citocinas pro-inflamatórias, elevação de MMP-2 e diminuição de inibidor tecidual de MMP-1. A angiotensina II é também um potente vasoconstritor e tem ações mitogênicas, pró-inflamatórias e pró-fibróticas na parede vascular (TOUYZ; SCHIFFRIN, 2000). Um aumento da atividade do SRAA, com maior liberação de seus componentes, tem sido reportado em diversas condições onde a função cardíaca e vascular está prejudicada, como na hipertensão arterial, na insuficiência cardíaca, na aterosclerose, na obesidade e no diabetes mellitus tipo 2 (RIBEIRO-OLIVEIRA et al., 2008; SCHUTTEN et al., 2017; UNGER; LI, 2004).

2.4.1 Características fisiológicas do SRAA

A renina é uma enzima produzida pelas células justaglomerulares renais e sofre conversão a partir de uma enzima chamada prorenina. Possui importante função por ser a enzima que cataliza a primeira etapa de ativação da cascata do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Ela é responsável por clivar o angiotensinogênio, produzido pelo fígado, em angiotensina I. Esta por sua vez, sofre clivagem e é transformada em angiotensina II através de uma enzima conhecida como enzima conversora de angiotensina (ECA) (SZCZEPANSKA-SADOWSKA; CZARZASTA; CUDNOCH-

JEDRZEJEWSKA, 2018). A angiotensina I também pode ser clivada em angiotensina 1-9 e esta por sua vez em angiotensina 1-7 por um homólogo da ECA, a ECA-2. Além disso, a própria angiotensina II pode sofrer clivagem pela ECA-2 e originar a angiotensina 1-7. A angiotensina 1-7 atua nos receptores do tipo Mas e sua ação é contrária aquelas provocadas pela angiotensina II (PAHLAVANI et al., 2017). Em situações fisiológicas este sistema é ativado pelos barorreceptores das células justaglomerulares, sempre que ocorrer uma queda de pressão de perfusão; pelas células da mácula densa, quando houver a detecção de queda da concentração de íons sódio e pela estimulação dos receptores β_1 das células justaglomerulares, quando há a estimulação das terminações nervosas simpáticas do aparelho justaglomerular (LYONS; CHRUCHHILL, 1975; UEDA, 1976; PETI-PERTERDI; HARRIS, 2010).

A angiotensina II é um octopeptídeo que exerce diversas funções biológicas no organismo e está envolvida com uma variedade de vias de sinalização, como as relacionadas com a diferenciação e divisão celular, hipertrofia cardíaca e vascular e da vasomotricidade. É considerada o principal efector do SRAA; seus efeitos dependem do tipo de receptor ativado (BUSSARD; BUSSE, 2018). Ao se ligar ao receptor AT1, a angiotensina II pode causar diversas ações, como a ativação de vias inflamatórias e oxidativas, vasoconstrição e o aumento da reabsorção de sódio pelo rim (NISHIYAMA; KOBORI, 2018). Já a ativação do receptor AT2 provoca dentre suas ações, aumento da produção de $\bullet$ NO e bradicinina, além de efeitos antiapoptóticos, antifibróticos e anti-inflamatórios (KASCHINA; NAMSOLLECK; UNGER, 2017). Sendo assim, enquanto o receptor AT1 colabora com processos patológicos, como a elevação da pressão arterial, o receptor AT2 está mais envolvido com mecanismos de proteção cardiovascular e renal

(NISHIYAMA; KOBORI, 2018).

A angiotensina II também é produzida localmente em diversos tecidos, como no tecido cardíaco, vascular e nervoso (ABADIR; WALSTONA; CAREY, 2012). No sistema vascular, a ativação do SRAA com superprodução de angiotenina II está relacionada com grandes complicações, como disfunção endotelial e remodelamento vascular (NEVES et al., 2018, SANTOS-ROCHA et al., 2019). Diante disso, proliferação e hipertrofia do músculo liso vascular, prejuízo da vasodilatação e degradação da matriz extracelular são alguns efeitos causados pelo principal peptídeo do SRAA. O mecanismo pelo qual a angiotensina II pode estar envolvida com o prejuízo da função vascular ocorre principalmente através da produção exagerada de ERO provenientes da enzima NADPH oxidase (RODRÍGUEZ-LARA; GARCÍA-BENAVIDES; MIRANDA-DÍAZ, 2018). Ao interagir com o receptor AT1, a angiotensina II é capaz de ativar a enzima NADPH oxidase (COOPER, 2004). Esta enzima, como já mencionado anteriormente, é a principal fonte de geração de ERO no tecido vascular e, portanto, a principal responsável pelo desenvolvimento do estresse oxidativo neste tecido. As ERO quando produzidas de forma exagerada induz oxidação de um dos co-fatores da eNOS, a tetrahydrobiopterina (BH4) (MAHMOUD et al., 2017). Com a redução da biodisponibilidade deste co-fator, a eNOS assume o estado desacoplado, deixando de contribuir para a proteção vascular através da síntese de •NO e passando a contribuir para o dano vascular. No estado desacoplado a eNOS ao invés de produzir •NO, produz ânions superóxido, contribuindo ainda mais para o estresse oxidativo já instalado e favorecendo o desenvolvimento de disfunção endotelial (CHUAIPHICHAH et al., 2018; SCHUTTEN et al., 2017). Outro importante efeito induzido pela angiotensina II ao interagir com o receptor AT1 é a

estimulação da produção de aldosterona pela glândula suprarrenal (NISHIYAMA; KOBORI, 2018).

A liberação de aldosterona representa a última etapa do processo de ativação do SRAA. Ao interagir com o receptor de mineralocorticoide, a aldosterona exerce importante papel na regulação da pressão arterial e do equilíbrio hidroeletrolítico. Sua relação com a regulação dos níveis de pressão sanguínea ocorre devido ao seu efeito na retenção do sódio e assim no controle da volemia (CANNAVO et al., 2018). O receptor de mineralocorticoide é considerado um receptor para corticosteroide pertencente a grande família dos receptores nucleares. Em 1987, foi reconhecido como receptor também para aldosterona, possuindo a mesma afinidade apresentada pelo cortisol (ARRIZA et al., 1987). Este receptor está expresso em diversos tecidos, além do próprio rim, como no coração, nas células endoteliais, nas células musculares lisas, nos fibroblastos e até mesmo no tecido adiposo (GORINI et al., 2018).

Diante da sua capacidade em alterar o volume intravascular, os níveis circulantes de aldosterona e os níveis de expressão e/ou hiperativação do receptor de mineralocorticoide possuem grande impacto no desenvolvimento e progressão de DCV e seus principais fatores de riscos, como é o caso da hipertensão arterial. Na vasculatura, a ativação da via de sinalização da aldosterona/receptor de mineralocorticoide está relacionada com diversos prejuízos estruturais e funcionais. Sua capacidade em ativar diversas vias de sinalização, como da ERK, NOX2 e NOX4 e da síntese de colágeno pode induzir aumento do estresse oxidativo da parede vascular, aumento da resposta inflamatória e também o desenvolvimento de remodelamento vascular (CANNAVO et al., 2018). Silva et al. (2015), demonstraram redução do estresse oxidativo e prevenção de

disfunção vascular após o antagonismo dos receptores de mineralocorticoide em um modelo de diabetes mellitus tipo 2. Essa resposta foi associada com um aumento do sistema de defesa antioxidante e da restauração da via de sinalização do $\bullet$ NO (SILVA et al. 2015).

Devido ao fato de o SRAA apresentar uma estreita relação com o desenvolvimento de DCV, diversas ferramentas farmacológicas têm sido utilizadas a fim de bloquear este sistema e assim obter maior controle dessas complicações e seus fatores de riscos. Dentre o grupo de fármacos mais utilizados no tratamento das doenças que atingem o sistema cardiovascular e que é capaz de bloquear o SRAA estão os antagonistas dos receptores AT1, os inibidores das ECA e os antagonistas dos receptores de mineralocorticoides (FERRARIO; MULLICK, 2017; MUNEER; NAIR, 2017;). Um estudo realizado no Laboratório de Reatividade Vascular da UFPE, utilizando prole de ratas diabéticas, mostrou que a angiotensina II pode ser considerada um importante mediador da disfunção vascular programada por hiperglicemia nesses animais e que o uso crônico de um antagonista do receptor AT1, o losartan, foi capaz de reverter esta disfunção (DE QUEIROZ et al., 2017).

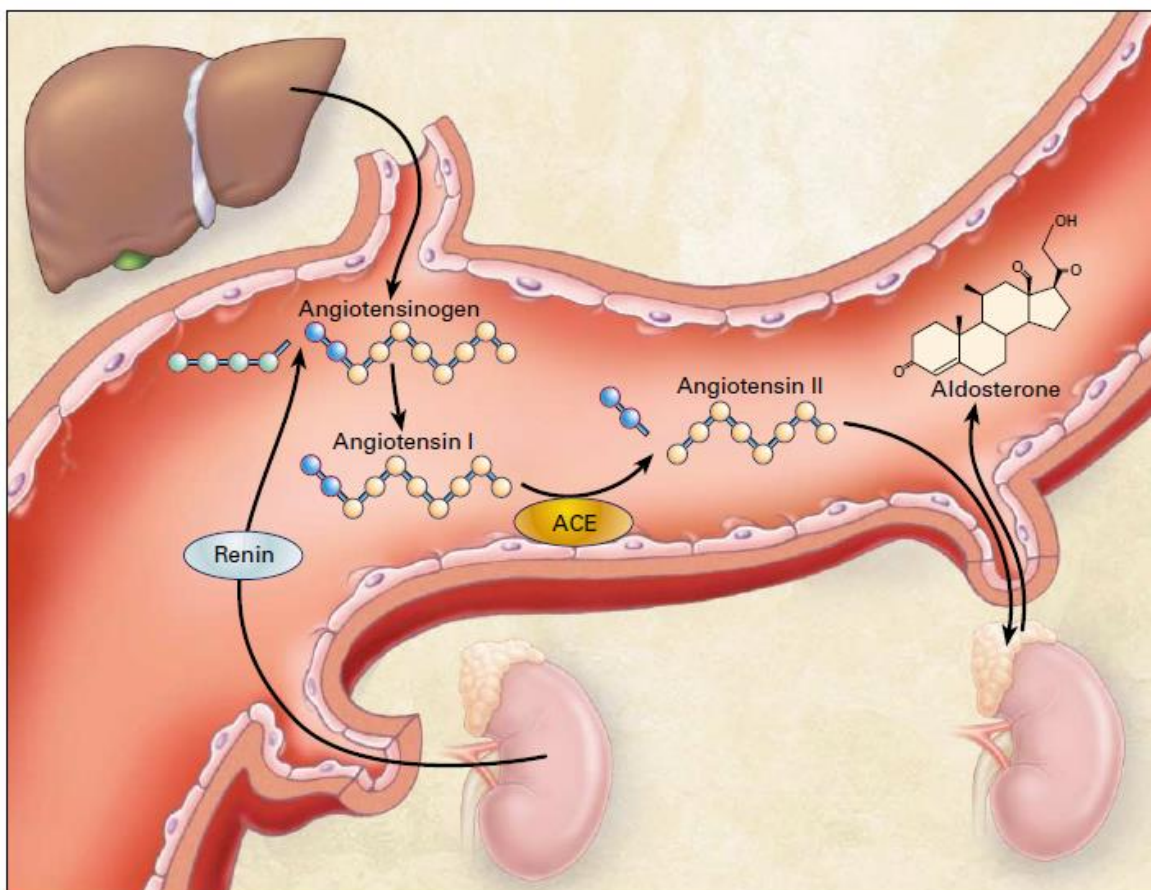


Figura – 4. A renina liberada pelo rim na corrente sanguínea converte o angiotensinogênio proveniente do fígado em angiotensina I. Esta por sua vez, sofre ação da enzima conversora de angiotensina (ACE) e é convertida em angiotensina II. Por fim, a angiotensina II estimula a secreção de aldosterona pela glândula adrenal. (WEBER., 2001).

2.4.2 O SRAA e sua relação com a obesidade

Como mencionado acima, o tecido adiposo expressa todos os componentes do SRAA e, portanto, tem a capacidade de produzir angiotensina II, independentemente das alterações hemodinâmicas (SCHUTTEN et al., 2017). Estudos mostram que esse sistema se encontra superativado em modelos animais de obesidade e essa maior ativação pode estar relacionada com disfunção do tecido adiposo, devido a um maior estado inflamatório e oxidativo (GRAUS-NUNES; SOUZA-MELLO, 2018; RAMALINGAM

et al., 2017). Além disso, o antagonismo desse sistema pode estar relacionado com perda de peso, assim como a perda de peso também está associada com uma menor atividade do SRAA (BRINK; WELLEN; DELAFONTAINE, 1996; COHEN et al., 2016).

No tecido adiposo, a angiotensina II ao se ligar ao receptor AT1 é capaz de induzir aumento do tamanho de adipócitos, do estado inflamatório e do estresse oxidativo, além de reduzir a sensibilidade à insulina. No entanto, quando se liga ao receptor AT2, a angiotensina II reduz o estado inflamatório e produz modificações nas características do tecido adiposo branco para tecido adiposo marrom (ZHANG Y et al., 2018).

O tecido adiposo branco é a segunda maior fonte de produção de angiotensinogênio, ficando atrás apenas do fígado. Em humanos, os níveis plasmáticos de angiotensinogênio derivado de adipócitos é 22% maior em indivíduos obesos (IMC~40) em comparação com indivíduos com peso normal (IMC~25), o qual está associado a um nível de pressão arterial 15% maior nos indivíduos obesos (UMEMURA; NYUI; TAMURA, 1997). Diante disso, o aumento da massa do tecido adiposo pode estar relacionado com maior expressão desse peptídeo, fato que ocorre também em modelo animal de obesidade induzido por dieta (SCHUTTEN et al., 2017). Além do angiotensinogênio, o tecido adiposo também é considerado uma importante fonte de aldosterona. Este mineralocorticoide ao interagir com seu receptor é capaz de promover rigidez vascular devido ao aumento do estresse oxidativo, do estado inflamatório e de processos pro-fibróticos (CABANDUGAMA; GARDNERA; SOWERS, 2017).

Na obesidade também existe uma superprodução de aldosterona que é independente dos níveis de renina e ou de angiotensina II. O aumento dos níveis deste hormônio está relacionado com os níveis também elevados de leptina durante a

expansão do tecido adiposo. A leptina parece agir diretamente na glândula adrenal, aumentando a expressão da sintase de aldosterona e estimulando a produção de aldosterona por um mecanismo dependente de cálcio (Figura 5) (DAVEL et al., 2018; HUBY et al., 2015; GORINI et al., 2018).

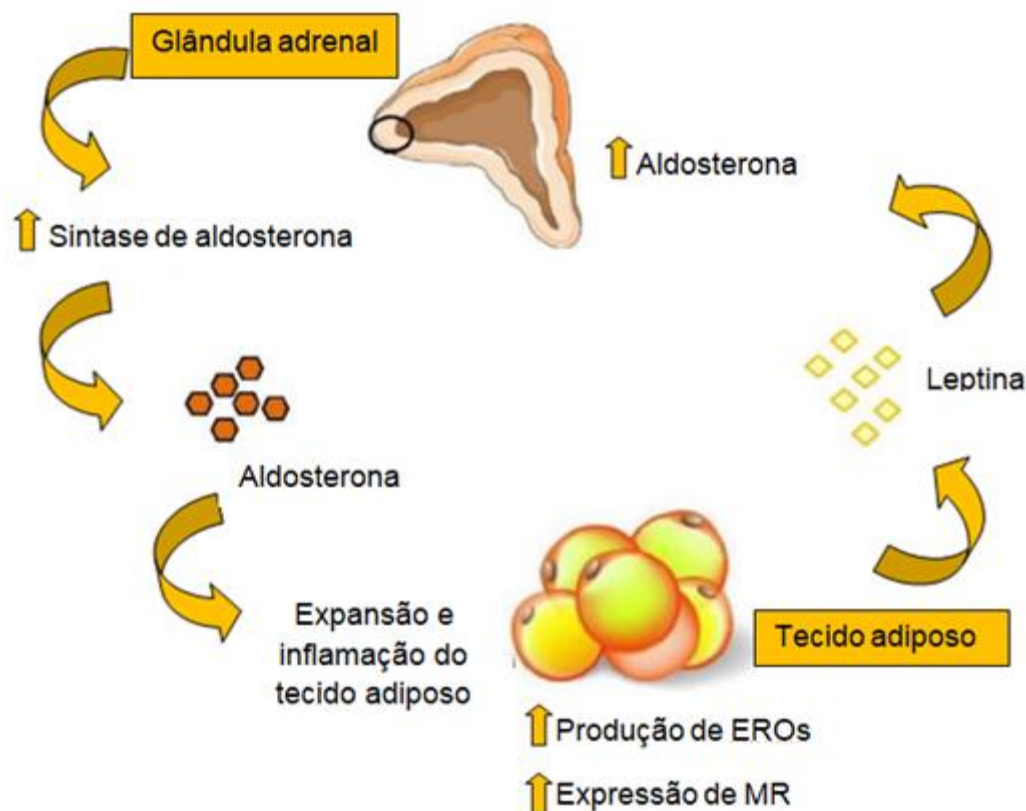


Figura – 5. Relação do sistema renina-angiotensina-aldosterona com a obesidade. Leptina secretada pelo tecido adiposo estimula a secreção de aldosterona através do aumento da expressão da sintase de aldosterona pela glândula adrenal. A aldosterona ativa receptores de mineralocorticoide (MR) nos adipócitos e leva a maior expansão e inflamação do tecido adiposo que gera aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e da expressão de MR (Modificado de GORINI et al., 2018).

2.5 AS PROSTAGLANDINAS E O SEU PAPEL SOBRE O SISTEMA VASCULAR EM CONDIÇÕES FISIOLÓGICAS E PATOLÓGICAS.

O ácido araquidônico (AA) é considerado um ácido graxo essencial e é gerado a partir da hidrólise de fosfolípidos de membrana pela fosfolipase A₂ (PLA₂). O AA quando liberado é metabolizado por um sistema de enzimas, as cicloxigenases (COX) e lipoxigenases (LOX) (TUNARU et al., 2016). As LOX produzem leucotrienos, enquanto as COX são as enzimas responsáveis pela produção das prostaglandinas (PG). Existem duas isoformas da COX, também conhecida como prostaglandina H sintase (PGHS). A ciclooxygenase-1 (COX-1) ou prostaglandina H sintase 1 (PGHS1) é a forma constitutiva e é expressa em diversos tecidos, enquanto a COX-2 ou prostaglandina H sintase 2 (PGHS2) é a forma induzida, expressa em resposta a fatores de crescimento e inflamatórios (SEO; OH, 2017). Embora a COX-2 esteja relacionada principalmente a estímulos inflamatórios, ela também é expressa de forma constitutiva em alguns tecidos, como no cérebro, rim, estômago e no endotélio vascular (LUO; LIU; ZHOU, 2016; SEO; OH, 2017).

A COX converte o AA em prostaglandina endoperóxido estável (PGG₂) que em seguida é reduzida a prostaglandina H₂ (PGH₂). A partir da PGH₂, diversas outras PG podem ser sintetizadas pela ação de enzimas específicas, as prostaglandinas sintases (FELETOU; HUANG; VANHOUTTE, 2010). As PG incluem as prostaglandinas D₂ (PGD₂), E₂ (PGE₂), F_{2α} (PGF_{2α}) e I₂ (PGI₂) ou prostaciclina e o tromboxano A₂ (TxA₂). Elas atuam em receptores específicos acoplados à proteína G, localizados na membrana celular e medeiam tanto respostas fisiológicas como patológicas (PANNUZIO; COLUCCIA, 2018). A PGE₂ atua em quatro tipos de receptores, sendo eles: EP1, EP2, EP3 e EP4. A PGI₂ atua nos receptores do tipo IP. A PGD₂ atua em receptores DP1 e

DP2. A $\text{PGF}_{2\alpha}$ atua nos receptores FP, podendo ser $\text{FP}\alpha$ e $\text{FP}\beta$ e o TxA_2 atua nos receptores $\text{TP}\alpha$ e $\text{TP}\beta$ (Figura 6) (LI et al., 2018).

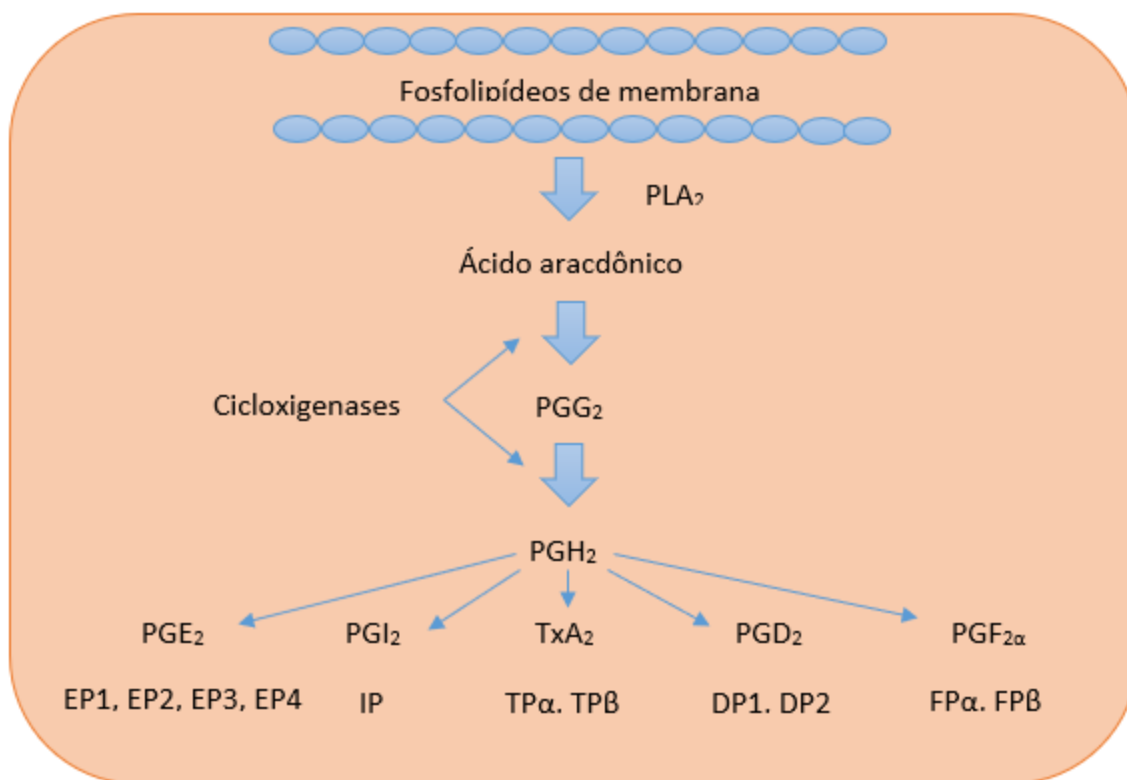


Figura - 6. Esquema da síntese e mecanismos de sinalização dos prostanóides. O ácido araquidônico (AA) gerado a partir da hidrólise dos fosfolipídeos de membrana pela ação da fosfolipase A2 (PLA_2) sofre ação das cicloxigenases. Essas enzimas produzem diferentes prostaglandinas a partir da prostaglandina endoperóxida estável (PGG_2) que é reduzida em seguida a prostaglandina H2 (PGH_2). A PGH_2 é subsequentemente convertida em cinco prostanóides primários estruturalmente relacionados: as prostaglandinas PGE_2 , PGD_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGI_2 e tromboxano A2 (TxA_2). Esses prostanóides se ligam a seus próprios receptores EP1-4, DP1-2, FP, IP e TP, respectivamente, que compreendem uma família distinta de receptores acoplados a proteínas G.

A PGI_2 é encontrada principalmente no endotélio vascular e está relacionada com inibição da agregação plaquetária e o relaxamento das células do músculo liso vascular. A vasodilatação ocorre devido a ativação da enzima adenilato ciclase com consequente aumento dos níveis de AMPc e ativação de proteína kinase A (PKA). Embora sua principal ação seja de vasodilatação, a PGI_2 , quando em excesso, também é capaz de

realizar vasoconstrição via receptores TP, contribuindo assim para o quadro de disfunção endotelial (LIU; LUO; ZHOU, 2016; XAVIER et al., 2009).

As PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$ e o TxA_2 são consideradas prostaglandinas vasoconstritoras derivadas do endotélio vascular. Elas induzem contração das células do músculo liso vascular por aumentar os níveis de cálcio e ativação da proteína kinase C (PKC) ao interagir com receptores do tipo EP1 (PGE_2), FP ($PGF_{2\alpha}$) e TP (TxA_2). A PGE_2 pode provocar vasoconstrição também por inibir a enzima adenilato ciclase e reduzir os níveis de AMPc ao se ligarem aos receptores do tipo EP3. Ademais, quando ligada aos receptores do tipo EP2 e EP4, a PGE_2 induz vasodilatação devido esses receptores serem acoplados a uma proteína do tipo G estimulatória (Gs) ligada à ativação da adenilato ciclase (Figura 7). Além do efeito contrátil, merece também destaque o efeito do TxA_2 na agregação plaquetária, já que este também é produzido por plaquetas e estas por sua vez apresentam elevada expressão do receptor $TP\alpha$ (DOVIZIO et al., 2014). Dessa forma, efeitos aterotrombóticos são mais susceptíveis de acontecer em situações em que existe uma hiperreatividade plaquetária, como é o caso do diabetes mellitus. A ativação dos receptores TP também está relacionada com a proliferação do músculo liso vascular e modificações na estrutura arquitetônica da parede arterial, através do aumento da espessura de parede e remodelamento vascular (CAPRA et al., 2013).

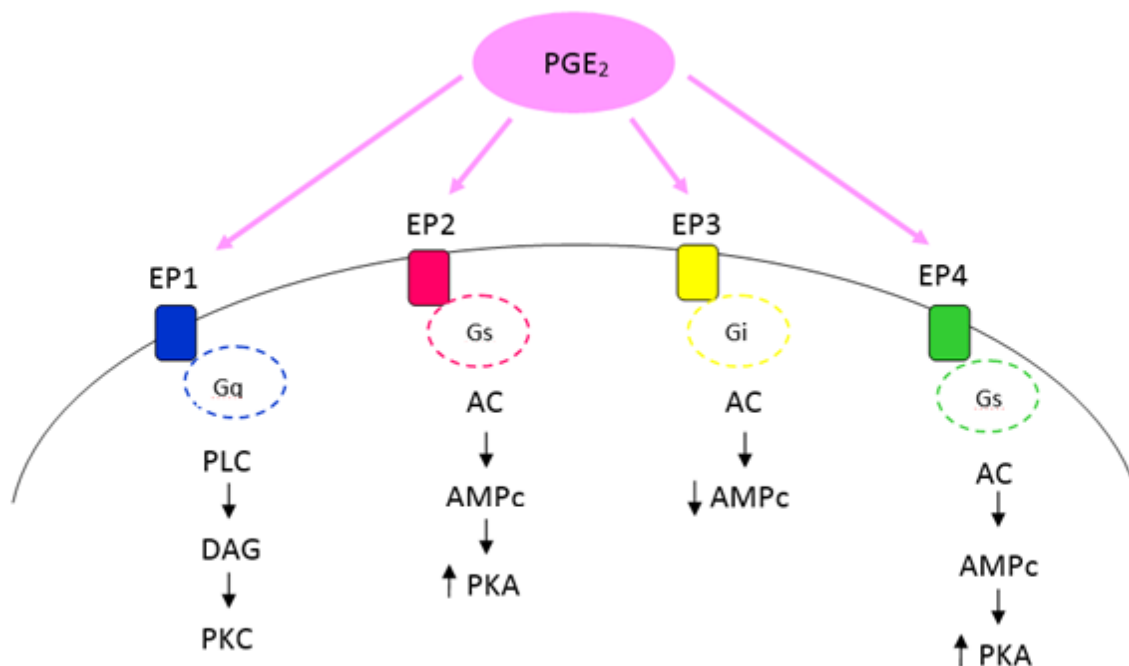


Figura – 7. Esquema da interação da PGE₂ com seus diferentes receptores. A interação da prostaglandina E2 (PGE₂) com os receptores EP2 e EP4 estimula uma proteína G estimulatória (Gs), enquanto sua interação com o receptor EP3 estimula uma proteína G inibitória (Gi). A PGE₂ ao se ligar ao receptor EP1 estimula uma proteína Gq.

É importante salientar, que o processo inflamatório não é o único estímulo para a produção exagerada de prostanóides vasoconstritores. O estresse oxidativo, através de superprodução de ERO é considerado um importante contribuinte para a formação de PG. Sendo assim, condições que apresentam desequilíbrio redox acentuado e intensa atividade inflamatória são apontadas como grandes candidatas a apresentarem superativação na via de sinalização dos metabólitos derivados do AA (CAPRA et al., 2013). Diante disso, doenças cardiovasculares e seus fatores de riscos que cursam com alterações da função vascular estão associados com superexpressão da COX-2 e maior

produção/liberação de prostaglandinas vasoconstritoras (DE SÁ et al., 2017; YE et al., 2008).

Um estudo realizado em ratos espontaneamente hipertensos mostrou que a PGE₂ agindo via receptor EP1 provoca prejuízo da função vascular, deposição de matriz extracelular e enrijecimento da parede arterial desses animais (AVENDAÑO et al., 2016). Outro estudo mostrou a participação da via de sinalização da COX-2 na disfunção vascular da prole de ratas diabéticas, demonstrando uma superexpressão desta enzima em artérias mesentéricas de resistência (RAMOS-ALVES et al., 2012). Além disso, Hsieh et al. (2010), investigaram o papel da via de sinalização da COX-2 em um modelo de obesidade induzido por dieta. Nesse estudo foi demonstrado que a ativação da COX-2 pode estar envolvida com o desenvolvimento do processo inflamatório do tecido adiposo desses animais.

Embora muitos estudos mostrem prejuízo na função vascular em humanos e animais alimentados com uma dieta hiperlipídica, os mecanismos que levam a tal alteração não estão completamente elucidados. Além disso, poucos são os estudos que avaliam possíveis alterações estruturais e/ou mecânicas em artérias de resistência de animais submetidos a uma dieta hiperlipídica. Ademais, devido a relação entre a ativação do SRAA e a obesidade, torna-se relevante a investigação de uma possível participação deste sistema nas alterações funcionais, estruturais e mecânicas de artérias de resistência de ratos obesos através do consumo de dieta hiperlipídica.

3 OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos da obesidade induzida por dieta hiperlipídica sobre a função, a estrutura e as propriedades mecânicas de artérias mesentéricas de resistência de ratos e o possível envolvimento do SRAA.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos da obesidade sobre:
 - O relaxamento dependente e independente do endotélio em artérias mesentéricas de resistência (AMR) de rato;
 - A resposta vasoconstritora induzida por estimulação alfa adrenérgica;
 - A produção vascular de ânions superóxido e de óxido nítrico e
 - Os parâmetros estruturais e mecânicos da parede arterial.
- Avaliar a participação da angiotensina II sobre as possíveis alterações induzidas pela obesidade nos parâmetros acima, através do antagonismo crônico dos receptores AT1 com losartan.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais realizados no presente estudo estão de acordo com as normas estabelecidas pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório, pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals* e foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (Processo número: 0012/2016).

4.1 ANIMAIS

Ratos Wistar machos e fêmeas foram obtidos e mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco. Ratas Wistar virgens foram mantidas em gaiolas com ratos machos, na proporção de 3:1, para serem acasaladas. Após desmame da prole, os ratos machos foram divididos em quatro grupos e alojados em gaiolas ventiladas (425 mm x 266 mm x 185 mm, Tecniplast, Buguggiate, Itália) com três animais em cada. Em um subgrupo de animais com 8 semanas de idade, a dieta padrão (Labina, Agribands Purina, São Paulo, Brasil - 14% de lipídeos, 63% de carboidratos e 23% de proteínas) foi substituída por dieta hiperlipídica (58.4% de lipídeos; 26.6% de carboidratos e 15% de proteínas). Às 16 semanas de idade, um subgrupo de animais alimentados com dieta padrão (NF) ou hiperlipídica (HF) foi tratado durante 8 semanas com losartan (NF Los; HF Los) (15 mg/kg/dia, via oral por gavagem). Os animais foram pesados semanalmente até o dia do experimento, a fim de avaliar o impacto do consumo da dieta no desenvolvimento corporal dos animais e para ajustar a dose de losartan administrada. As gorduras epididimal e perirrenal foram pesadas após a eutanásia dos animais e o índice de adiposidade foi calculado a partir da

seguinte fórmula: índice de adiposidade (%) = [(gordura epididimal (g) + gordura perirenal (g))/(peso corporal (g)) * 100] (PAN et al., 2004).

4.2 AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA À GLICOSE E SENSIBILIDADE À INSULINA

Após restrição alimentar de 12 horas, o teste de tolerância à glicose foi realizado. Após a aplicação intraperitoneal de 2g de glicose/kg⁻¹, uma amostra de sangue foi coletada pela veia caudal para a verificação da glicemia no momento anterior (glicemia de jejum) e posterior (15, 30, 60, 90 e 120 minutos) à aplicação de glicose.

Para a realização do teste de sensibilidade à insulina, os animais foram mantidos no estado alimentado e na sequência aplicou-se via intraperitoneal 0,75 U/kg⁻¹ de insulina. Os níveis séricos de glicose foram avaliados da mesma forma como descrito para o teste de tolerância à glicose.

4.3 ESTUDO DE REATIVIDADE VASCULAR E PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

A reatividade da artéria mesentérica de resistência (AMR) foi avaliada em todos grupos experimentais. Os animais foram anestesiados com isoflurano e em seguida foram eutanasiados por exsanguinação. O leito vascular mesentérico foi removido e colocados em solução de Krebs Henseleit (KHS) a 4 °C (Composição em mM: 115 NaCl, 2,5 CaCl₂, 4,6 KCl, 1,2 KH₂PO₄, 1,2, MgSO₄.7H₂O, 25 NaHCO₃, 11,1g de glicose e 0,03 EDTA).

Para estudar a reatividade vascular em AMR, utilizou-se o método descrito por Mulvany & Halpern (1977). Artérias de terceira ordem do leito mesentérico (diâmetro

interno $\sim 300 \mu\text{m}$) foram dissecadas e cortadas em segmentos de 1,5 - 2,0 mm de comprimento. Para medir a tensão isométrica, os segmentos arteriais foram montados em um miógrafo para vasos de resistência (Danish Myo Technology A/S, Aarhus, Dinamarca) conectado a um sistema de aquisição de dados (PowerLab 8/35; ADInstruments) e este a um computador. Após um período de estabilização de 15 minutos em KHS gaseificada (95% de O_2 e 5% de CO_2) a 37°C e pH 7,4, os segmentos foram estirados a um diâmetro luminal ideal para desenvolvimento de tensão ativa máxima. Isto foi determinado com base na relação de diâmetro interno/tensão de parede de cada segmento, ajustando seu diâmetro interno, L_0 , em 90% do diâmetro que cada artéria teria se estivesse exposta a uma tensão que fosse equivalente aquela produzida por uma pressão transmural de 100 mmHg (Mulvany & Halpern, 1977). O diâmetro interno (l_1) foi determinado de acordo com a equação $l_1 = L_1/\pi$, utilizando um software específico para normalização de cada segmento arterial (DMT Normalization Module, ADInstruments). L_1 representa a tensão passiva equivalente a 100 mmHg de pressão transmural.

4.3.1 Protocolos experimentais

Após um período de estabilização de 45 minutos em solução KHS, as AMR foram contraídas com cloreto de potássio - KCl (120 mM), para verificar sua integridade funcional. Após um período de 30 minutos, seguido desta contração, as artérias foram pré-contraídas com noradrenalina (10 μM , em anéis de AMR) e curvas concentração-resposta à acetilcolina (para verificar o relaxamento dependente do endotélio) (0,1 nM – 10 μM) foram construídas de forma cumulativa. Após 60 min da curva à acetilcolina,

curvas concentração-reposta à noradrenalina (10 nM – 100 μ M, AMR) foram construídas de forma cumulativa. O relaxamento independente do endotélio foi avaliado através do relaxamento induzido pelo nitroprussiato de sódio - NPS (0,1 nM – 10 μ M), um doador de óxido nítrico, em artérias pré-contraídas com noradrenalina.

A fim de investigar a participação da via do óxido nítrico e da via da ciclooxygenase sobre a resposta vasodilatadora à acetilcolina e vasoconstritora à noradrenalina, algumas artérias foram pré-incubadas com L-NAME (inibidor da enzima óxido nítrico sintase, 100 μ M) e indometacina (inibidor da ciclooxygenase, 10 μ M). Com a finalidade de avaliar o papel do sistema renina angiotensina sobre o relaxamento dependente do endotélio (acetilcolina) e na contração induzida pela noradrenalina, as artérias foram pré-incubadas com losartan (antagonista dos receptores AT1 para angiotensina II, 1 mM). A fim de investigar a participação de espécies reativas de oxigênio sobre a resposta da acetilcolina e noradrenalina, algumas artérias foram pré-incubadas com tempol (mimético da superóxido dismutase 10 μ M) e apocinina (inibidor da NADPH oxidase, 100 μ M). Todas as drogas foram adicionadas 30 minutos antes de se iniciar as curvas concentração-resposta.

4.4 METODOLOGIA UTILIZADA PARA O ESTUDO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E ESTRUTURAIS DE ARTÉRIAS MESENTÉRICAS DE RESISTÊNCIA DE RATO

As propriedades mecânicas e estruturais das AMR foram estudadas pelo método inicialmente descrito por Halpern et al. (1978). Segmentos de aproximadamente 3 mm de artérias de terceira ordem do leito mesentérico foram montados em um miógrafo de

pressão (Danish Myo Tech, Modelo 115FP, J.P. Trading I/S, Aarhus, Dinamarca). As duas extremidades da AMR foram canuladas com micropipetas de vidro e amarradas com fio de sutura de nylon. Em seguida o comprimento da artéria foi ajustado aumentando a pressão intravascular até aproximadamente 140 mmHg, de maneira que as paredes arteriais estivessem paralelas e sem estiramento. Com esse procedimento foi possível verificar também se a artéria estava adequadamente pressurizada. A pressão foi ajustada para 60 mmHg e sob este valor de pressão foi aguardado um período de estabilização de 60 minutos, em KHS, gaseificada continuamente com mistura carbogênica, pH 7,4 e temperatura de 37 °C. Após o período de estabilização, a pressão intravascular foi reduzida a 5 mmHg e uma curva de pressão foi construída, aumentando a pressão intravascular de 5 a 140 mmHg, em aumentos de 20 mmHg e em intervalos de 5 minutos. Esta curva foi construída na presença e na ausência de cálcio (Ca^{2+}). A solução de KHS sem Ca^{2+} foi preparada omitindo o cloreto de cálcio - CaCl_2 e adicionando EGTA 10 mM. Para cada valor de pressão intravascular, ao final dos 5 minutos, o diâmetro interno (D_i) e externo (D_e) foi medido.

4.4.1 Cálculos das propriedades mecânicas e estruturais das artérias mesentéricas de resistência

As medidas de diâmetro interno e externo (D_i e D_e) utilizadas para o cálculo dos parâmetros estruturais e mecânicos arteriais foram realizadas em condições passivas (em solução de Krebs sem cálcio, 0_{Ca}). Os seguintes parâmetros estruturais e mecânicos foram calculados:

1. Espessura de parede (EP)

$$EP = \frac{(D_{e0Ca} - D_{i0Ca})}{2}$$

2. Área de Secção Transversal (AST)

$$AST = \frac{\pi}{4} \times (D_{e0Ca} - D_{i0Ca})$$

3. Relação Parede/ Lúmen (P/ L)

$$P/L = \frac{(D_{e0Ca} - D_{i0Ca})}{(2 \times D_{i0Ca})}$$

As propriedades mecânicas das artérias foram calculadas de acordo com o método inicialmente descrito por Baumbach & Heistad (1989).

4. *Strain* (ϵ). Representa a variação nas dimensões da artéria (deformação, ϵ) em consequência de uma dada tensão aplicada.

$$\varepsilon = \frac{(D_{i0Ca} - D_{00Ca})}{D_{00Ca}}$$

Onde: D_{00Ca} é o diâmetro a 3 mmHg e D_{i0Ca} é o diâmetro interno observado para um dado valor de pressão intravascular sob condições de completo relaxamento. O valor de D_{00Ca} foi medido a 3 mmHg, porque é difícil determinar o diâmetro interno a valores inferiores de pressão intravascular.

5. *Stress* de parede (σ) – Tensão (medida por unidade de área) produzida na parede arterial frente a alterações da pressão intravascular, do diâmetro interno e da espessura da parede.

$$\sigma = \frac{(P \times D_{i0Ca})}{(2 \times EP)}$$

Onde: P é a pressão intraluminal (1 mmHg = 133,4 N/m²) e EP é a espessura da parede arterial para cada valor de pressão intravascular em solução de Krebs sem Ca²⁺.

6. A rigidez arterial independente da geometria é determinada pelo módulo elástico de Young, o qual pode ser expresso pela relação entre tensão e deformação ($E = \text{Stress} / \text{Strain}$). No caso de vasos sanguíneos esta relação *stress-strain* exibe um comportamento curvilíneo. Assim, torna-se mais apropriado o cálculo da relação tangencial ou

incremental elastic modulus (E_{Inc}), o qual pode ser determinado pela inclinação (β) da curva *stress-strain* (DOBRIN, 1978).

$$E_{Inc} = \delta\sigma / \delta\varepsilon$$

O E_{Inc} foi calculado plotando os dados obtidos de *stress* e de *strain* para cada experimento utilizando a equação exponencial abaixo (SigmaPlot, SPSS Inc):

$$\sigma = \sigma_{orig} e^{\beta\varepsilon}$$

Onde: σ_{orig} representa o *stress* de parede para o valor inicial de diâmetro (diâmetro a 3 mmHg). De acordo com a derivação das equações acima é possível obter-se que $E_{Inc} = \beta\sigma$. Para um dado valor de σ , E_{Inc} é diretamente proporcional a β . Um aumento de β implica um aumento de E_{Inc} , o qual representa um aumento da rigidez (DOBRIN, 1978).

7. Distensibilidade

$$D = \frac{AST}{A_{i0Ca}}$$

Onde: A_{i0Ca} é a área de secção transversal interna sob condições de completo relaxamento.

8. Complacência

$$C = \frac{(\Delta D A_{i0Ca})}{(\Delta P)}$$

Onde: ΔDA_{i0Ca} é a variação da área de secção transversal interna induzida por uma dada mudança de pressão intravascular (ΔP) sob condições de completo relaxamento.

9. Tônus miogênico – representa a contração induzida pelo aumento da pressão intravascular em condições ativas (na presença de Ca^{2+}).

$$\text{Contração} = \frac{(D_{i0Ca} - D_{iCa})}{D_{i0Ca}} \times 100$$

4.5 DETERMINAÇÃO *IN SITU* DA PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

A fluorescência oxidativa do dihidroetídio (DHE) foi utilizada para avaliar a produção de espécies reativas de oxigênio na parede arterial. Após isolamento e dissecação, as AMR foram imersas em um meio para congelamento (OCT, Electron Microscopy Science, E.U.A.) e armazenadas a -80 °C até o momento de realização dos cortes. As secções de AMR (10 µm de espessura) foram feitas em criostato (Leica, Alemanha) e colocadas em lâminas silanizadas (Star Frost, Alemanha). Para a medida da produção de ERO, os cortes foram incubados com tampão fosfato durante 10 minutos a 37 °C, em seguida com tampão fosfato contendo dihidroetidina (5 µM, Invitrogen, E.U.A.), durante 30 minutos, a 37 °C em câmara úmida e protegidos da luz (MILLER *et al.*, 1998). Após o protocolo experimental, as lâminas foram observadas em microscópio óptico (Eclipse Ni-U, Nikon, Tóquio, Japão) equipado com filtro padrão para rodamina e

câmera fotográfica (DS-Ri1, Nikon, Tóquio, Japão), utilizando uma objetiva para fluorescência de 20x. A densidade de fluorescência média foi calculada usando o *software Image J* (Wayne Rasband, National Institutes of Health, E.U.A.). A fluorescência foi medida em pelo menos três locais em cada imagem e as médias das medidas foram calculadas.

4.6 MEDIDA DA LIBERAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO VASCULAR

Para determinar a produção de óxido nítrico foi utilizado o acetato 4,5 diaminofluoresceína (DAF-FM, Sigma, E.U.A.). Após isolamento e dissecação, as AMR foram imersas em um meio para congelamento (OCT, Electron Microscopy Science, E.U.A.) e armazenadas a -80 °C até o momento de realização dos cortes. As secções de AMR (10 µm de espessura) foram feitas em criostato (Leica, Alemanha) e colocadas em lâminas silanizadas (Star Frost, Alemanha). Para a medida da produção de óxido nítrico, os cortes foram incubados com tampão fosfato durante 10 minutos a 37 °C, em seguida com tampão fosfato (0,1M) contendo DAF-FM durante 30 minutos, a 37 °C em câmara úmida e protegidos da luz (MILLER *et al.*, 1998). Após o protocolo experimental, as lâminas foram observadas em microscópio de fluorescência (Eclipse Ni-U, Nikon, Tóquio, Japão) equipado com filtro para rodamina e câmera fotográfica (DS-Ri1, Nikon, Tóquio, Japão), utilizando uma objetiva para fluorescência de 20x. A densidade de fluorescência média foi calculada usando o *software Image J* (Wayne Rasband, National Institutes of Health, E.U.A.). A fluorescência foi medida em pelo menos três locais em cada imagem e as médias das medidas foram calculadas.

4.7 DETERMINAÇÃO DE COLÁGENO NA PAREDE ARTERIAL

O conteúdo de colágeno na parede arterial foi determinado de acordo com o método previamente descrito por Izzard et al. (2003). Os terceiros ramos da artéria mesentérica superior foram dissecados, limpos de tecido adiposo, fixados em paraformaldeído 4% e lavados em tampão fosfato (pH 7,4). Após lavagem, os segmentos foram incubados durante 1 hora em tampão fosfato contendo sacarose 30%. Em seguida os segmentos foram colocados em um molde para criostato contendo meio para congelamento (OCT, Electron Microscopy Science, E.U.A.) e armazenadas a -80°C até o dia do experimento. Os segmentos arteriais congelados foram cortados em seções transversais de 5 μm de espessura em criostato (Leica, Alemanha) e colocadas em lâminas silanizadas (Star Frost, Alemanha). Depois de retirada do meio de congelamento com água destilada, o colágeno foi corado com picro sirius (Picro Sirius Red Stain Kit – Connective Tissue Stain) (abcam). Após o protocolo experimental, as lâminas foram observadas em microscópio de fluorescência (Eclipse Ni-U, Nikon, Tóquio, Japão) e câmera fotográfica (DS-Ri1, Nikon, Tóquio, Japão), utilizando uma objetiva de 40x. A análise da área total da parede vascular e daquela ocupada pelo colágeno foi realizada com o uso do software Image-Pro Plus 6.0 para análise de imagens.

4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A análise dos resultados foi realizada através de teste *t* de *student* pareado ou não pareado e análise de variância (ANOVA, uma ou duas vias), completamente randomizada, seguida pelo teste *post-hoc* de Bonferroni, com auxílio do programa GraphPad Prism (San Diego, CA, E.U.A). Os resultados foram considerados

estatisticamente significantes para valores $P < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 PESO CORPORAL E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

O aumento do peso corporal dos animais alimentados com dieta hiperlipídica passou a ser significativo a partir da sexta semana de acompanhamento. A diferença do peso corporal entre os grupos continuou a aumentar até a décima sexta semana (Figura 8A). O índice de adiposidade foi significativamente maior no grupo alimentado com dieta hiperlipídica quando comparado ao grupo alimentado com a dieta padrão (Figura 8B). O tratamento crônico com losartan não foi capaz de alterar o peso corporal e o índice de adiposidade dos animais (resultados não mostrados).

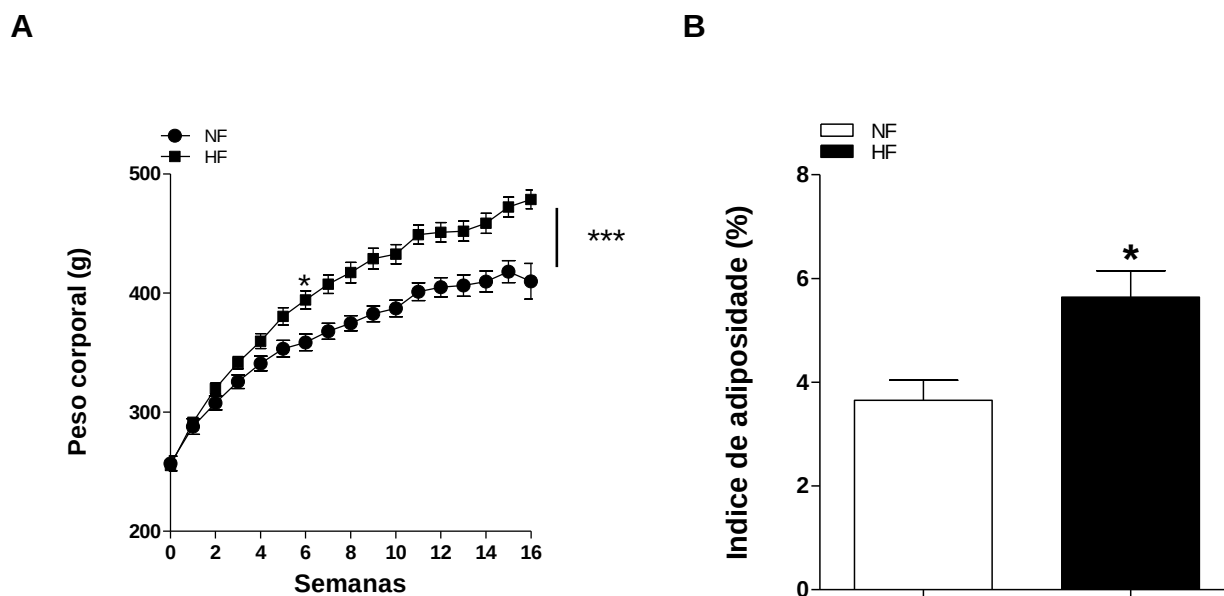


Figura 8: Peso corporal (A) e índice de adiposidade (B). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=10 ratos em cada grupo. ANOVA duas vias (A) e teste t (B), * $P < 0,05$, *** $P < 0.001$.

5.2 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE E DE SENSIBILIDADE À INSULINA

Nas avaliações glicêmicas, os animais do grupo HF mostraram-se mais resistentes à insulina (Figura 9A) e mais intolerantes à glicose (Figura 9C) quando comparado aos animais do grupo NF. O tratamento crônico com losartan no grupo HF (HF Los) diminuiu a curva glicêmica em função do tempo apenas com 120 minutos de avaliação (Figura 9B). O resultado indica uma melhora no quadro de resistência à insulina no grupo HF tratado com o antagonista do receptor AT1. Quanto ao quadro de intolerância à glicose observada no grupo HF, o tratamento com losartan não foi capaz de modifica-lo (Figura 9D). O grupo NF tratado com losartan não apresentou diferença significativa em relação ao grupo NF controle em ambos os testes (resultados não mostrados).

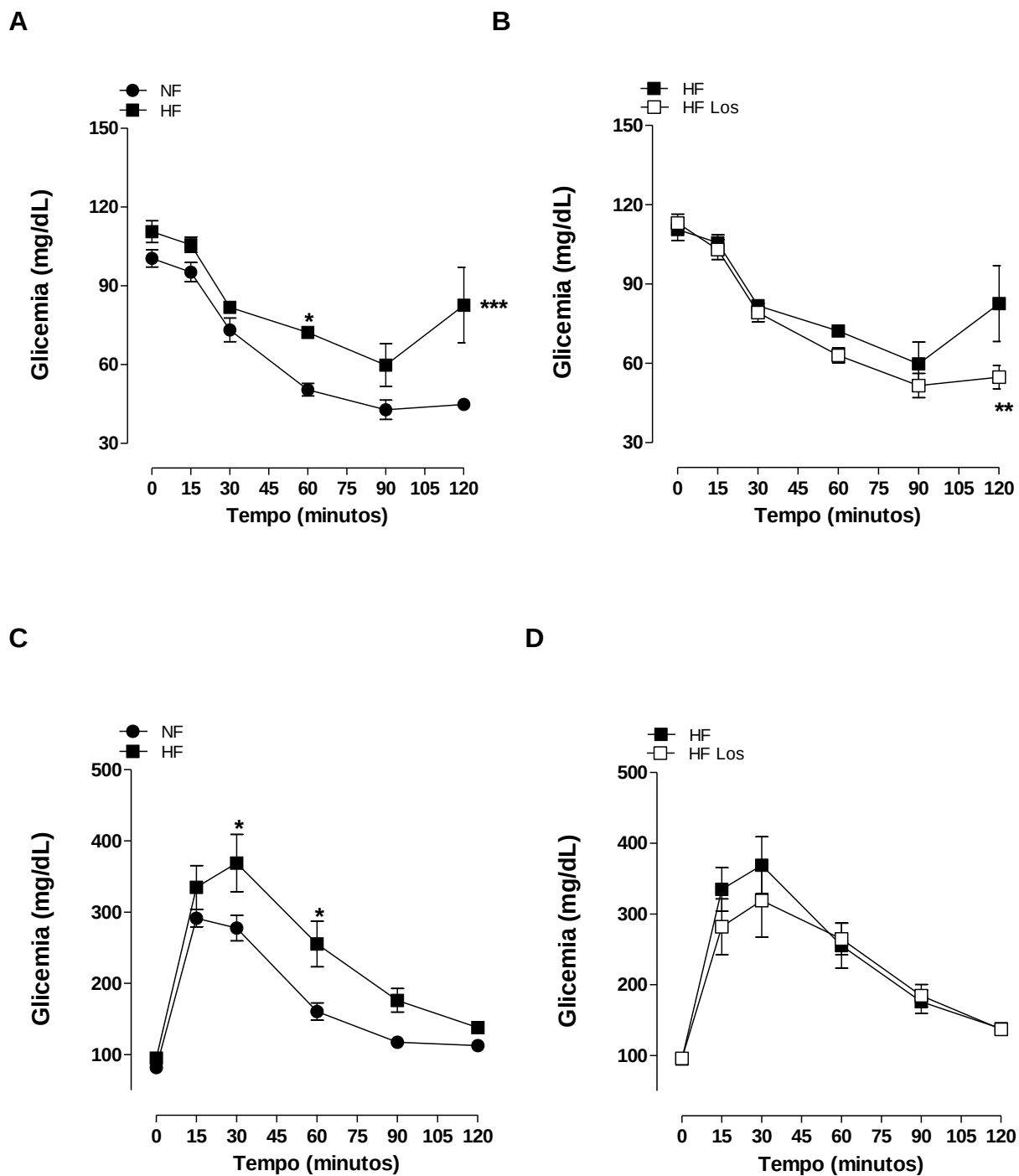


Figura 9. Teste de resistência à insulina (A, B) e teste de tolerância à glicose (C, D) em ratos alimentados com dieta padrão (NF), hiperlipídica (HF) e hiperlipídica tratado com losartan (HF-Los). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=5 ratos em cada grupo.

5.3 ESTUDO DE REATIVIDADE VASCULAR

5.3.1 Relaxamento dependente e independente do endotélio

A acetilcolina induziu relaxamento dependente do endotélio nas AMR dos grupos NF, HF, NF-Los e HF-Los. Conforme observado na Figura 10A, este relaxamento foi significativamente prejudicado pela dieta hiperlipídica (grupo HF). O tratamento crônico com losartan, apesar de não modificar o relaxamento à acetilcolina nas artérias do grupo NF, reverteu as alterações desta resposta no grupo HF (Figura 10A). A resposta do relaxamento independente do endotélio induzida pelo doador de •NO, nitroprussiato de sódio (NPS), foi semelhante nas artérias de todos os grupos experimentais (Figura 10B).

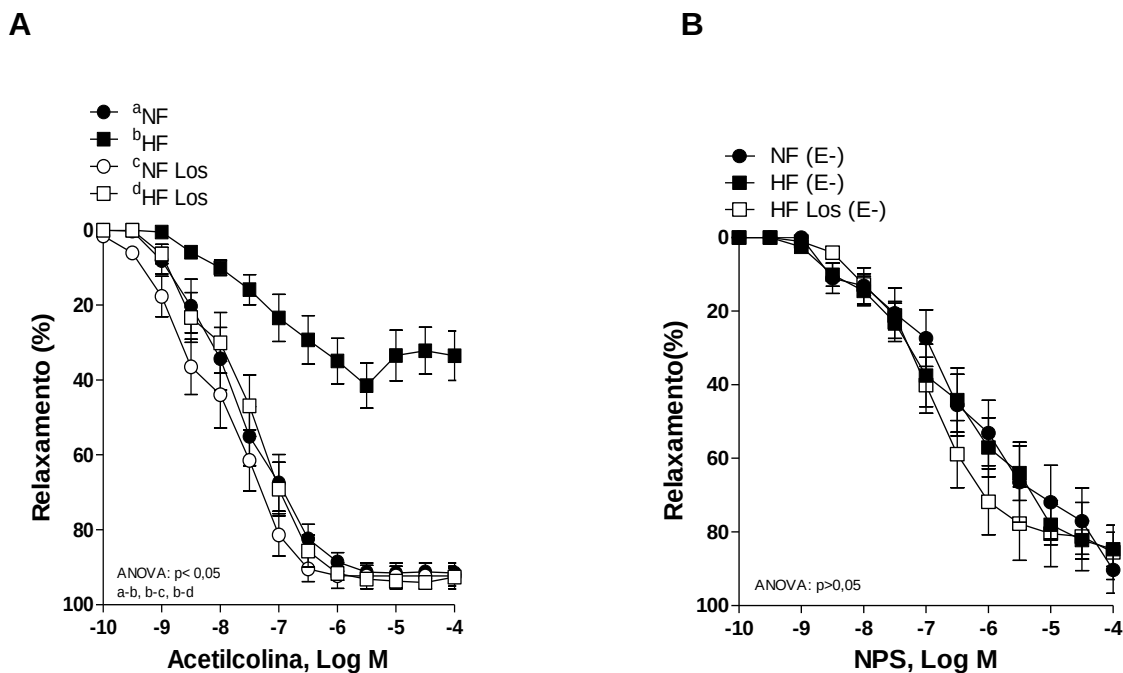


Figura 10. Relaxamento dependente (A) e independente (B) do endotélio induzido pela acetilcolina e nitroprussiato de sódio (NPS), respectivamente em artérias mesentéricas de resistência de ratos alimentados com dieta padrão (NF), padrão tratado com losartan (NF-Los), hiperlipídica (HF) e hiperlipídica tratado com losartan (HF-Los). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 ratos em cada grupo.

5.3.1.1 Efeito da inibição da ciclooxigenase sobre o relaxamento dependente do endotélio.

Para avaliar a participação da via da COX na resposta vasodilatadora à acetilcolina, as AMR foram pré-incubadas com um inibidor não seletivo da COX, a indometacina. Como evidenciado na Figura 11, a indometacina aumentou o relaxamento à acetilcolina nas AMR do grupo HF (Figura 11B), mas não no grupo NF (Figura 11A). O tratamento com losartan aboliu o efeito da indometacina (Figuras 11C) sobre o relaxamento à acetilcolina nas AMR de ratos HF. No grupo NF tratado com losartan, semelhante ao que foi observado no grupo NF controle, a indometacina não modificou o relaxamento dependente do endotélio na AMR (resultados não mostrados).

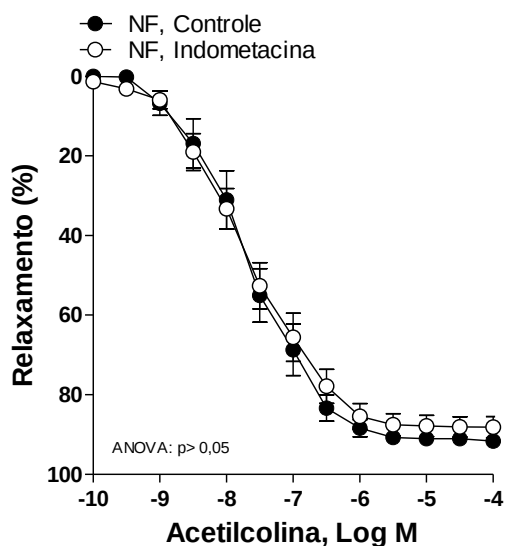
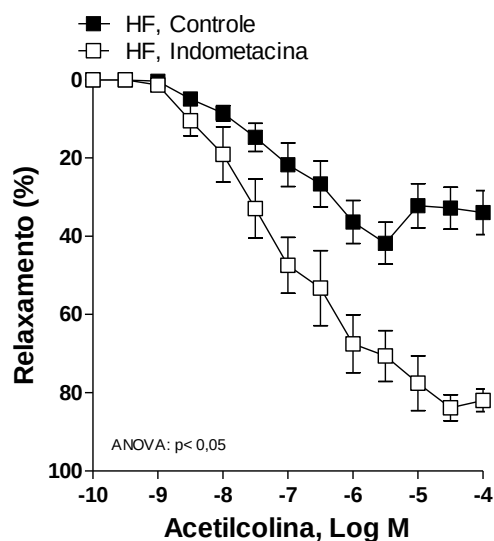
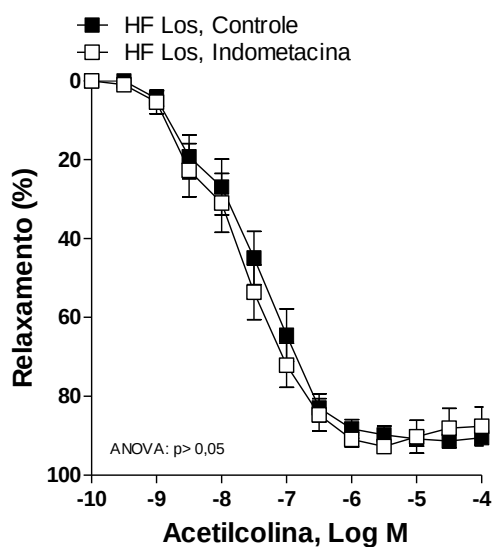
A**B****C**

Figura 11. Efeito da inibição da ciclooxygenase (indometacina) na vasodilatação dependente do endotélio induzida por acetilcolina em artérias mesentéricas de resistência de animais alimentados com dieta padrão (NF, A) ou hiperlipídica (HF, B) e no grupo alimentado com dieta hiperlipídica tratado com losartan (HF-Los, C). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 ratos em cada grupo.

5.3.1.2 Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico sobre o relaxamento dependente do endotélio

Para avaliar a participação da via do •NO na resposta vasodilatadora à acetilcolina, as AMR foram pré-incubadas com L-NAME, um inibidor da sintase de •NO. Como pode ser observado na Figura 12, o L-NAME diminuiu o relaxamento nos grupos NF, mas não no grupo HF (Figura 12A e 12B). No grupo HF tratado com losartan (HF-Los), o efeito da inibição da síntese de •NO foi semelhante ao observado no grupo NF (Figura 12C). Este último resultado indica que o losartan restaurou a participação do •NO no relaxamento à acetilcolina em artérias mesentéricas de ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

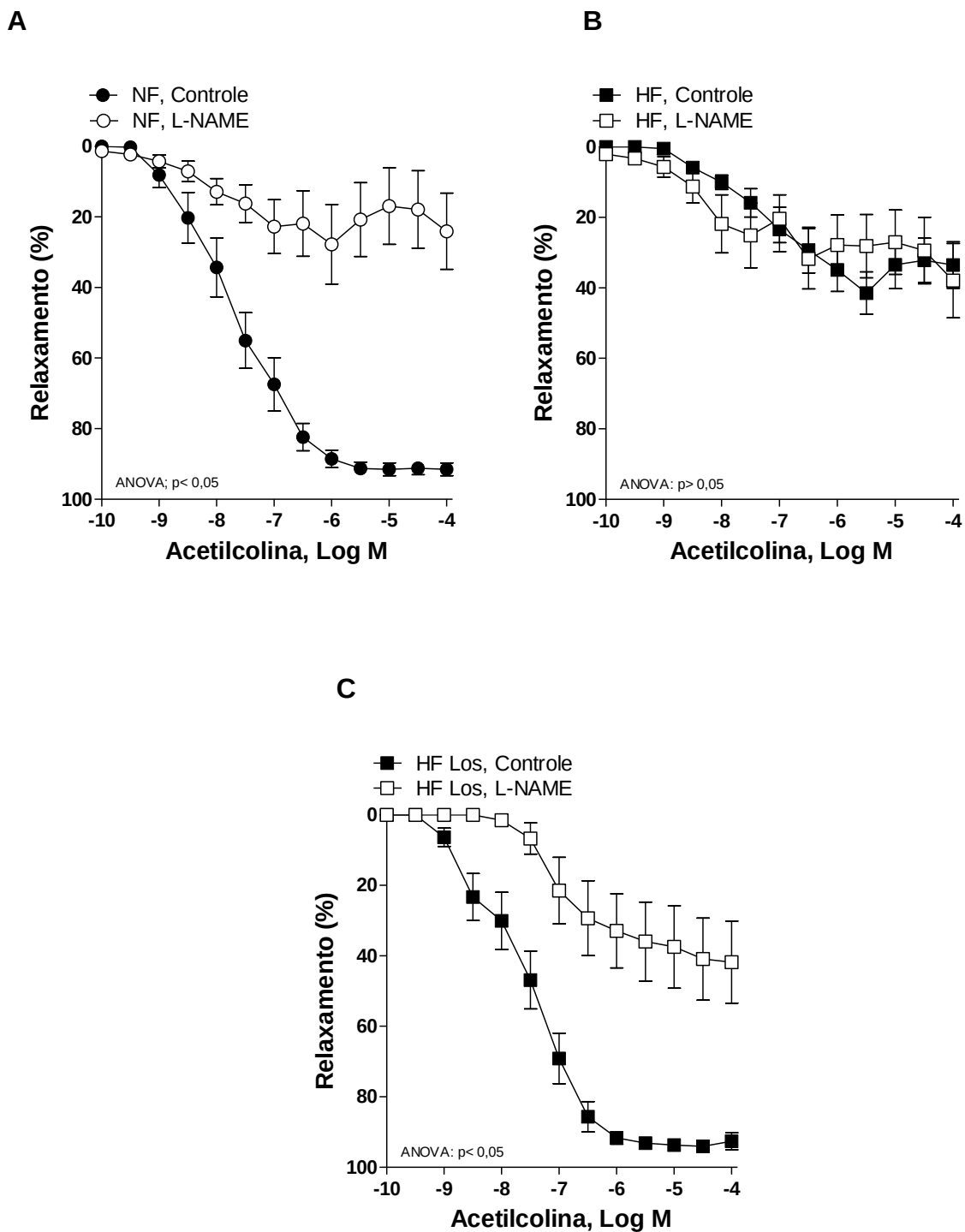


Figura 12. Efeito da inibição da NOS (LNAME) na vasodilatação dependente do endotélio induzida por acetilcolina em artéria mesentérica de resistência de animais alimentados com dieta padrão (NF, A), hiperlipídica (HF, B) e hiperlipídica tratado com losartan (HF Los, C). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 ratos em cada grupo.

5.3.1.3 Efeito do mimético da SOD sobre o relaxamento dependente do endotélio

Para avaliar a participação das espécies reativas de oxigênio na resposta vasodilatadora à acetilcolina, as artérias foram pré-incubadas com um mimético da SOD, o tempol. Como pode ser evidenciado na Figura 13, o tempol aumentou significativamente o relaxamento à acetilcolina nas AMR do grupo HF (Figura 13B), mas não no grupo NF (Figura 13A). O tratamento com losartan aboliu o efeito do tempol (Figuras 13C) sobre o relaxamento dependente do endotélio nas AMR de ratos HF. O resultado sugere a participação das EROs no prejuízo vascular do grupo HF e a restauração desse prejuízo no grupo tratado com losartan.

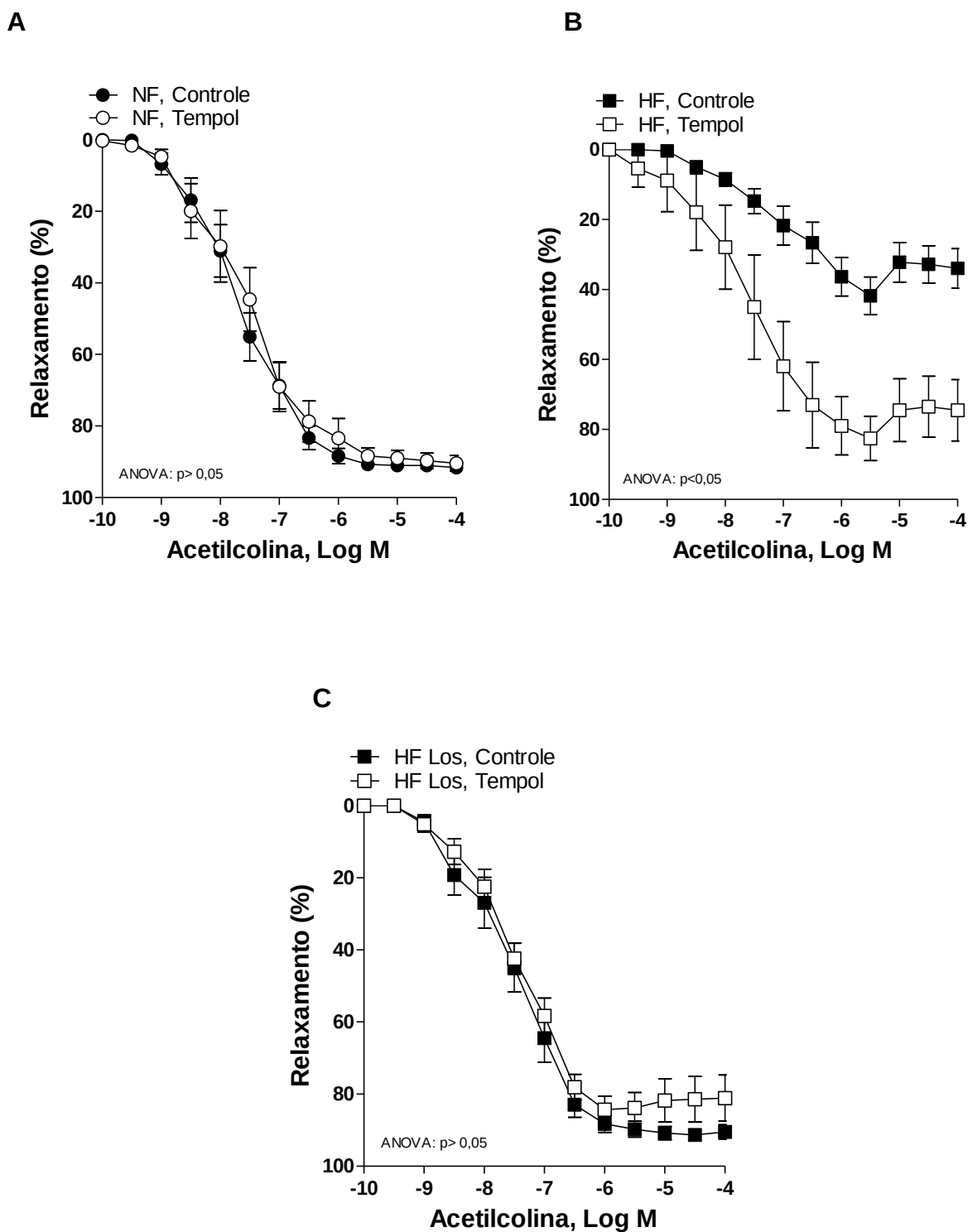


Figura 13. Efeito do tempol na vasodilatação dependente do endotélio induzida por acetilcolina em artéria mesentérica de resistência de animais alimentados com dieta padrão (NF, A), hiperlipídica (HF, B) e hiperlipídica tratado com losartan (HF Los, C). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 ratos em cada grupo.

5.3.1.4 Efeito da inibição da NADPH oxidase sobre o relaxamento dependente do endotélio

Para avaliar a participação da NADPH oxidase na resposta vasodilatadora à acetilcolina, as artérias foram pré-incubadas com um inibidor seletivo desta enzima, a apocinina. Como pode ser evidenciado na Figura 14, a apocinina aumentou significativamente o relaxamento à acetilcolina nas AMR do grupo HF (Figura 14B), mas não no grupo NF (Figura 14A). O tratamento com losartan aboliu o efeito da apocinina sobre o relaxamento dependente do endotélio nas AMR de ratos HF (Figuras 14C).

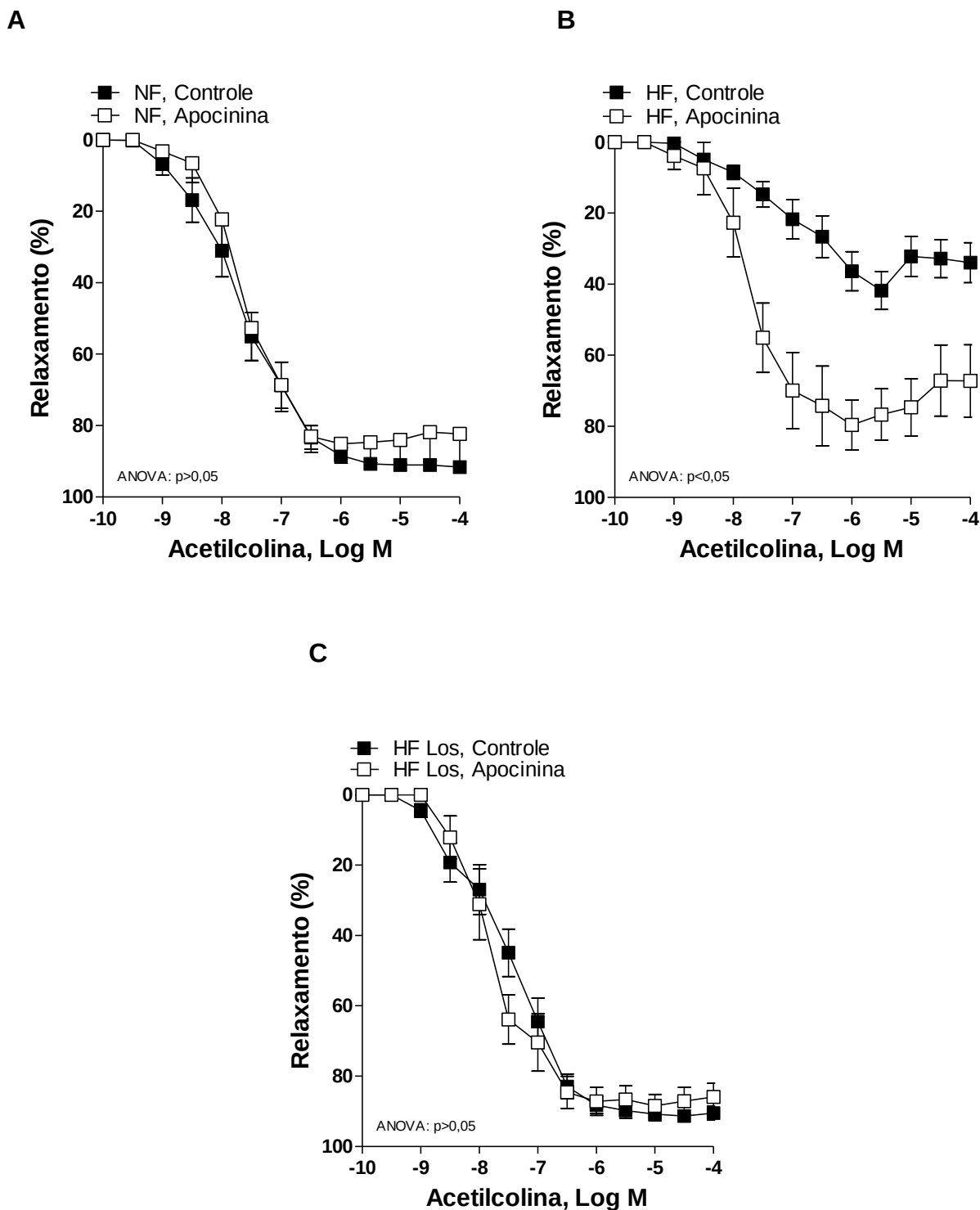


Figura 14. Efeito da apocinina na vasodilatação dependente do endotélio induzida por acetilcolina em artéria mesentérica de resistência de animais alimentados com dieta padrão (NF, A), hiperlipídica (HF, B) e hiperlipídica tratado com losartan (HF Los, C). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 ratos em cada grupo.

5.3.1.5 Efeito do antagonista do receptor AT1 sobre o relaxamento dependente do endotélio

Para avaliar a participação da angiotensina II na resposta vasodilatadora à acetilcolina, as artérias foram pré-incubadas com um antagonista do receptor AT1, o losartan. Como pode ser evidenciado na Figura 15, o losartan aumentou significativamente o relaxamento à acetilcolina nas AMR do grupo HF (Figura 15B), mas não no grupo NF (Figura 15A). Esse resultado confirma os resultados observados com tratamento crônico com losartan, e sugere a angiotensina II como potencial mediador da alteração do relaxamento dependente do endotélio das AMR do grupo HF.

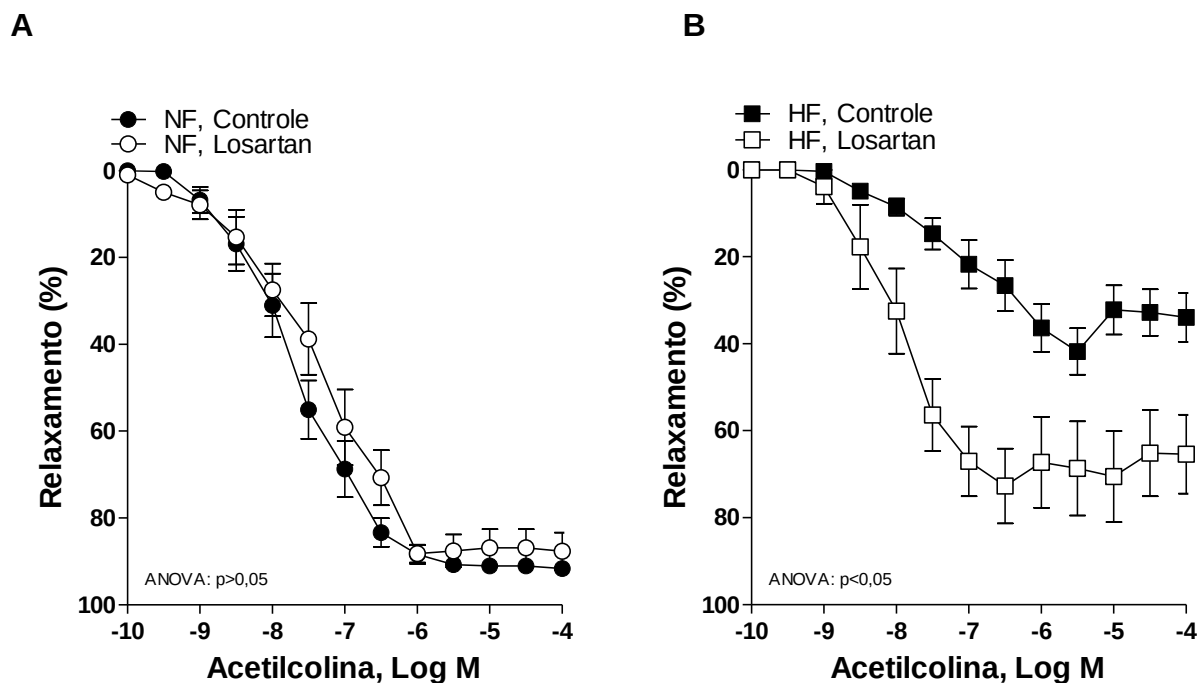


Figura 15. Efeito do losartan na vasodilatação dependente do endotélio induzida por acetilcolina em artéria mesentérica de resistência de animais alimentados com dieta padrão (NF, A), hiperlipídica (HF, B). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 ratos em cada grupo.

5.4 VASOCONSTRIÇÃO INDUZIDA POR ESTIMULAÇÃO ALFA-ADRENÉRGICA

A noradrenalina induziu contração concentração-dependente nas artérias de ambos os grupos; esta resposta foi semelhante entre grupos HF e NF (Figura 16). O tratamento com losartan não modificou a contração induzida por estimulação alfa adrenérgica nas AMR dos grupos HF (Figura 16).

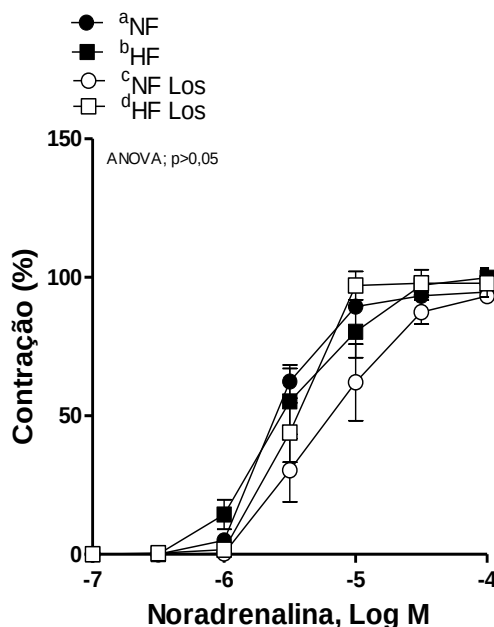
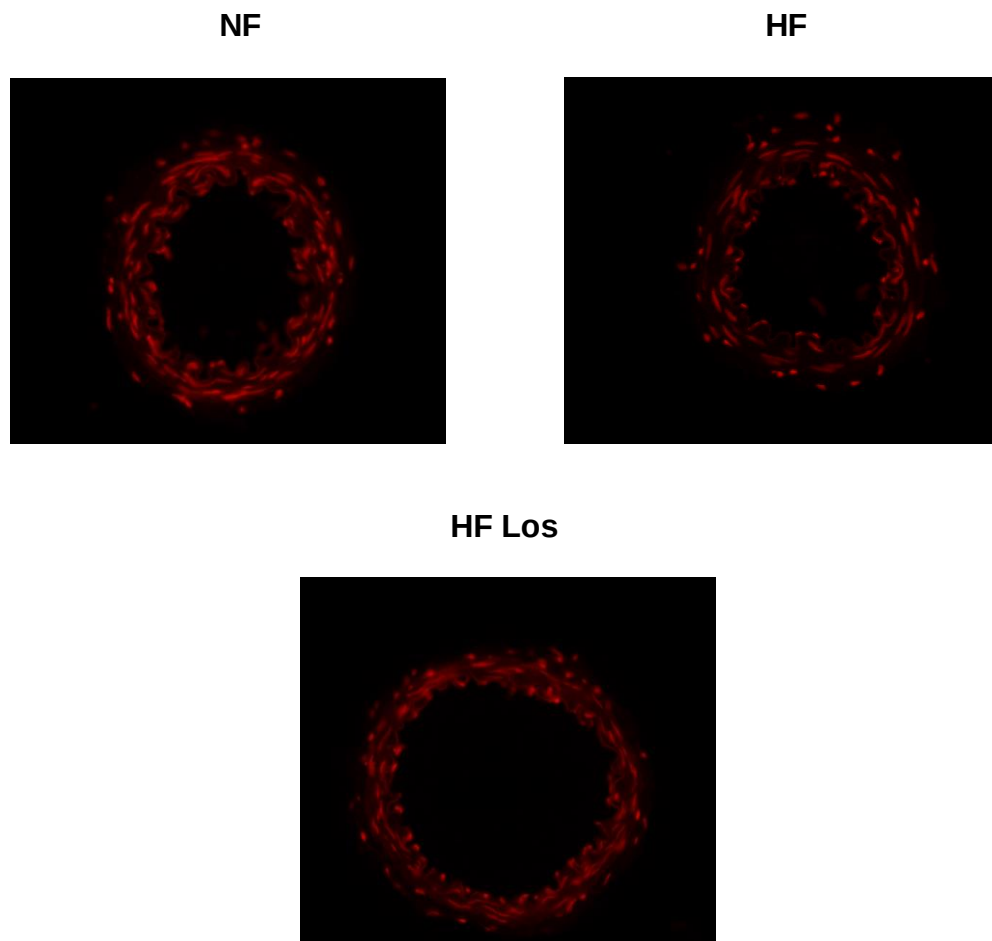


Figura 16. Curva concentração-resposta á noradrenalina em artérias mesentéricas de resistência de animais alimentados com dieta padrão (NF), padrão tratado com losartan (NF-Los), hiperlipídica (HF) e hiperlipídica tratado com losartan (HF-Los). Os resultados são expressos como média $\pm$ EPM. N=6-8 ratos em cada grupo.

5.5 DETERMINAÇÃO *IN SITU* DA PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Como demonstrado na Figura 17, a fluorescência emitida pelo DHE nas AMR foi semelhante entre os três grupos estudados, indicando semelhança na geração de ERO na parede vascular entre os grupos experimentais.

A



B

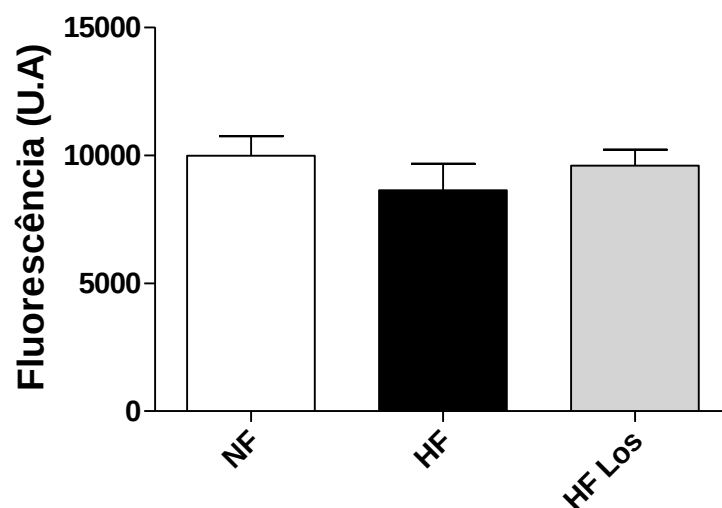


Figura 17. (A) Imagens representativas da fluorescência emitida pela geração de ERO em artéria mesentérica de resistência de ratos NF, HF e HF Los. (B) Análise quantitativa média da produção de ERO em artérias do grupo NF, HF e HF Los. Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. U.A., unidades arbitrárias. N=5-6 ratos em cada grupo. ANOVA (uma via), $P>0,05$.

5.6 DETERMINAÇÃO *IN SITU* DA PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO

Como demonstrado na Figura 18, a dieta hiperlipídica reduziu a produção de óxido nítrico e o tratamento com losartan restaurou essa produção. Esta afirmação se baseia na fluorescência emitida pelo DAF, que foi reduzida no grupo HF em comparação ao grupo NF, e restaurada no grupo HF-Los.

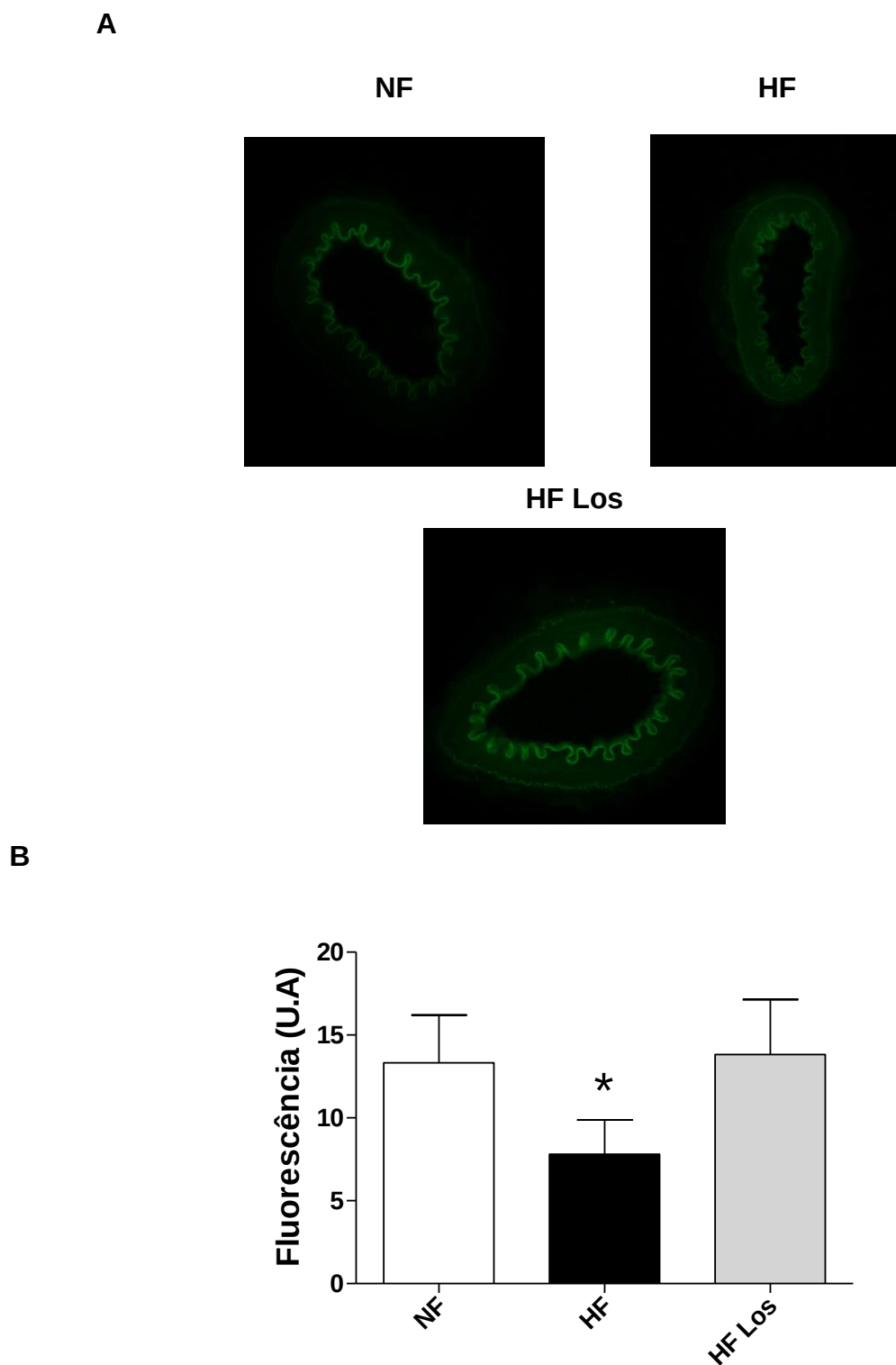
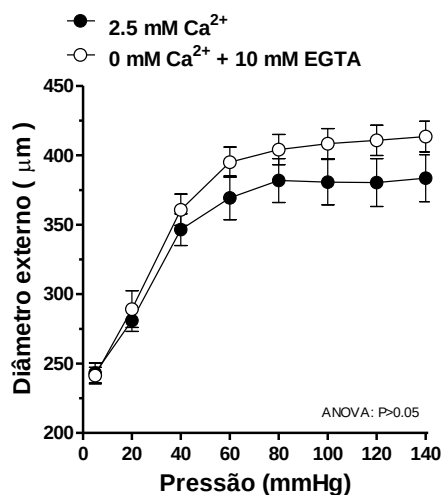


Figura 18. (A) Imagens representativas da fluorescência emitida pela geração de óxido nítrico em artéria mesentérica de resistência de ratos NF, HF e HF Los. (B). Análise quantitativa média da produção de óxido nítrico em artérias do grupo NF, HF e HF Los. Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. U.A., unidades arbitrárias. N=5-6 ratos em cada grupo. ANOVA (uma via), *P<0,05.

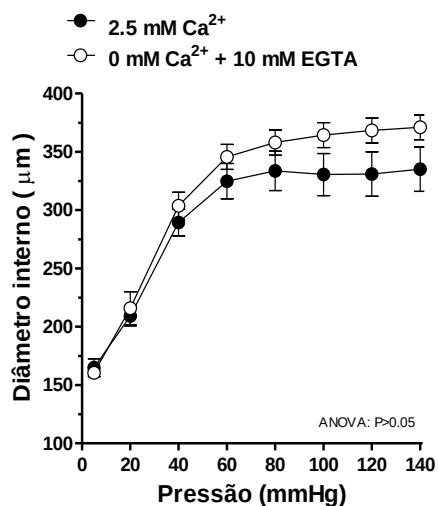
5.7 ESTUDOS DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E ESTRUTURAIS EM ARTÉRIAS MESENTÉRICAS DE RESISTÊNCIA

As propriedades mecânicas e estruturais em AMR foram avaliadas através da técnica de artéria pressurizada. A Figura 19 mostra a relação pressão/diâmetro externo (Figura 19A e 19C) e interno (Figura 19B e 19D) em condições ativas (na presença de 2,5 mM de cálcio) e passivas (em meio livre de cálcio + 10 mM de EGTA) em artérias de ratos NF e HF. Como é possível observar nas AMR de ambos os grupos, tanto na presença como na ausência de cálcio, o aumento da pressão intravascular induziu um aumento progressivo do diâmetro externo e interno. No grupo NF, esse aumento foi similar em ambas situações experimentais, ou seja, na presença e na ausência de cálcio (Figura 19A e 19B). Porém, nos animais HF, o aumento dos diâmetros externo e interno foi menor na presença de cálcio (Figura 19C e 19D), indicando presença de tônus miogênico.

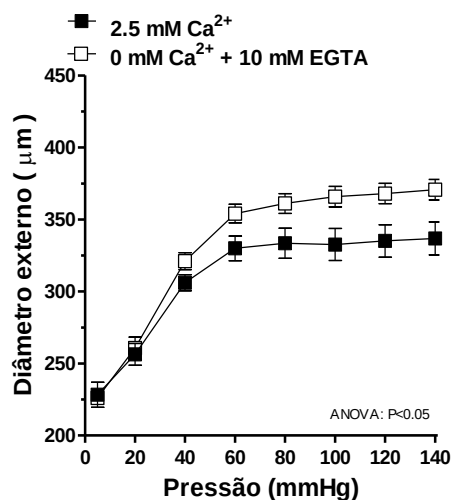
A – NF



B – NF



C – HF



D – HF

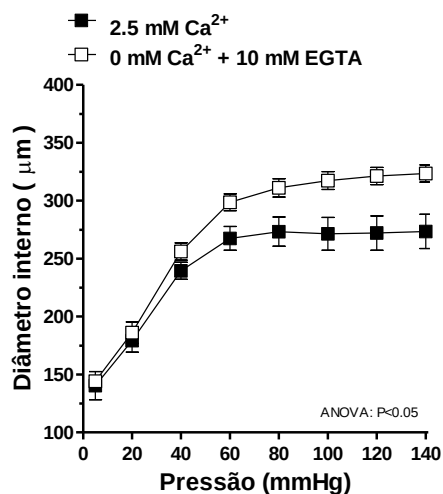


Figura 19. Relação pressão-diâmetro em artérias mesentéricas de resistência (AMR) de ratos NF (A, B N=8) e HF (C, D N=8) em condições ativas (CaCl_2 2,5 mM) e passivas (Cálcio zero, 0 Ca^{2+}). Os resultados estão expressos como média $\pm$ erro padrão da média dos valores de diâmetro (μm) frente às alterações de pressão intravascular.

A Figura 20 mostra os parâmetros morfológicos obtidos em AMR pressurizadas de ratos NF, HF e HF-Los em condições de máximo relaxamento (meio livre de cálcio + 10 mM de EGTA). Para todos os valores de pressão intravascular avaliados, o diâmetro externo (Figura 20A) e interno (Figura 20B) das AMR de ratos HF apresentaram-se significativamente diminuídos quando comparado ao grupo NF. O tratamento crônico com losartan reverteu as alterações de diâmetro externo e interno nas AMR do grupo HF.

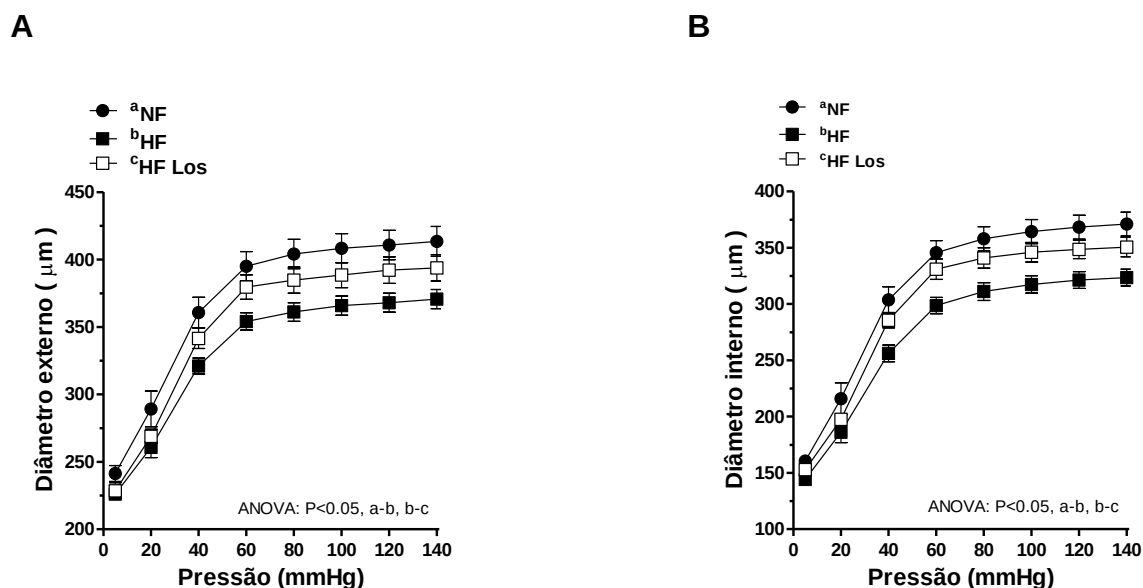


Figura 20. Relação pressão-diâmetro externo (A), pressão-diâmetro interno (B) em artérias mesentéricas de resistência (AMR) de ratos NF, HF, HF Los em condições passivas (Cálcio zero, 0 Ca²⁺). Os resultados estão expressos como média $\pm$ erro padrão da média dos valores de diâmetro (µm) frente às alterações de pressão intravascular.

A Figura 21 mostra a espessura de parede, a relação parede:lúmen e a área de secção transversal das AMR de todos os grupos experimentais. Como é possível observar na Figura 21A, a espessura de parede das AMR do HF foi significativamente aumentada em comparação ao grupo NF. Consequentemente, considerando ainda a redução do diâmetro interno, a relação parede:lúmen das artérias do grupo HF foi aumentada comparada ao grupo NF (Figura 21B). Entretanto, a área de secção transversal das AMR não foi diferente entre os grupos NF e HF (Figura 21C). Considerando, portanto, estes resultados, é possível afirmar que a dieta hiperlipídica induziu um remodelamento do tipo eutrófico para dentro nas artérias de resistência da circulação mesentérica de rato. O tratamento crônico com losartan, assim como o fez sobre as alterações de diâmetro externo e interno, reverteu as alterações sobre a espessura de parede e relação parede:lumen das AMR do grupo HF (Figura 21A e 21B).

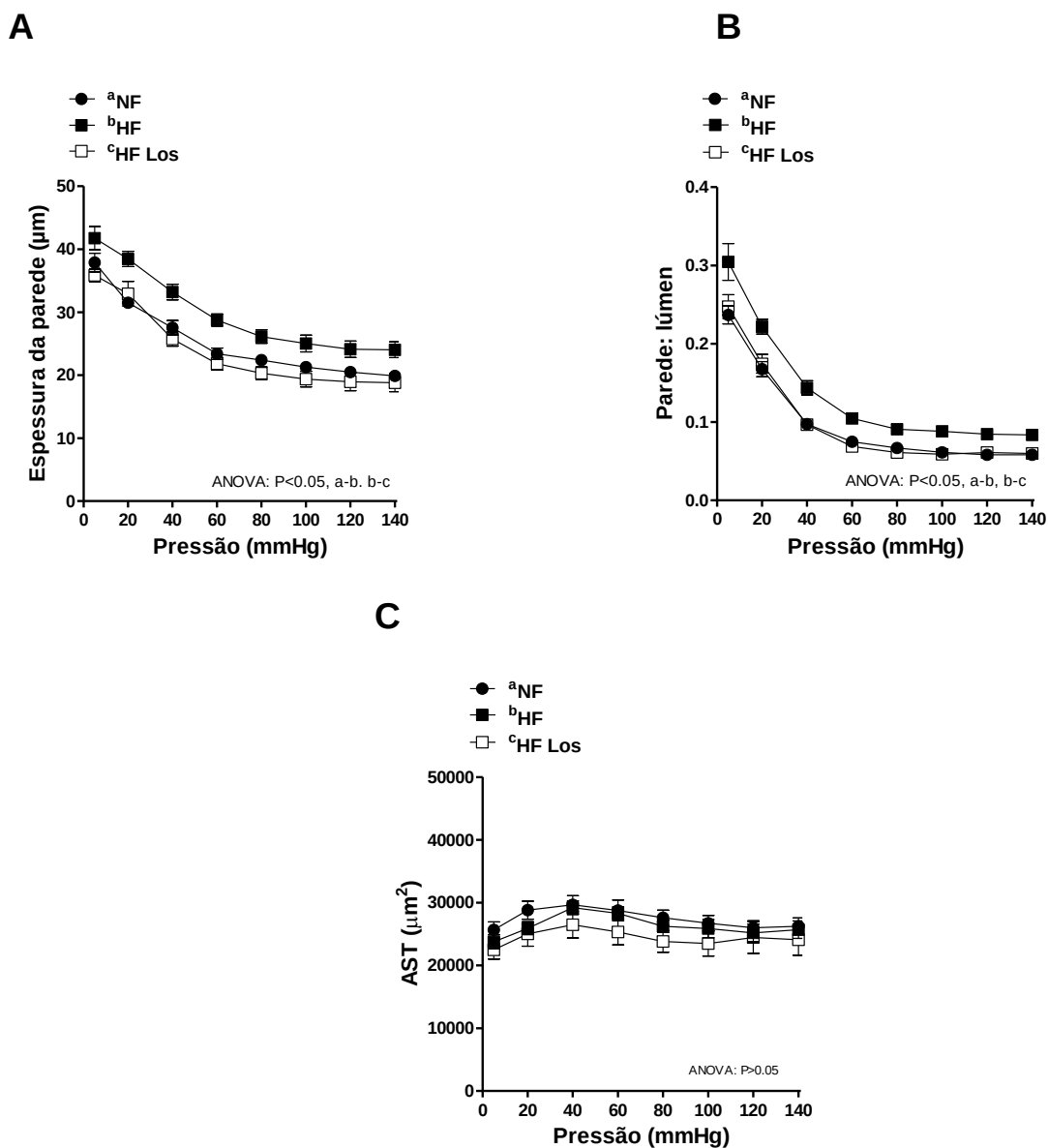


Figura 21. Comparação dos parâmetros estruturais de artérias mesentéricas de resistência (AMR, em condições passivas, 0 Ca^{2+}) de ratos NF (N=8), HF (N=8) e HF-Los (N=8). (A) Espessura de parede, (B) relação parede:lúmen e (C) área de secção transversal (AST). Os resultados estão expressos como média $\pm$ erro padrão da média.

As propriedades mecânicas da parede arterial também foram analisadas; a Figura 22 mostra estas propriedades em artérias de ratos HF, NF e HF-Los em condições de máximo relaxamento (0 Ca^{2+}). O aumento da pressão intravascular induziu aumento do *stress* de parede, o qual foi significativamente menor nas AMR de animais HF comparado aos animais NF (Figura 22A).

A Figura 22B mostra a relação *stress:strain*, que é uma medida da rigidez arterial independente da geometria do vaso. Nas AMR do grupo HF, a curva da relação *stress:strain* foi deslocada para a esquerda, o que indica maior rigidez arterial em comparação ao grupo NF. Esses resultados podem ser confirmados pelo maior valor de β (inclinação da curva *stress:strain*) (β : NF $5,71 \pm 0,21$ vs. HF $6,36 \pm 0,17$, $P < 0,05$) e pelos maiores valores de módulo elástico nas AMR do grupo HF (Figura 22C). O tratamento crônico com losartan reverteu as alterações sobre o *stress* de parede, a relação *stress:strain* e o módulo elástico (22A, 22B e 22C).

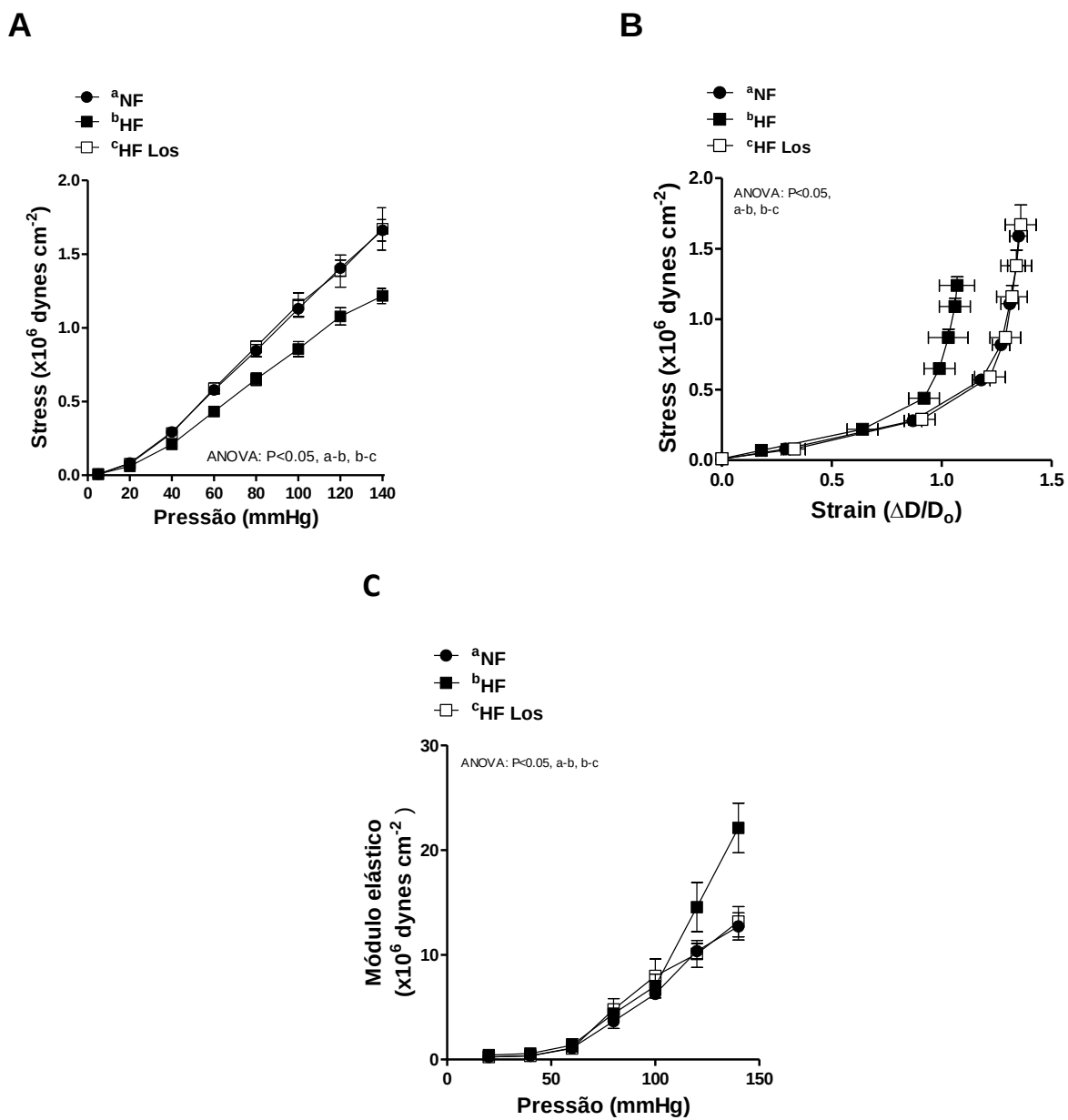


Figura 22. Stress da parede (A), relação stress-strain (B) e módulo elástico (C) das artérias mesentéricas de resistência (AMR, em condições passivas, 0 Ca^{2+}) de ratos NF (N=8), HF (N=8) e HF Los (N=8). Os resultados estão expressos como média $\pm$ erro padrão da média.

Como é possível observar na Figura 23A, a distensibilidade arterial aumentou entre os valores de pressão de 20 e 40 mmHg e seguiu progressivamente reduzindo até o valor máximo de pressão de 140 mmHg. Comparadas ao grupo NF, as artérias do grupo HF apresentaram menor distensibilidade entre valores de pressão de 20 e 40 mm Hg. O tratamento crônico com losartan reverteu o prejuízo da distensibilidade arterial do grupo HF (Figura 23A).

O valor máximo de complacência das AMR foi observado em valores de pressão intravascular de 40 mmHg. No grupo HF, e entre valores de pressão de 20 a 60 mmHg, esta complacência foi reduzida pelo consumo de dieta hiperlipídica (Figura 23B). O tratamento losartan restaurou a complacência arterial para níveis semelhantes do grupo NF (Figura 23B).

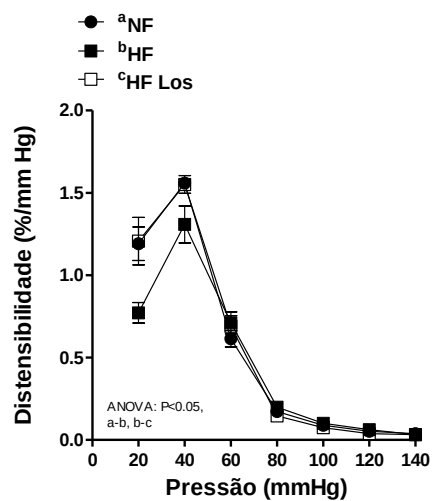
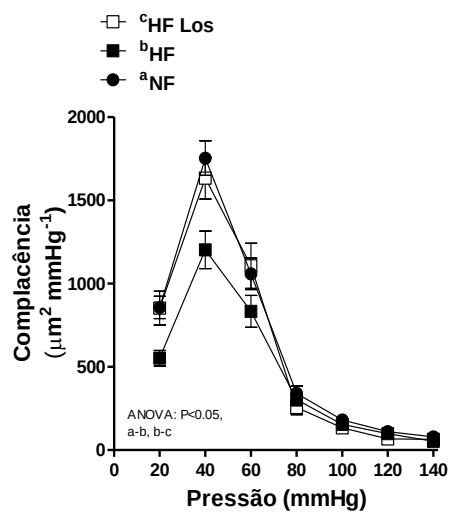
A**B**

Figura 23. Distensibilidade (A) e complacência (B) das artérias mesentéricas de resistência (AMR, em condições passivas, 0 Ca^{2+}) de ratos NF (N=8), HF (N=8) e HF Los (N=8). Os resultados estão expressos como média $\pm$ erro padrão da média.

5.8 QUANTIFICAÇÃO DO CONTEÚDO DE COLÁGENO

O colágeno total apresentou-se distribuído principalmente nas camadas adventícia e média das AMR dos grupos experimentais. O conteúdo total de colágeno mostrou-se significativamente aumentado no grupo HF em comparação ao grupo NF (Figura 24). O tratamento crônico com losartan, no entanto, não modificou o conteúdo de colágeno nos animais alimentados com dieta hiperlipídica (HF Los) (Figura 24).

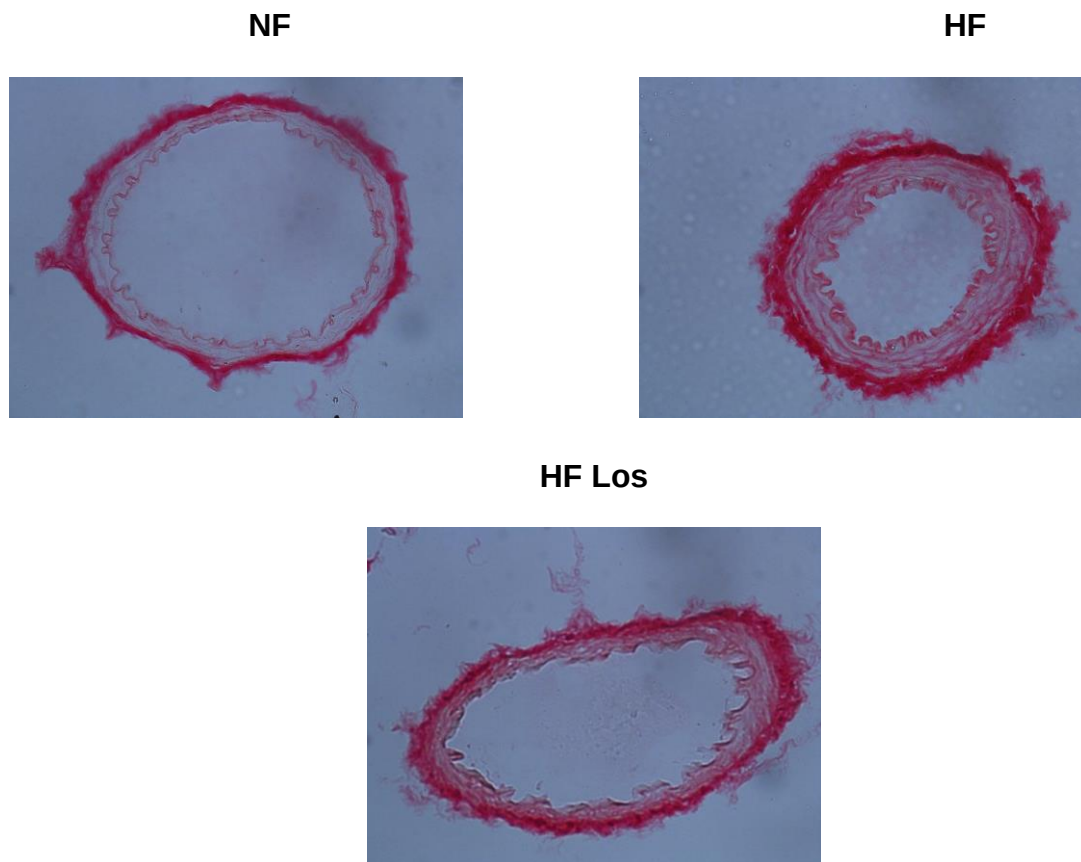
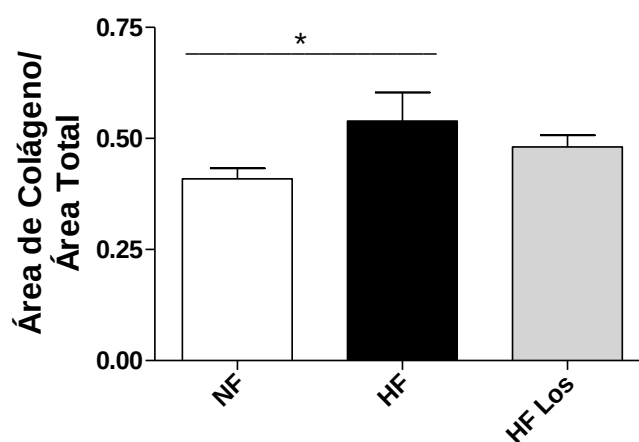
A**B**

Figura 24. (A) Imagens representativas do conteúdo total de colágeno em artéria mesentérica de resistência de ratos NF, HF e HF Los. (B). Gráfico com valores médios da área ocupada pelo colágeno em função da área total da parede vascular de artérias mesentéricas do grupo NF, HF e HF Los. Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=5-6 ratos em cada grupo. ANOVA (uma via), *P<0,05.

6 DISCUSSÃO

Injúrias ao sistema vascular induzido pela obesidade torna essa condição um dos principais fatores de riscos para o desenvolvimento de DCV (LIMA JÚNIOR et al., 2019; PETERSON et al., 2019). Como já demonstrado em outros estudos, sobretudo em camundongos e em artérias de condutância, os resultados do presente estudo demonstram que ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica apresentam disfunção endotelial, caracterizada por prejuízo na vasodilatação dependente do endotélio em artérias de resistência da circulação mesentérica. Esta disfunção está associada, pelo menos em parte, a uma maior participação de espécies reativas de oxigênio, fatores vasoconstrictores derivados do metabolismo do ácido araquidônico/ciclooxygenase e a uma menor biodisponibilidade do $\bullet$ NO. Além disso, o consumo de dieta hiperlipídica promoveu alterações estruturais e mecânicas nessas artérias, caracterizadas por remodelamento eutrófico para dentro e maior rigidez da parede arterial. Estas alterações parecem ser decorrentes da ação da angiotensina II via receptor AT1, uma vez que foram revertidas pelo tratamento crônico com o losartan.

A obesidade está fortemente relacionada com disfunção das células endoteliais (JIANG et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2011; XIA et al., 2016). A literatura mostra que modelos de obesidade induzido por dieta hiperlipídica apresentam prejuízo do vasorrelaxamento induzido pela acetilcolina, o qual parece ter uma grande correlação com o prejuízo da via do $\bullet$ NO (JIANG et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2011; XIA et al., 2016). A insulina produzida pelas células beta pancreáticas é um hormônio que estimula a produção de $\bullet$ NO devido a sua capacidade de ativar a eNOS; resistência a ação desse hormônio é uma característica muito comum em situações de expansão do tecido adiposo

(CIGNARELLI et al., 2019). No presente estudo, os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram resistência à insulina. Além disso, em condições de obesidade pode ocorrer intenso processo inflamatório e oxidativo que interfere diretamente na biodisponibilidade de $\bullet\text{NO}$ (DIMASSI et al., 2016). Diante disso, a fim de investigar se a disfunção endotelial induzida pela dieta hiperlipídica estaria relacionada com uma menor biodisponibilidade de $\bullet\text{NO}$, alguns experimentos foram realizados.

Primeiro, as artérias foram pré-tratadas com um inibidor da síntese de $\bullet\text{NO}$, o L-NAME. Como é sabido, o relaxamento induzido por acetilcolina em vasos de resistência é mediado pelo $\bullet\text{NO}$ e pelo fator hiperpolarizante derivado do endotélio (XAVIER et al., 2014). Como demonstrado, nas artérias do grupo NF (controle), o L-NAME reduziu, mas não inibiu o relaxamento induzido pela acetilcolina, indicando tanto a participação do $\bullet\text{NO}$, como também de outros fatores nesta resposta vasodilatadora dependente do endotélio. Contudo, nas artérias do grupo HF, o L-NAME falhou em promover qualquer modificação da resposta vasodilatadora induzida por acetilcolina. Esse resultado, portanto, indica que a participação do $\bullet\text{NO}$ na vasodilatação dependente do endotélio foi drasticamente prejudicada pelo consumo de dieta hiperlipídica. Devido ao fato do relaxamento induzido pelo doador de $\bullet\text{NO}$, nitroprussiato de sódio, não ter sido modificado pela dieta indica que a resposta do músculo liso vascular ao $\bullet\text{NO}$ foi preservada. Portanto, o prejuízo da via do $\bullet\text{NO}$ nas artérias do grupo HF provavelmente envolve a redução da sua biodisponibilidade. Para confirmação desta hipótese, a biodisponibilidade do $\bullet\text{NO}$ foi estimada através da fluorescência emitida pelo DAF-FM em cortes transversais de AMR. Os resultados aqui obtidos revelam uma redução significativa da fluorescência emitida pelo DAF-FM nas artérias do grupo HF, o que indica uma redução da

biodisponibilidade do •NO em comparação ao grupo NF. É importante mencionar que em relação à via do •NO tem sido publicado resultados conflitantes. Por exemplo, em aorta de camundongos obesos induzido por dieta, demonstrou-se uma maior biodisponibilidade de •NO através da utilização da sonda DAF-FM em relação ao grupo controle. Esse aumento foi acompanhado por uma maior expressão da enzima NO sintase induzível (iNOS), cuja expressão está associada com situações de inflamação (SILVA et al., 2016).

Baseado nos dados acima, é possível postular que o prejuízo da biodisponibilidade do •NO nas artérias do grupo HF possa estar associado a uma menor produção deste fator e/ou a sua maior degradação, como por exemplo devido ao aumento da produção de ERO. Tem sido amplamente demonstrado que na obesidade, o tecido adiposo em expansão se torna disfuncional, ocorrendo uma maior produção de ERO, as quais podem estar relacionadas inclusive com a resistência à insulina encontrada em indivíduos obesos (CASTRO; GRUNE; SPECKMANN, 2016; RAINS; JAIN, 2011). Lynch et al. (2013) demonstraram um aumento da expressão da NOX2, uma das isoformas da família NOX pertencente à NADPH oxidase, em aorta de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica. Esse resultado correlacionou-se com a disfunção endotelial encontrada, indicando os ânions superóxidos provenientes da NOX2 como responsáveis pelo prejuízo da função vascular nesses animais (LYNCH et al. 2013). Quando elevado, o estresse oxidativo pode diminuir a biodisponibilidade de •NO e todos seus efeitos biológicos. Isso pode ocorrer em consequência da reação de ânions superóxidos com o •NO e consequente formação de peroxinitrito (BECKMAN; KOPPENOL, 1996). Além do mais, em situação de estresse oxidativo elevado, como na obesidade, pode ocorrer oxidação do BH₄, com desacoplamento da eNOS e mais produção de radicais livres (BAGI,

FEHER, CASSUTO, 2011; VARGAS-ROBLES et al., 2015). Além disso, as ERO, quando em níveis suprafisiológicos, podem acarretar injúria vascular por atuarem também como fatores vasoconstritores (SIQUES; BRITO; PENA, 2018). Diante disso, a fim de investigar se o estresse oxidativo estaria relacionado com a menor quantidade de $\bullet\text{NO}$ em AMR do grupo HF, as artérias foram pre-incubadas com um mimético da SOD, o tempol. O tempol aumentou o relaxamento induzido pela acetilcolina nas AMR do grupo HF, sem alterar a resposta vasodilatadora à acetilcolina no grupo NF. Esse resultado indica a participação dos ânions superóxidos na disfunção endotelial encontrada em AMR dos animais submetidos a dieta hiperlipídica, possivelmente por essas espécies atuarem reduzindo a biodisponibilidade de $\bullet\text{NO}$. A fim de corroborar este resultado, realizou-se um experimento com cortes transversais de AMR, utilizando uma sonda que emite fluorescência ao reagir com ERO, o DHE. Surpreendentemente, não houve diferença na fluorescência emitida pelo DHE entre as AMR dos grupos NF e HF, sugerindo, através dessa técnica experimental, que a geração de ERO na parede arterial não foi afetada pelo consumo de dieta hiperlipídica. Resultados similares ao encontrado no presente estudo, utilizando a mesma técnica, também já foram publicados. Franco et al. (2017) avaliaram o estresse oxidativo através da sonda DHE em aorta de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e não encontraram diferença estatisticamente significativa entre esses animais e o grupo controle. Silva et al. (2016) também investigaram a produção de ERO através do uso do DHE em aorta de camundongos obesos induzido por dieta e nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os grupos experimentais. É plausível pensar que técnicas que apresentem uma maior sensibilidade para detectar ERO sejam necessárias neste caso.

As ERO são produzidas por diversos sistemas enzimáticos e a NADPH oxidase é considerada uma das principais fontes geradoras dessas espécies no sistema vascular (MANEA, 2010). Com o objetivo de investigar a participação dessa enzima nas alterações vasculares encontradas no grupo HF, as AMR foram pré-tratadas com um inibidor da NADPH oxidase/antioxidante, a apocinina. Assim como o tempol, a apocinina aumentou a resposta vasodilatadora à acetilcolina no grupo HF, sem, contudo, alterar a resposta no grupo NF. O presente resultado indica a NADPH oxidase como uma importante fonte geradora de ERO na parede vascular do grupo HF. Katakam et al. (2005) demonstraram prejuízo na resposta vasodilatadora induzida por insulina em artérias coronárias de ratos Zucker obesos, o qual foi revertido pela utilização da apocinina. Além disso, foi demonstrado que o aumento dos níveis de ERO nos animais obesos foi revertido após inibição da NADPH oxidase. O mesmo grupo de pesquisadores ainda demonstrou um aumento significativo da produção de ânions superóxidos dependentes da enzima NADPH oxidase em artérias cerebrais de ratos Zucker obesos; essa alteração foi associada com prejuízo na resposta vasodilatadora à acetilcolina (ERDOS et al., 2005).

A expansão e disfunção do tecido adiposo consequente a obesidade também está relacionada com aumento do perfil inflamatório, caracterizado por elevação da secreção de citocinas pró-inflamatórias e diminuição de citocinas anti-inflamatórias (KANG et al., 2016). Elmarakby et al. (2010) demonstraram em tecido renal de ratos hipertensos induzido por angiotensina e alimentados com dieta hiperlipídica, um aumento da resposta inflamatória comparado ao grupo normotenso alimentado com dieta hiperlipídica, caracterizada pelo aumento na expressão de COX-2. Além disso, o estresse oxidativo também pode atuar estimulando a atividade da enzima COX-2 e assim contribuir para o

desenvolvimento do estado inflamatório (MARTÍNEZ-REVELLEZ et al., 2013). Sendo assim, a fim de investigar o envolvimento da via da COX nas alterações vasculares do grupo HF, as artérias foram pré-incubadas com um inibidor da ciclooxygenase, a indometacina. Na presença desse inibidor, a resposta vasodilatadora induzida pela acetilcolina foi inalterada nas artérias do grupo NF, como previamente demonstrado (DE QUEIROZ et al., 2017; RAMOS-ALVES et al., 2012). Contudo, nas artérias do grupo HF, a inibição da COX promoveu um aumento significativo da resposta vasodilatadora à acetilcolina. Este resultado, portanto, aponta para o envolvimento dos produtos derivados da via da COX como um dos possíveis mecanismos da disfunção endotelial produzida pelo consumo de dieta hiperlipídica. Vessièrres et al. (2010) demonstraram a presença de disfunção endotelial em artérias mesentéricas de ratos Zucker obesos, associada a uma maior expressão da COX-2.

A inflamação do tecido adiposo encontrada na obesidade pode levar à ativação do SRAA, acarretando mais estresse oxidativo e inflamação (CABANDUGAMA; GARDNERA; SOWERS, 2017). A angiotensina II, além de ser um potente agente vasoconstritor, interfere indiretamente na produção e degradação de óxido nítrico por ativar vias de sinalização, como a via inflamatória e a via oxidativa (ZHANG et al., 2018). A angiotensina pode ativar vias como a do NF- κ B e a via da COX-2 em vários tecidos, estimulando a liberação de prostanóides vasoconstritores e adipocinas que induzem inflamação (OHNAKA et al., 2000; WOLF et al., 2000). Na literatura são escassos os trabalhos que demonstram o papel do SRAA na disfunção vascular induzida por consumo de dieta hiperlipídica. Para demonstrar a participação ou não da angiotensina II nas alterações da função vascular observadas no grupo HF, as AMR desses animais foram

pré-incubadas com o losartan. Os resultados obtidos sugerem o envolvimento da angiotensina II na disfunção vascular encontrada no grupo HF, uma vez que a pré-incubação com o losartan melhorou o relaxamento à acetilcolina nas AMR desse grupo.

Está bem documentada na literatura a capacidade da angiotensina II em de ativar vias inflamatórias e oxidativas. Wen et al. (2018) demonstraram em ratos Sprague-Dawley infartados que o antagonismo do receptor AT1 com losartan reverteu a insuficiência cardíaca dos animais através da redução do estresse oxidativo local. Ademais, em vários tecidos, a angiotensina II é um potente indutor de expressão de COX-2 (BELTRAN et al., 2009; HU et al., 2002; JAIMES et al., 2005; O'CONNOR & CLARK 2019; WONG et al., 2011). Nos glomérulos renais de ratos, a angiotensina II induziu um aumento de mais de seis vezes na expressão de COX-2; nas células mesangiais, a liberação de PGE₂ e PGI₂ aumentou 200% e 100% em resposta à angiotensina II, respectivamente (JAIMES et al., 2005). O aumento da expressão de COX-2 em decorrência da angiotensina II também tem sido observado em células da parede vascular, incluindo fibroblastos, células musculares lisas e células endoteliais (HU et al., 2002; BELTRAN et al., 2009; WONG et al., 2011). Portanto, a fim de elucidar se o estresse oxidativo e o possível estado inflamatório elevado no leito mesentérico dos animais alimentados com dieta hiperlipídica estaria sendo mediado pelo principal peptídeo bioativo do SRAA, os animais foram tratados cronicamente com o losartan.

Os resultados obtidos demonstram que o tratamento com losartan normalizou o relaxamento dependente do endotélio nas AMR do grupo HF, sem causar alterações no grupo NF. Nas artérias do grupo HF tratados com losartan (HF-Los), a indometacina não alterou o relaxamento à acetilcolina. Esse resultado é indicativo de uma redução da

produção de fatores vasoconstritores derivados da COX após o antagonismo dos receptores AT1, o que reforça a hipótese de que o aumento de metabólitos da COX nos animais HF é dependente da angiotensina II. Assim, a angiotensina II parece atuar estimulando a produção de metabólitos derivados da COX, colaborando para o perfil inflamatório do grupo HF, o que resulta no desenvolvimento da disfunção endotelial.

Outro efeito da angiotensina II é a sua capacidade de estimular vias de sinalizações relacionadas ao estresse oxidativo, como a da NADPH oxidase (GRIENDLING et al., 1994) Esta enzima, atua como uma das principais fontes de produção de ERO na parede vascular, a qual está relacionada ao desequilíbrio redox e ao prejuízo da função vascular em diversas situações patológicas (MAHMOUD et al., 2017; MASLOV et al., 2019). O resultado do presente estudo demonstrou que nas AMR dos animais HF que receberam tratamento com losartan (HF-Los), tanto o tempol quanto a apocinina não alteraram o relaxamento vascular dependente do endotélio, sugerindo que a angiotensina II estaria estimulando a enzima NADPH oxidase a produzir ânions superóxidos no leito vascular estudado. Além disso, as ERO também estão envolvidas com ativação da via da COX, assim como produtos do metabolismo da COX também estimulam vias de geração de ERO, como a própria NADPH oxidase (MARTÍNEZ-REVELLES et al., 2013). Essa interação entre estresse oxidativo e aumento do perfil inflamatório induzido por angiotensina II pode estar relacionado com a menor quantidade de $\bullet\text{NO}$ encontrada nas AMR do grupo HF. Corroborando essa hipótese, o antagonismo do receptor AT1 pelo losartan restaurou o efeito do L-NAME na vasodilatação induzida pela acetilcolina e a fluorescência emitida pelo DAF-FM (indicativo da biodisponibilidade do $\bullet\text{NO}$) nas AMR de ratos HF.

O efeito pró-oxidante e proinflamatório da angiotensina II pode ainda acarretar o desacoplamento da eNOS com menor produção de •NO. Quando no estado desacoplado, a eNOS ao invés de produzir •NO, produz ânions superóxidos, favorecendo ainda mais o desequilíbrio redox e o prejuízo da função vascular (FORSTERMANN; SESSA, 2012). OAK et al. (2007) reportaram diminuição da produção de ânions superóxidos provenientes da eNOS e aumento da biodisponibilidade de •NO após o antagonismo do receptor AT1 em aorta de camundongos diabéticos. CHAO et al. (2018) demonstraram ainda que o tratamento com losartan aumentou a fosforilação da eNOS no sítio Ser(633,177), elevar os níveis de •NO e reduzir os níveis de Erro em cultura de células endoteliais humanas.

Existem atualmente evidências que os mecanismos oxidativos e pró-inflamatórios também estão envolvidos no surgimento de alterações estruturais e/ou mecânicas da parede arterial, independentemente de alterações hemodinâmicas. O fenômeno do remodelamento vascular está relacionado frequentemente com doenças que afetam o sistema cardiovascular, contribuindo para o aumento da resistência periférica em situações de risco cardiovascular, como hipertensão arterial, insuficiência cardíaca, aterosclerose e obesidade (KRUEGER et al., 2017; LEE; DICKHOUT; SANDOW, 2017). O remodelamento vascular consiste em alterações do diâmetro luminal (para fora ou para dentro), em alterações na área de secção transversal da parede arterial (hipertrófica, eutrófica ou hipotrófica), ou em alterações da matriz extracelular (MULVANY *et al.*, 1996). No caso do remodelamento para dentro, ocorre aumento da resistência ao fluxo sanguíneo, podendo levar à sobrecarga do sistema cardiovascular e à graves complicações, a depender do leito vascular acometido, como insuficiência cardíaca e

elevação sustentada da pressão arterial (KU et al., 2016; THOMPSON; LAWRIE, 2017). Além disso, as alterações estruturais na parede vascular podem levar à rigidez arterial, através de modificações das propriedades mecânicas do vaso, como complacência e distensibilidade. Diante disso, o remodelamento vascular e a rigidez da parede arterial podem contribuir para o aumento da morbidade e mortalidade por eventos cardiovasculares (GIL-ORTEGA et al., 2015). Na literatura existem até então, pouquíssimas evidências experimentais de que a ingestão crônica de uma dieta hiperlipídica possa cursar com alterações estruturais em artérias de resistência. Assim, foram realizados no presente estudo experimentos com AMR pressurizadas de ratos NF e HF, com o objetivo de identificar possíveis modificações na estrutura e nas propriedades mecânicas destas artérias.

Os resultados do presente estudo demonstraram que a dieta hiperlipídica reduziu o diâmetro externo e interno das AMR, com aumento da espessura da parede e da relação parede/lúmen, sem modificação da área de secção transversal, o que caracteriza um remodelamento eutrófico para dentro (MULVANY *et al.*, 1996). Este tipo de remodelamento parece representar, assim como em outros modelos, um mecanismo contribuinte para o aumento da resistência vascular periférica e, portanto, para o processo hipertensivo. De acordo com a Lei de Poiseuille, a resistência vascular varia inversamente proporcional à quarta potência do raio, sendo este uma função das propriedades estruturais e mecânicas vasculares ativas e passivas. As propriedades passivas podem ser descritas pela relação pressão:diâmetro em condições de completo relaxamento vascular, enquanto as propriedades ativas correspondem a uma função do nível de ativação das células musculares lisas, da quantidade e da organização destas

células em torno da circunferência do vaso. Considerando um dado nível de ativação das células musculares lisas e que este produz uma determinada tensão por área de secção transversal, a pressão contra a qual o vaso irá contrair, de acordo com a Lei de Laplace, é proporcional a relação parede:lúmen (MULVANY, 1984). Sendo assim, o aumento da relação parede:lúmen em artérias de resistência pode ser considerado como um dos mecanismos contribuintes para o aumento da resistência vascular periférica e, portanto, da pressão arterial.

Como já mencionado, o diâmetro interno arterial depende das propriedades ativas da parede arterial em resposta à pressão transmural e da complacência desta. A complacência, que é a capacidade do vaso distender-se em resposta a aumentos de pressão intravascular, é dependente da geometria e da rigidez dos componentes da parede vascular. Esta complacência pode ser reduzida em consequência de um diâmetro interno reduzido, como por exemplo na hipertensão arterial, sendo este um exemplo típico de efeito dependente da geometria, ou pode sofrer alterações em consequência de mudanças do módulo elástico. Este, por sua vez, depende da rigidez dos constituintes da parede vascular, colágeno, elastina, células musculares lisas etc., e é independente da geometria.

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que as AMR do grupo HF apresentaram aumento da rigidez arterial, como evidenciado pelo deslocamento para esquerda da relação stress:strain (com maior valor de β) e do módulo elástico, quando comparadas ao grupo NF. As AMR do grupo HF ainda foram menos complacentes e menos distensíveis em comparação ao grupo NF. Estes resultados são semelhantes aos muitos outros previamente publicados em modelos de hipertensão arterial (BRIONES et

al., 2003; HADJU, BAUMBACH, 1994; INTENGAN et al., 1999). É importante ainda destacar, que o aumento da rigidez pode ser um dos mecanismos responsáveis pela redução do diâmetro interno observado nas AMR do grupo HF. Um estudo realizado em camundongos obesos também demonstrou, assim como no presente estudo, uma maior rigidez arterial em artérias da circulação mesentérica (GIL-ORTEGA et al., 2015). Essas alterações foram associadas a um aumento do estresse oxidativo e maior deposição de colágeno nos vasos desses animais (GIL-ORTEGA et al., 2015).

O colágeno é uma das principais proteínas que constitui a matriz extracelular e quando aumentado pode contribuir para as alterações estruturais da parede vascular. Na camada íntima, média e adventícia dos vasos é encontrado principalmente o colágeno do tipo I e III. Esta proteína é um dos principais determinantes para o módulo elástico (BANK et al., 1996) e sua maior deposição na parede vascular pode ser um importante contribuinte para o aumento da rigidez arterial (LAURANT et al., 1997; INTENGAN et al., 1999a). Sendo assim, a fim de investigar o envolvimento do colágeno nas alterações estruturais e mecânicas das AMR dos grupos experimentais, o conteúdo total de colágeno foi avaliado. Os resultados obtidos demonstram que nas AMR do grupo HF existe uma maior deposição de colágeno comparado ao grupo NF. Este aumento possivelmente contribui para as alterações estruturais e mecânicas dos vasos de resistência encontradas no grupo alimentado com dieta hiperlipídica.

Como já descrito acima, a angiotensina II, o principal mediador do SRAA, estimula a geração de ERO, a produção de citocinas inflamatórias e de moléculas de adesão através de fatores de transcrição, como o NF- κ B e a AP-1 (AROOR; JIA; SOWERS, 2018; PARK; LAKATTA, 2012; TOUYZ et al., 2000), efeitos que são mediados pela sua ligação

ao receptor AT1. Através destes efeitos a angiotensina II, além de produzir alterações funcionais na parede vascular, também promove remodelamento (TOUYZ et al., 2005). Além disso, a angiotensina II induz crescimento do músculo liso vascular e pode regular a síntese e deposição de colágeno na parede arterial. Ao se ligar aos receptores do tipo AT1, a angiotensina II ativa vias de sinalização, como da AKT e MAPK que estão envolvidas com a síntese de colágeno e maior enrijecimento da parede dos vasos (LI et al., 2018; QUEK; AMEERAB; PHILIPSA, 2018). Além disso, a angiotensina II também pode atuar na degradação da matriz extracelular através da regulação da expressão de metaloproteinases (MMP), principalmente dos subtipos 2 e 9 que apresentam maior seletividade para a membrana basal das células vasculares (SATO; HIRAISHI; YOSHIDA, 2018). Todos esses efeitos produzidos pela angiotensina II favorece o desenvolvimento do remodelamento vascular através da proliferação e migração de células do músculo liso vascular (WANG et al., 2015).

Considerando que as alterações funcionais das AMR do grupo HF tem participação da angiotensina II e envolve mecanismos inflamatórios e de redução da biodisponibilidade do $\bullet$ NO, esta poderia também participar do remodelamento vascular observado neste grupo. Para comprovar esta hipótese, as propriedades estruturais e mecânicas das AMR foram avaliadas em animais tratados com losartan. Como é possível observar na seção de resultados, o tratamento com losartan reverteu todas as alterações observadas na AMR do grupo HF; tanto em relação à estrutura, quanto em relação à mecânica da parede arterial. Resultados semelhantes com o losartan tem sido observado em alguns modelos de hipertensão. Por exemplo, QUEK et al. (2018) demonstraram que o antagonismo do receptor AT1 aumentou o diâmetro interno e externo e diminuir a

espessura da parede e a relação parede/lúmen em artéria de resistência de um modelo de hipertensão genética. Além disso, o tratamento também melhorou a complacência e diminuir a rigidez e a densidade de colágeno das artérias. No presente estudo, entretanto, o tratamento com losartan, apesar de ter reduzido a espessura de parede nas AMR do grupo HF, não diminuiu significativamente a deposição de colágeno nestas artérias.

Outro importante resultado encontrado neste estudo foi o aumento da resposta miogênica no grupo HF. A despolarização da membrana secundária ao estiramento arterial, o aumento do influxo de cálcio e a fosforilação da cadeia leve de miosina são alguns dos mecanismos que podem estar envolvidos no aumento do tônus miogênico (MARTINSEN; DESSY; MOREL, 2014; ZOU; RATZ; HILL, 1995). Ademais, o SRAA parece contribuir para a resposta miogênica, uma vez que a ativação do receptor AT1 pode estar envolvida com o aumento da contração da musculatura lisa dos vasos através da ativação da via de sinalização DAG/PKC (HONG et al., 2016). Neste estudo, o tratamento com o antagonista do receptor AT1 reverteu o tônus miogênico nas AMR do grupo HF, indicando que a dieta hiperlipídica induz esta resposta através de mecanismo envolvendo possivelmente a participação da angiotensina II. Um estudo realizado por HONG et al. (2016) demonstrou a ativação do receptor AT1 através de estímulos mecânicos independente da produção local de angiotensina II. A resposta miogênica de arteríolas de músculos esqueléticos de ratos foi inibida após o uso de um antagonista do receptor AT1. Essa resposta ao que tudo indica foi independente de alterações na concentração de cálcio. Um outro estudo demonstrou que o aumento do tônus miogênico em um modelo de insuficiência cardíaca foi totalmente revertido após antagonismo do

receptor AT1, mas não houve alteração com o uso do inibidor da ECA (GSCHWEND et al., 2003).

É possível que a obesidade induzida pela dieta hiperlipídica atue estimulando o SRAA e a maior produção de angiotensina II. Esse peptídeo bioativo via interação com o receptor AT1 possivelmente provoca efeitos deletérios ao sistema vascular. No entanto, ainda são necessárias maiores investigações a fim de esclarecer melhor o envolvimento desse complexo sistema com a obesidade.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica apresentam comprometimentos no sistema vascular, como disfunção endotelial e remodelamento dos vasos de resistência. Essas alterações parecem estar relacionadas com a diminuição na biodisponibilidade do óxido nítrico, com a ativação da via de sinalização da COX e aumento da produção de ânions superóxidos pela NADPH oxidase. As modificações estruturais presentes nas artérias de resistência desses animais se caracterizam como remodelamento eutrófico para dentro. Além disso, os resultados aqui obtidos indicam fortemente a angiotensina II como provável mediador dessas alterações.

REFERÊNCIAS

ABADIRA, P. M.; WALSTONA, J. D.; CAREY, R. M. Subcellular characteristics of functional intracellular renin – angiotensin systems. **Peptides**, v. 38, p. 437-445, 2012.

ACHARI, A. E.; JAIN, S. Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. **Int J Mol Sci**, v. 18, p. 1321, 2017.

AFLYATUMOVA, G. N. et al. Endothelin-1, nitric oxide, serotonin and high blood pressure in male adolescents. **Vasc Health Risk Manag**, v. 14, p. 213-223, 2018.

AGHAMOHAMMADZADEH, R. et al. Perivascular adipose tissue from human systemic and coronary vessels: the emergence of a new pharmacotherapeutic target. **Br J Pharmacol**, v. 165, p. 670-682, 2012.

ALCALA, M. et al. Antioxidants and oxidative stress: focus in obese pregnancies. **Front Physiol**, v. 9, p. 1569, 2018.

ALCALÁ, M. Increased inflammation, oxidative stress and mitochondrial respiration in brown adipose tissue from obese mice. **Sci Rep**, v. 7, p. 16082, 2017.

ALMABROUK, T. A. M. et al. Perivascular fat, AMP-activated protein kinase and vascular diseases. **Br J Pharmacol**, v. 171, p. 595-617, 2014.

ALZOGHAIBI, M. A. Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease. **World J Gastroenterol**, v. 19, p. 6540-6547, 2013.

AMOS, L. D. et al. Catalase overexpression modulates metabolic parameters in a new 'stress-less' leptin-deficient mouse model. **Biochim Biophys Acta**, v. 1863, p. 2293–2306, 2017.

AROOR, A. R. et al. The role of tissue renin-angiotensin-aldosterone system in the development of endothelial dysfunction and arterial stiffness. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 4, p. 161, 2013.

AROOR, A. R.; JIA, G.; SOWERS, J. R. Cellular mechanisms underlying obesity-induced arterial stiffness. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 314, p. 387-398, 2018.

ARRIZA, J. L. et al. Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor. **Science**, v. 237, p. 268-275, 1987.

AVENDAÑO, M. S. et al. Role of COX-2-derived PGE₂ on vascular stiffness and function in hypertension. **Br J Pharmacol**, v. 173, p. 1541-1555, 2016.

AYALA-LOPEZ, N.; WATTS, S. W. New actions of an old friend: perivascular adipose tissue's adrenergic mechanisms. **Br J Pharmacol**, v. 174, p. 3454-3465, 2017.

BAGI, Z. et al. Up-regulation of vascular cyclooxygenase-2 in diabetes mellitus. **Pharmacol Rep**, v.58, p. 52-56, 2006.

BAGI, Z.; FEHER, A.; CASSUTO, J. Microvascular responsiveness in obesity: implications for therapeutic intervention. **Br J Pharmacol**, v. 165, p. 544-560, 2012.

BAKKER, E. N. T. P. et al. Activation of resistance arteries with endothelin-1: from vasoconstriction to functional adaptation and remodeling. **J Vasc Res**, v. 41, p. 174-182, 2004.

BANK, A. J. et al. Contribution of collagen, elastin, and smooth muscle to in vivo human brachial artery wall stress and elastic modulus. **Circulation**, v. 94, p. 3263-3270, 1996.

BARDAWEEL, S. K. et al. Reactive oxygen species: the dual role in physiological and pathological conditions of the human body. **Eurasian J Med**, v. 50, p. 193-201, 2018.

BAUERSACHS, J.; WIDDER, J. D. Endothelial dysfunction in heart failure. **Pharmacol Rep**, v. 60, p. 119-126, 2008.

BECKMAN, J. S.; KOPPENOL, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. **Am. J. Physiol**, v. 271, p. 1424-1437, 1996.

BELTRÁN, A. E. et al. p38 MAPK contributes to angiotensin II-induced COX-2 expression in aortic fibroblasts from normotensive and hypertensive rats. **J Hypertens**, v. 27, p. 142-154, 2009.

BJORLING, K. et al. Role of age, Rho-kinase 2 expression, and G protein-mediated signaling in the myogenic response in mouse small mesenteric arteries. **Physiol Rep**, v. 6, p. 13863, 2018.

BRINK, M.; WELLEN, J.; DELAFONTAINE, P. Angiotensin II causes weight loss and decreases circulating insulin-like growth factor I in rats through a pressor-independent mechanism. **J Clin Invest.**, v. 97, p. 2509-2516, 1996.

BRIONES, A. M.; ARRIBAS, S. M.; SALAICES, M. Role of extracellular matrix in vascular remodeling of hypertension. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 19, p. 187-194, 2010.

BRIONES, A. M. et al. Alterations in structure and mechanics of resistance arteries from ouabain induced hypertensive rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 291, p. 193-201, 2006.

BRIONES, A. M. et al. Atorvastatin prevents angiotensin ii-induced vascular remodeling and oxidative stress. **Hypertension**, v. 54, p. 142-149, 2009.

BRIONES, A. M. et al. Role of elastin in spontaneously hypertensive rat small mesenteric artery remodelling. **Journal of Physiology**, v. 552, p. 185-195, 2003.

BRIONES, A. M.; SALAICES, M.; VILA, E. Mechanisms underlying hypertrophic remodeling and increased stiffness of mesenteric resistance arteries from aged rats. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 62, p. 696-706, 2007.

BURTENSHAW, D. et al. Nox, Reactive Oxygen Species and Regulation of Vascular Cell Fate. **Antioxidants (Basel)**, v14, p. 90, 2017.

BUSSARD, R. L.; BUSSE, L. W. Angiotensin II: a new therapeutic option for vasodilatory shock. **Ther Clin Risk Manag**, v. 14, p. 1287-1298, 2018.

CABANDUGAMAA, P. K.; GARDNERA, M. J.; SOWERS, J. R. The renin angiotensin aldosterone system in obesity and hypertension: roles in the cardiorenal metabolic syndrome (CRS). **Med Clin North Am**, v. 101, p. 129-137, 2017.

CAHILL, P. A.; REDMOND, E. M. Vascular endothelium – gatekeeper of vessel health. **Atherosclerosis**, v. 248, p. 97-109, 2016.

CAMARGO, L. L. et al. Vascular Nox compartmentalization, protein hyperoxidation and ER stress response in hypertension. **Hypertension**, v. 72, p. 235-246, 2018.

CANNAVO, A; et al. Aldosterone and mineralocorticoid receptor system in cardiovascular physiology and pathophysiology. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2018, p. 1204598, 2018.

CAPRA, V. et al. Impact of vascular thromboxane prostanoid receptor activation on hemostasis, thrombosis, oxidative stress, and inflammation. **J Thromb Haemost**, v. 12, p. 126-137, 2014.

CARIA, A. C. I. et al. Exercise training-induced changes in microRNAs: beneficial regulatory effects in hypertension, type 2 diabetes, and obesity. **Int J Mol Sci**, v. 19, p. 3608, 2018.

CARMO, L. S. et al. Expansive vascular remodeling and increased vascular calcification response to cholecalciferol in a murine model of obesity and insulin resistance. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 39, p. 200-211, 2019.

CARRIZO, A. et al. The main determinants of diabetes mellitus vascular complications: endothelial dysfunction and platelet hyperaggregation. **Int J Mol Sci**, v. 19, p. 2968, 2018.

CASSIS, L. A. et al. Local adipose tissue renin-angiotensin system. **Curr Hypertens Rep**, v. 10, p. 93-98, 2008.

CASTRO, J. P.; GRUNE, T.; SPECKMANN, B. The two faces of reactive oxygen species (ROS) in adipocyte function and dysfunction. **Biol Chem**, v. 397, p. 709-724, 2016.

CHAO, Y. et al. Low shear stress induces endothelial reactive oxygen species via the AT1R/eNOS/NO pathway. **J Cell Physiol**, v. 233, p. 1384-1395, 2018.

CHRISOBOLIS, S. et al. Role of Nox isoforms in angiotensin II-induced oxidative stress and endothelial dysfunction in brain. **J Appl Physiol (1985)**, v. 113, p. 184-191, 2012.

CHUAIPHICHA, S. et al. Endothelial cell tetrahydrobiopterin modulates sensitivity to angiotensin II-induced vascular remodeling, blood pressure, and abdominal aortic aneurysm. **Hypertension**, v. 72, p. 128-138, 2018.

CIGNARELLI, A. et al. Insulin and insulin receptors in adipose tissue development. **Int J Mol Sci**, v. 20, p. 759, 2019.

COHEN, J. B. et al. Obesity, renin-angiotensin system blockade and risk of adverse renal outcomes: a population-based cohort study. **Am J Nephrol**, v. 43, p. 431-440, 2016.

CONGER, J. D.; ROBINETTE, J. B.; SCHRIER, R. W. Smooth muscle calcium and endothelium-derived relaxing factor in the abnormal vascular responses of acute renal failure. **J Clin Invest**, v. 82, p. 532-537, 1988.

COOPER, M. E. The role of renin-angiotensin-aldosterone system in diabetes and its vascular complications. **Am J Hypertens**, v. 17, p. 16-20, 2004.

CUI, N.; HU, M.; KHALIL, R. A. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v.147, p. 1-73, 2017.

CUI, N.; HU, M.; KHALIL, R. A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v. 147, p. 1-73, 2017.

D'USCIO, L.V. et al. Structure and function of small arteries in salt-induced hypertension: effects of chronic endothelin-subtype-A-receptor blockade. **Hypertension**, v. 30, p. 905-911, 1997.

DAVEL, A. P. et al. New roles of aldosterone and mineralocorticoid receptors in cardiovascular disease: translational and sex-specific effects. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 315, p. 989-999, 2018.

DE QUEIROZ, D. B. et al. Losartan reverses COX-2-dependent vascular dysfunction in offspring of hyperglycaemic rats. **Life Sci**, v. 184, p. 71-80, 2017.

DE QUEIROZ, D. B. et al. Losartan reverses COX-2-dependent vascular dysfunction in offspring of hyperglycaemic rats. **Life Sci**, v. 184, p. 71-80, 2017.

DE SÁ, F. G. et al. Hyperglycaemia in pregnant rats causes sex-related vascular dysfunction in adult offspring: role of cyclooxygenase-2. **Exp Physiol**, v. 102, p. 1019-1036, 2017.

DE SOUZA, D. C. et al. Effects of high-intensity interval and moderate-intensity continuous exercise on inflammatory, leptina, IgA, and lipid peroxidation responses in obese males. **Front Physiol**, v. 9, p. 567, 2018.

DE VRIESE, A. S. et al. Endothelial dysfunction in diabetes. **Br J Pharmacol**, v. 130, p. 963-974, 2000.

DENG, L.Y.; Schiffrin, E.L. Effects of endothelin on resistance arteries of DOCA-salt hypertensive rats. **American Journal of Physiology**, v. 262, p. 1782-1787, 1992.

DENG, L.Y.; Schiffrin, E.L. Morphologic and functional alterations of mesenteric small resistance arteries in early renal hypertension in the rat. **American Journal of Physiology**, v. 261, p. 1171-1177, 1991.

DIMASSI, S. et al. Role of eNOS- and NOX-containing microparticles in endothelial dysfunction in patients with obesity. **Obesity (Silver Spring)**, v. 24, p. 1305-1312, 2016.

DLUDLA, P. V. et al. Inflammation and Oxidative Stress in an Obese State and the Protective Effects of Gallic Acid. **Nutrients**, v. 11, p. 23, 2019.

DOBRIN, P. B. Mechanical properties of arteries. **Physiological Reviews**, v. 58, p. 397-460, 1978.

DOVIZIO, M. et al. Role of platelets in inflammation and cancer: novel therapeutic strategies. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v. 114, p. 118-127, 2014.

DRUMMOND, G. R. et al. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. **Nat Rev Drug Discov**, v. 10, p. 453-471, 2011.

DRUMMOND, G. R. et al. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. **Nat Rev Drug Discov**, v. 10, p. 453-471, 2011.

DUNN, S. M.; DAS, K. C. Decreased EDHF-mediated relaxation is a major mechanism in endothelial dysfunction in resistance arteries in aged mice on prolonged high-fat sucrose diet. **Physiol Rep**, v.5, p. 13502, 2017.

DURANTE, W.; SEM, A. K.; SUNAHARA, F. A. Impairment of endothelium-dependent relaxation in aortae from spontaneously diabetic rats. **Br. J. Pharmacol**, v. 94, p. 463-468, 1988.

EKMEN, N. et al. Leptin as an important link between obesity and cardiovascular risk factors in men with acute myocardial infarction. **Indian Heart Journal**, v. 68, p. 132-137, 2016.

ELMARAKBY, A. A.; IMIG, J. D. Obesity is the major contributor to vascular dysfunction and inflammation in high-fat diet hypertensive rats. **Clin Sci (Lond)**, v. 118, p. 291-301, 2010.

EL-YAZBI, A. F.; ABD-ELRAHMAN, K. S. ROK and arteriolar myogenic tone generation: molecular evidence in health and disease. **Front Pharmacol**, v. 8, p. 87, 2017.

ERDOS, B. et al. Rosuvastatin improves cerebrovascular function in Zucker obese rats by inhibiting NAD(P)H oxidase-dependent superoxide production. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 290, p. 1264-1270, 2006.

ESPER, R. J. et al. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. **Cardiovasc Diabetol**, v. 5, p. 4, 2006.

FÉLÉTOU, M.; HUANG, Y.; VANHOUTTE, P. M. Vasoconstrictor prostanoids. **Pflugers Arch**, v. 459, p. 941-950, 2010.

FERACO, A. et al. Role of mineralocorticoid receptor and renin-angiotensin-aldosterone system in adipocyte dysfunction and obesity. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 137, p. 99-106, 2013.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. **Int. J. Mol. Sci**, v. 12, p. 3117-3132, 2011.

FERRARIO, C. M.; MULLICK, A. E. Renin angiotensin aldosterone inhibition in the treatment of cardiovascular disease. **Pharmacol Res**, v. 125, p. 57-71, 2017.

FERRON, A. J. T. et al. Association between cardiac remodeling and metabolic alteration in an experimental model of obesity induced by western diet. **Nutrients**, v. 10, p. 1675, 2018.

FORNY-GERMANO, L.; DE FELICE, F. G.; VIEIRA, M. N. D. N. The role of leptina and adiponectin in obesity-associated cognitive decline and alzheimer's disease. **Front Neurosci**, v.12, p. 1027, 2019.

FORSTERMANN, U.; MUNZEL, T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease from marvel to menace. **Circulation**, v. 113, p. 1708-1714, 2006.

FORSTERMANN, U.; SESSA, W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. **European Heart Journal**, v. 33, p. 829–837, 2012.

FORTES, Z. B.; LEME, J. G.; SCIVOLETTO, R. Vascular reactivity in diabetes mellitus: role of the endothelial cell. **Br. J. Pharmacol**, v. 79, p. 771-781, 1983.

FRANCO, N. S. "Propranolol treatment lowers blood pressure, reduces vascular inflammatory markers and improves endothelial function in obese mice". **Pharmacol Res**, v. 122, p. 35-45, 2017.

FUJINO, T. et al. Effects of the prostanoids on the proliferation or hypertrophy of cultured murine aortic smooth muscle cells. **Br J Pharmacol**, v.136, p. 530-539, 2002.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-376, 1980.

GAMEZ-MENDEZ, A. M. et al. Oxidative stress-dependent coronary endothelial dysfunction in obese mice. **PLoS One**, v. 10, p. 0138609, 2015.

GARCÍA-RUIZ, C.; FERNÁNDEZ-CHECA, J. C. Mitochondrial oxidative stress and antioxidants balance in fatty liver disease. **Hepatology Commun**, v. 2, p. 1425-1439, 2018.

GHISI, G. L. M. et al. Physical exercise and endothelial dysfunction. **Arg Bras Cardiol**, v. 95, p. 130-137, 2010.

GIL-ORTEGA, M. et al. Arterial stiffness is associated with adipokine dysregulation in non-hypertensive obese mice. **Vasc Pharmacol**, v. 77, p. 38-47, 2016.

GINGRAS, M.; FARAND, P.; SAFAR, M. E.; PLANTE, G. E. Adventitia: the vital wall of conduit arteries. **J Am Soc Hypertens**, v. 3, p. 166–183, 2009.

GORINI, S. et al. Mineralocorticoid receptor and aldosterone-related biomarkers of end-organ damage in cardiometabolic disease. **Biomolecules**, v. 8, p. 96, 2018.

GRAMLICH, Y. et al. Oxidative Stress in Cardiac Tissue of Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery: The Effects of Overweight and Obesity. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2018, p. 6598326, 2018.

GRAUS-NUNES, F.; SOUZA-MELLO, V. The renin-angiotensin system as a target to solve the riddle of endocrine pancreas homeostasis. **Biomed Pharmacother**, v. 109, p. 639-645, 2018.

GRIENDLING, K. K. Angiotensin II Stimulates NADH and NADPH Oxidase Activity in Cultured Vascular Smooth Muscle Cells. **Circ Res**, v. 74, p. 1141-1148, 1994.

GRUZDEVA, O. et al. Localization of fat depots and cardiovascular risk. **Lipids Health Dis**, v. 17, p. 218, 2018.

GSCHWEND S, HENNING RH, PINTO YM, DE ZEEUW D, VAN GLIST WH, BUIKEMA H. Myogenic constriction is increased in mesenteric resistance arteries from rats with chronic heart failure: instantaneous counteraction by acute AT1 receptor blockade. **Br J Pharmacol**, v. 139, p. 1317-1325, 2003.

GU, Y. et al. Aliskiren improves endothelium-dependent relaxation of thoracic aorta by activating PI3K/Akt/eNOS signal pathway in SHR. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 43, p. 450-458, 2016.

GUZIK, T. J. et al. The role of infiltrating immune cells in dysfunctional adipose tissue. **Cardiovasc Res**, v. 113, p. 1009-1023, 2017.

HADJU, M.A.; BAUMBACH, G.L. Mechanics of large and small cerebral arteries in chronic hypertension. **American Journal of Physiology**, v. 266, p. 1027–1033, 1994.

HALPERN, W.; MULVANY, M. J.; WARSHAW, D. M. Mechanical properties of smooth muscle cells in the walls of arterial resistance vessels. **The journal of Physiology**, v. 275, p. 85-101, 1978.

HAMILOS, M.; PETOUSIS, S.; PARTHENAKIS, F. Interaction between platelets and endothelium: from pathophysiology to new therapeutic options. **Cardiovasc Diagn Ther**, v. 8, p. 568-580, 2018.

HAN, C. Y. Roles of Reactive Oxygen Species on Insulin Resistance in Adipose Tissue. **Diabetes Metabol J**, v. 40, p. 272-279, 2016.

HARRIS, P. J.; NAVAR, L. G. Tubular transport responses to angiotensin. **Am J Physiol**, v. 248, p. 621-630, 1985.

HARTIGH, L. J. D. et al. Adipocyte-specific deficiency of NADPH oxidase 4 delays the onset of insulin resistance and attenuates adipose tissue inflammation in obesity. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 37, p. 466-475, 2017.

HARVEY, A. et al. Vascular fibrosis in aging and hypertension: molecular mechanisms and clinical implications. **Can J Cardiol**, v. 31, p. 659-668, 2016.

HAUCK, A. K. et al. Adipose oxidative stress and protein carbonylation. **J Biol Chem**, v. 294, p. 1083-1088, 2019.

HERNANZ, R. et al. Pioglitazone treatment increases COX-2-derived prostacyclin production and reduces oxidative stress in hypertensive rats: role in vascular function. **Br J Pharmacol**, v. 166, p. 1303-1319, 2012.

HOLMBERG, J. et al. Loss of vascular myogenic tone in miR-143/145 knockout mice is associated with hypertension-induced vascular lesions in small mesenteric **Arteries**. **Arterioscl Thromb Vasc Biol**, v. 38, p. 414-424, 2018.

HONG, K. et al. Mechanical activation of angiotensin II type 1 receptors causes actin remodelling and myogenic responsiveness in skeletal muscle arterioles. **J Physiol**, v. 594, p. 7027-7047, 2016.

HSIEH, O. S. et al. Suppressive effect of COX2 inhibitor on the progression of adipose inflammation in high fat-induced obese rats. **Eur J Clin Invest**, v. 40, p. 164-171, 2010.

HU, Y. P. et al. Reactive Oxygen Species Mediated Prostaglandin E2 Contributes to Acute Response of Epithelial Injury. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2017, p. 4123854, 2017.

HU, Z. W. et al. Angiotensin II increases expression of cyclooxygenase-2: implications for the function of vascular smooth muscle cells **J. Pharmacol Exp Ther**, v. 303, p. 563-573, 2002.

HUANG, H.; AL-SHABRAWAY, M.; WANG, M. H. Cyclooxygenase- and cytochrome P450-derived eicosanoids in stroke. **Prostaglandins Other Lipid Mediat**, v. 122, p. 45-53, 2016.

HUBY, A. C. et al. Adipocyte-derived hormone leptin is a direct regulator of aldosterone secretion, which promotes endothelial dysfunction and cardiac fibrosis. **Circulation**, v. 132, p. 2134-2145, 2015.

INDO, H. P. et al. A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging. **J Clin Biochem Nutr**, v. 56, p. 1-7, 2015.

INTENGAN, H. D. et al. Mechanics and composition of human subcutaneous resistance arteries in essential hypertension. **Hypertension**, v. 33, p. 569-574, 1999b.

INTENGAN, H. D.; SCHIFFRIN, E. L. Vascular Remodeling in Hypertension Roles of Apoptosis, Inflammation, and Fibrosis. **Hypertension**, v. 38, p. 581-587, 2001.

INTENGAN, H. D.; THIBAUT, G.; LI, J. S.; SCHIFFRIN, E. L. Resistance artery mechanics, structure, and extracellular components in spontaneously hypertensive rats: effects of angiotensin receptor antagonism and converting enzyme inhibition. **Circulation**, v.100, p. 2267-2275, 1999a.

ISMAEEL, A. et al. Oxidative Stress and Arterial Dysfunction in Peripheral Artery Disease. **Antioxidants (Basel)**, v. 7, p. 145, 2018.

IZZARD, A. S. et al. Myogenic and structural properties of cerebral arteries from the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. **American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology**, v. 285, p. 1489-1494, 2003.

JAGADEESH, G. Angiotensin II receptors-antagonists, molecular biology, and signal transduction. **Indian J Exp Biol**, v. 36, p. 1171-1194, 1998.

JAIMES, E. A. et al. Up-regulation of glomerular COX-2 by angiotensin II: role of reactive oxygen species. **Kidney Int**, v. 68, p. 2143-2153, 2005.

JAYAKODY, L.; KAPPAGODA, T.; SENARATNE, M. P. J.; THOMSON, A. B. R. Impairment of endothelium-dependent relaxation: an early marker for atherosclerosis in the rabbit. **Br. J. Pharmacol**, v. 94, p. 335-346, 1988.

JEEVA, J. S. et al. Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. **J Pharm Bioallied Sci**, v. 7, p. 331-333, 2015.

JIANG, F. et al. Mangiferin inhibits high-fat diet induced vascular injury via regulation of PTEN/AKT/eNOS pathway. **J Pharmacol Sci**, v. 137, p. 265-273, 2018.

KALUPAHANA, N. S.; CLAYCOMBE, K. J.; MOUSTAID-MOUSSA, N. (n-3) fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insights. **Adv Nutr**, v. 2, p. 304-316, 2011.

KANG, Y. E. et al. The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. **PLoS ONE**, v. 11, p. 0154003, 2016.

KANG, Y. S. Obesity associated hypertension: new insights into mechanism. **Electrolyte Blood Press**, v. 11, p. 46-52, 2013.

KASHINA, E.; NAMSOLLECK, P.; UNGER, T. AT2 receptors in cardiovascular and renal diseases. **Pharmacol Res**, v. 125, p. 39-47, 2017.

KASHIWAGI H. et al. Roles of Prostanoids in the Regulation of Platelet Function. **Thromb Haemost Res**, v. 2, p. 1014, 2018.

KATAKAM, P. V. et al. Impaired insulin-induced vasodilation in small coronary arteries of Zucker obese rats is mediated by reactive oxygen species. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 288, p. 854-860, 2005.

KAWAI, T. et al. AT1 receptor signaling pathways in the cardiovascular system. **Pharmacol Res**, v. 125, p. 4-13, 2017.

KAWAMURA, M.; ITOH, H.; YURA, S. Undernutrition in utero augments systolic blood pressure and cardiac remodeling in adult mouse offspring: possible involvement of local cardiac angiotensin system in developmental origins of cardiovascular disease. **Endocrinology**, v. 148, p.1218-1225, 2007.

KOBAYASI, R.; et al. Oxidative stress and inflammatory mediators contribute to endothelial dysfunction in high-fat diet-induced obesity in mice. **J Hypertens**, v. 28, p. 2111-2119, 2010.

KONG, L. R. et al. Decrease of perivascular adipose tissue browning is associated with vascular dysfunction in spontaneous hypertensive rats during aging. **Front Physiol**, v. 9, p. 400, 2018.

KONUKOGLU, D.; UZUN, H. Endothelial dysfunction and hypertension. **Adv Med Exp Biol**, v. 956, p. 511-540, 2017.

KORSGAARD, N.; MULVANY, M. J. Cellular hypertrophy in mesenteric resistance vessels from renal hypertensive rats. **Hypertension**, v.12, p. 162-167, 1988.

KRUEGER, F. et al. AT1-receptor blockade attenuates outward aortic remodeling associated with diet-induced obesity in mice. **Clin Sci**, v. 131, p. 1989-2005, 2017.

KU, H.C. et al. A model of cardiac remodeling through constriction of the abdominal aorta in rats. **J Vis Exp**, v. 118, p. 54818, 2016.

LAURANT, P.; TOUYZ, R. M.; SCHIFFRIN, E. L. Effect of pressurization on mechanical properties of mesenteric small arteries from spontaneously hypertensive rats. **Journal of Vascular Research**, v. 34, p. 117-125, 1997.

LACOLLEY, P. et al. Vascular smooth muscle cells and arterial stiffening: relevance in development, aging, and disease. **Physiol Rev**, v. 97, p. 1555-1677, 2017.

LAMMERT, E.; AXNICK, J. Vascular lumen formation. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 2, p. 6619, 2012.

LAWRENCE, A. R.; GOOCH, K. J. Transmural pressure and axial loading interactively regulate arterial remodeling ex vivo. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 297, P. 475-484, 2009.

LEE, R. M.; DICKHOUT, J. G.; SANDOW, S. L. Vascular structural and functional changes: their association with causality in hypertension: models, remodeling and relevance. **Hypertens Res**, v. 40, p. 311-323, 2017.

LI, J. D. et al. Mechanism of vasoactive peptide intermedin in vascular collagen remodeling during angiotensin II-induced hypertention. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 22, p. 5652-5658, 2018.

LI, Y, X. I. A. W. et al. Prostaglandins in the pathogenesis of kidney diseases. **Oncotarget**, v. 9, p. 26586-26602, 2018.

LIMA JÚNIOR, J. C. et al. Central role of obesity in endothelial cell dysfunction and cardiovascular risk. **Rev Assoc Med Bras (1992)**, v. 65, p. 87-97, 2019.

LINDERMAN, G. C. et al. Association of body mass index with blood pressure among 1.7 million chinese adults. **JAMA Netw Open**, v. 1, p. 181271, 2018.

LITTLE, R. Z. I. M. et al. Reduced expression of PMCA1 is associated with increased blood pressure with age which is preceded by remodelling of resistance arteries. **Aging Cell**, v. 16, p. 1104-1113, 2017.

LIU, C. et al. Oral nicotine aggravates endothelial dysfunction and vascular inflammation in diet-induced obese rats: Role of macrophage TNF α . **PLoS One**, v. 12, p. 0188439, 2017.

LIU, J.; KHALIL, R. A. Matrix metalloproteinase inhibitors as investigational and therapeutic tools in unrestrained tissue remodeling and pathological disorders. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v. 148, P. 355-420, 2017.

LOBATO, N. S. et al. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity-associated hypertension. **Braz J Med Biol Res**, v.45, p. 392-400, 2012.

LOPEZ-JARAMILLO, P. et al. Obesity and preeclampsia: common pathophysiological mechanisms. **Front Physiol**, v. 9, p. 1838, 2018.

LUO, W.; LIU, B.; ZHOU, Y. The endothelial cyclooxygenase pathway: insights from mouse arteries. **Eur J Pharmacol**, v. 780, p. 148-158, 2016.

LYNCH, C. M. et al. Nox2-derived superoxide contributes to cerebral vascular dysfunction in diet-induced obesity. **Stroke**, v. 44, p. 3195-3201, 2013.

LYONS, H. J.; CHRUCHHILL, P. C. Renin secretion from rat renal cortical cell suspensions. **Am J Physiology**, v. 228, p. 1835-1839, 1975.

MA, L. et al. Perivascular fat-mediated vascular dysfunction and remodeling through the AMPK/mTOR pathway in high-fat diet-induced obese rats. **Hypertens Res**, v. 33, p. 446-453, 2010.

MAHMOUD, A. M. et al. Nox2 contributes to hyperinsulinemia-induced redox imbalance and impaired vascular function. **Redox Biol**, v. 13, p. 288-300, 2017.

MANEA, A. NADPH oxidase-derived reactive oxygen species: involvement in vascular physiology and pathology. **Cell Tissue Res**, v. 342, p. 325-339, 2010.

MANNA, P.; JAIN, S. K. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. **Metab Syndr Relat Disord**, v. 13, p. 423-444, 2015.

MAO, Z.; ZHANG, W. Role of mTOR in Glucose and Lipid Metabolism. **Int. J. Mol. Sci**, v. 19, p. 2043, 2018.

MARTINEZ-LEMUS, L. A. et al. Inward remodeling of resistance arteries requires reactive oxygen species-dependent activation of matrix metalloproteinases. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 300, p. 2005-2015, 2011.

MARTÍNEZ-REVELLES, S. et al. Reciprocal relationship between reactive oxygen species and cyclooxygenase-2 and vascular dysfunction in hypertension. **Antioxid Redox Signal**, v. 18, p. 51-65, 2013.

MARTINSEN, A.; DESSY, C.; MOREL, N. Regulation of calcium channels in smooth muscle: New insights into the role of myosin light chain kinase. **Channels (Austin)**, v. 8, p. 402-413, 2014.

MASLOVA, L. N. et al. Is oxidative stress of adipocytes a cause or a consequence of the metabolic syndrome? *J Clin Transl Endocrinol*, v. 15, p. 1-15, 2018.

MATSCHKE, V.; THEISS, C.; MATSCHKE, J. Oxidative stress: the lowest common denominator of multiple diseases. **Neural Reagen Res**, v. 14, p. 238-241, 2019.

MAURICIO, M. D. et al. Nanoparticles in Medicine: A Focus on Vascular Oxidative Stress. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2018, p. 6231482, 2018.

MONAHAN-EARLEY, R. DVORAK, A. M.; AIRD, W. C. Evolutionary origins of the blood vascular system and endothelium. **J Thromb Haemost**, v. 11, p. 46-66, 2013.

MONTEZANO, A. C. et al. Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Reduced Oxidase 5 (Nox5) Regulation by angiotensin ii and endothelin-1 is mediated via calcium/calmodulin-dependent, Rac-1-independent pathways in human endothelial cells. **Circ Res**, v. 106, p. 1363-1373, 2010.

MULVANY, M. J. et al. Vascular remodeling. **Hypertension**, v. 28, p. 505-506, 1996. A

MULVANY, M. J. Remodeling of resistance vessel structure in essential hypertension. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 2, p. 77-81, 1993.

MULVANY, M. J. The development and regression of vascular hypertrophy. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 19, p. 22-27, 1992.

MULVANY, M. J. A reduced elastic modulus of vascular wall components in hypertension? **Hypertension**, v. 20, p. 7-9, 1992.

MULVANY, M. J. Vascular remodelling of resistance vessels: can we define this? **Cardiovascular Research**, v. 41, p. 9-13, 1999.

MULVANY, M. J.; AALKJAER, C. Structure and function of small arteries. **Physiol Rev**, v. 70, p. 921-961, 1990.

MULVANY, M.J. Determinants of vascular hemodynamic characteristics. **Hypertension**, v. 6, p. 13-18, 1984.

MUNEER, K.; NAIR, A. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and receptor blockers in heart failure and chronic kidney disease – Demystifying controversies. **Indian Heart J**, v. 69, p. 371-374, 2017.

MUÑOZ, M. et al. COX-2 is involved in vascular oxidative stress and endothelial dysfunction of renal interlobar arteries from obese Zucker rats. **Free Radic Biol Med**, v. 84, p. 77-90, 2015.

MYASOEDOVAA, V. A. et al. Matrix metalloproteinases in pro-atherosclerotic arterial remodeling. **J Mol Cell Cardiol**, v. 123, p. 159-167, 2018.

NÁDASY, G. L. et al. Biomechanics of resistance artery wall remodeling in angiotensin-ii hypertension and subsequent recovery. **Kidney Blood Press Res**, v. 33, p. 37-47, 2010.

NASCIMENTO, T. B. et al. Vascular alterations in high-fat diet-obese rats: role of endothelial L-arginine/NO pathway. **Arq Bras Cardiol**, v. 47, p. 40-45, 2011.

NAVA, E.; LLORENS, S. The paracrine control of vascular motion. A historical perspective. **Pharmacol Res**, v. 113, p. 125-145, 2016.

NEVES, M. F. et al. The role of renin–angiotensin–aldosterone system and its new components in arterial stiffness and vascular aging. **High Blood Press Cardiovasc Prev**, v. 25, p. 137-145, 2018.

NEW, D. I. et al. Structural remodeling of resistance arteries in uremic hypertension. **Kidney Y**, v. 65, p. 1818-1825, 2004.

NGUYEN DINH CAT, A. et al. Adipocyte-derived factors regulate vascular smooth muscle cells through mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. **Hypertension**, v. 58, p. 479-488, 2011.

NIAZI, Z. R. EPA:DHA 6:1 prevents angiotensin II-induced hypertension and endothelial dysfunction in rats: role of NADPH oxidase- and COX-derived oxidative stress. **Hypertension Research**, p. 1-10, 2017.

NISHIYAMA, A.; KOBORI, H. Independent regulation of renin–angiotensin–aldosterone system in the kidney. **Clin Exp Nephrol**, v. 22, p. 1231-1239, 2018.

NORRELUND, H. et al. Early narrowed afferent arteriole is a contributor to the development of hypertension. **Hypertension**, v.24, p. 301-308, 1994.

NOUR-ELDINE, W. et al. Adiponectin attenuates angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell remodeling through nitric oxide and the RhoA/ROCK pathway. **Front Pharmacol**, v. 7, p. 86, 2016.

NUNES, D. O. et al. Linoleic acid reduces vascular reactivity and improves the vascular dysfunction of the small mesentery in hypertension. **J Nutr Biochem**, v. 62, p. 18-27, 2018.

OAK, J. H.; CAI, H. Attenuation of angiotensin ii signaling recouples eNOS and inhibits Nonendothelial NOX activity in diabetic mice. **Diabetes**, v. 56, p. 118-126, 2007.

O'CONNOR, A. T.; CLARK, M. A. Angiotensin II induces cyclooxygenase 2 expression in rat astrocytes via the angiotensin type 1 receptor. **Neuropeptides**, v. 26, p. 101958, 2019.

OHNAKA, K. et al. Induction of Cyclooxygenase-2 by Angiotensin II in Cultured Rat Vascular Smooth Muscle Cells. **Hypertension**, v. 35, p. 68-75, 2000.

OIKONOMOU, E. K.; ANTONIADES, C. The role of adipose tissue in cardiovascular health and disease. **Nat Ver Cardiol**, v. 16, p. 83-99, 2019.

OISHI, J. C. et al. Endothelial dysfunction and inflammation precedes elevations in blood pressure induced by a High-Fat Diet. **Arg Bras Cardiol**, v. 110, p. 558-567, 2018.

ONODERA, Y. et al. Reactive oxygen species induce Cox-2 expression via TAK1 activation in synovial fibroblast cells. **FEBS Open Bio**, v. 5, p. 492-501, 2015.

ORE, A.; AKINLOIE, A. O. Oxidative stress and antioxidant biomarkers in clinical and experimental models of Non-Alcoholic fatty liver Disease. **Medicina (kaunas)**, v. 55, p. 26, 2019.

OUAKININ, S. R. S.; BARREIRA, D. P.; GOIS, C. J. Depression and obesity: integrating the role of stress, neuroendocrine dysfunction and inflammatory pathways. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 9, p. 431, 2018.

PADILLA, J. et al. Divergent phenotype of rat thoracic and abdominal perivascular adipose tissues. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 304, p. 543-552, 2013.

PAHLAVANI, M. et al. Regulation and Functions of the Renin-Angiotensin System in White and Brown Adipose Tissue. **Compr Physiol**, v. 7, p. 1137-1150, 2017.

PALMER, R. M.; ASHTON, D. S.; MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, v. 333, p. 664-666, 1988.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, WORLD HEALTH ORGANIZATION (PAHO/WHO). Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doenca-s-cardiovasculares&Itemid=1096. Accessed, March 21, 2019.

PANDEY, G. et al. Association between hyperleptinemia and oxidative stress in obese diabetic subjects. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, p. 14-24, 2015.

PAN, M. et al. Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. **J Clin Invest**, v. 113, p. 1277-1287, 2004.

PANNUZIO, A.; COLUCCIA, M. Cyclooxygenase-1 (COX-1) and COX-1 Inhibitors in Cancer: A Review of Oncology and Medicinal Chemistry Literature. **Pharmaceuticals (Basel)**, v. 11, p. 101, 2018.

PARK, S.; LAKATTA, E. G. Role of inflammation in the pathogenesis of arterial stiffness. **Yonsei Med J**, v. 53, p. 258-261, 2012.

PAZ-FILHO, G. et al. Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 56, p. 597-607, 2012.

PERIS, E. et al. Antioxidant treatment induces reductive stress associated with mitochondrial dysfunction in adipocytes. **J Biol Chem**, v. 294, p. 2340-2352, 2019.

PETERSON, S. J. et al. Oxidized HDL, adipokines, and endothelial dysfunction: a potential biomarker profile for cardiovascular risk in women with obesity. **Obesity (Silver Spring)**, v. 27, p. 87-93, 2019.

PETI-PETERDI, J; HARRIS, R. C. Macula densa sensing and signaling mechanisms of renin release. **J AM Soc Nephrol**, v. 21, p. 1093-1096, 2010.

PIGNATELLI, P. et al. Oxidative stress and cardiovascular disease: new insights. **Kardiol Pol**, v. 76, p. 713-722, 2019.

PING, S. et al. Simultaneous increases in proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells accelerate diabetic mouse venous atherosclerosis. **Plos One**, v. 10, p. 0141375, 2015.

POBER, J. S.; MIN, W.; BRADLEY, J. R. Mechanisms of endothelial dysfunction, injury, and death. **Annu Ver Pathol**, v. 4, p. 71-95, 2009.

PORTERIA, E. et al. Adrenergic mechanisms and remodeling of subcutaneous small resistance arteries in humans. **J Hypertens**, v. 21, p. 2345-2352, 2003.

PRIKSZ, D. et al. Upregulation of myocardial and vascular phosphodiesterase 9a in a model of atherosclerotic cardiovascular disease. **Int J Sci**, v. 19, p. 2882, 2018.

QUEK, K. J.; AMEERAB, O. Z.; PHILIPSA, J. K. AT1 receptor antagonism improves structural, functional and biomechanical properties in resistance arteries in a rodent chronic kidney disease model. **Am J Hypertens**, v. 31, p. 696-705, 2018.

QUINTANA-VILLAMANDOS, B. et al. Short-term esmolol attenuates remodeling of the thoracic aorta in hypertensive rats by decreasing concentrations of ADMA down-regulated by oxidative stress. **Eur J Pharmacol**, v. 791, p. 502-509, 2016.

RABÊLO, L. A. et al. Redox unbalance: NADPH oxidase as therapeutic target in blood pressure control. **Arq Bras Cardiol**, v. 94, p. 683-693, 2010.

RADENKOVIC, M. et al. Angiotensin receptor blockers & endothelial dysfunction: possible correlation & therapeutic implications. **Indian J Med Res**, v. 144, p. 154-168, 2016.

RAINS, J. L.; JAIN, S. K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. **Free Radic Biol Med**, v. 50, p. 567-575, 2011.

RAJSHEKER, S. et al. Crosstalk Between Perivascular Adipose Tissue and Blood Vessels. **Curr Opin Pharmacol**, v. 10, p. 191-196, 2010.

RAMALINGAM, L. et al. The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance. **Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis**, v. 1863, p. 1106-1114, 2017.

RAMOS-ALVES, F. E. et al. Effect of age and COX-2-derived prostanoids on the progression of adult vascular dysfunction in the offspring of diabetic rats. **Br J Pharmacol**, v. 166, p. 2198-2208, 2012.

RASHID, S. T. et al. Preservation of vascular endothelial repair in mice with diet-induced obesity. **Obes Sci Pract**, v.4, p. 490-496, 2018.

REGNAULT, V.; SEGERS, P.; LAURENT, S. Vascular smooth muscle cells and arterial stiffening: relevance in development, aging, and disease. **Physiol Rev**, v. 97, p. 1555-1617, 2017.

RENNA, N. F.; DE LAS HERAS, N.; MIATELLO, R. M. Pathophysiology of vascular remodeling in hypertension. **Int J Hypertes**, v. 2013, p. 808353, 2013.

RESHI, M. L.; SU, Y. C.; HONG, J. R. RNA Viruses: ROS-Mediated Cell Death. **Int J Cell Biol**, v. 2014, p. 467452, 2014.

RHODIN, J. A. G. Architecture of the vessel wall. In: **Comprehensive Physiology**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., p 1-31, 1980.

RIBEIRO-OLIVEIRA, A. Jr. et al. The renin-angiotensin system and diabetes: an update. **Vasc Health Risk Manag**, v. 4, p. 787-803, 2008.

RODRÍGUEZ-LARA, S. Q.; GARCÍA-BENAVIDES, L.; MIRANDA-DÍAZ, A. G. The Renin-Angiotensin-Aldosterone System as a Therapeutic Target in Late Injury Caused by Ischemia-Reperfusion. **Int J Endocrinol**, v. 2018, p. 3614303, 2018.

ROSEI, E. A.; RIZZONI, D. Small artery remodelling in diabetes. **J Cell Mol Med**, v. 14, p. 1030-1036, 2010.

RUDIC, R. D.; SESSA, W. C. HUMAN GENETICS '99: THE CARDIOVASCULAR SYSTEM Nitric Oxide in Endothelial Dysfunction and Vascular Remodeling: Clinical Correlates and Experimental Links. **Am. J. Hum. Genet**, V. 64, P. 673-677, 1999.

RUIZ, E. et al. Human Vascular Smooth Muscle Cells From Diabetic Patients Are Resistant to Induced Apoptosis Due to High Bcl-2 Expression. **Diabetes**, v. 55, p. 1243-1251, 2006.

SACERDOTI, D. et al. Development of NASH in Obese Mice is Confounded by Adipose Tissue Increase in Inflammatory NOV and Oxidative Stress. **Int J Hepatol**, v. 2018, p. 3484107, 2018.

SANTOS-ROCHA J. **Sobrecarga de sódio durante a gestação induz alterações funcionais e estruturais em artérias da prole adulta: papel da angiotensina II**. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, p. 91, 2018.

SANTOS-ROCHA, J. et al. Maternal high-sodium intake affects the offspring' vascular renin-angiotensin system promoting endothelial dysfunction in rats. **Vascul Pharmacol**, p. 1537-1891, 2019.

SATO, R.; HIRAISHI, C.; YOSHIDA, H. Effect of angiotensin II on matrix metalloproteinase-2 secretion in human umbilical vein endothelial Cells. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 71, p. 233-239, 2018.

SCHIFFRIN, E. L. Vascular remodeling in hypertension: mechanisms and treatment. **Hypertension**, v. 59, p. 367-374, 2012.

SCHMIDT, V. J. et al. Gap junctions synchronize vascular tone within the microcirculation. **Pharmacol Rep**, v. 60, p. 68-74, 2008.

SCHOETTL, T.; FISCHER, I. P.; USSAR, S. Heterogeneity of adipose tissue in development and metabolic function. **J Exp Biol**, v. 221, p. 162958, 2018.

SCHUTTEN, M. T. J. et al. The link between adipose tissue renin angiotensin-aldosterone system signaling and obesity-associated hypertension. **Physiology (Bethesda)**, v. 32, p. 197-209, 2017.

SCHWARTZ, S. M.; VIRMANI, R.; MAJESKY, M. W. An update on clonality: what smooth muscle cell type makes up the atherosclerotic plaque? **F1000Res**, v. 7, p. 1000, 2018.

SEILER, A. et al. Obesity, Dietary Factors, Nutrition, and Breast Cancer Risk. **Curr Breast Cancer Rep**, v. 10, p. 14-27, 2018.

SENA, C. M, et al. Vascular oxidative stress: impact and therapeutic approaches. **Front Physiol**, v.9, p. 1668, 2018.

SEO, M. J.; OH, D. K. Prostaglandin synthases: Molecular characterization and involvement in prostaglandin biosynthesis. **Prog Lipid Res**, v. 66, p. 50-68, 2017.

SHEN, W. L. et al. NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species regulate angiotensin-II induced adventitial fibroblast phenotypic differentiation. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 339, p. 337-343, 2006.

SHIMOKAWA, H. et al. Prostacyclin releases endothelium-derived relaxing factor and potentiates its action in coronary arteries of the pig. **Br J Pharmacol**, v. 95, p. 1197-1203, 1988.

SHIMOKAWA, O.; TAKESHITA, A. Endothelium-Dependent Regulation of the Cardiovascular System. **Intern Med**, v. 34, p. 939-946, 1995.

SIBUYI, N. R. S. et al. Vascular targeted nanotherapeutic approach for obesity treatment. **Int J Nanomedicine**, v. 13, p. 7915-7929, 2018.

SILVA, F. C. et al. Obesity, Inflammation, and exercise training: relative contribution of iNOS and eNOS in the modulation of vascular function in the mouse aorta. **Front Physiol**, v. 7, p. 386, 2016.

SILVA, M. A. et al. Spironolacton treatment attenuates vascular dysfunction in type 2 diabetic mice by decreasing oxidative stress restoring NO/GC signaling. **Front Physiol**, v. 6, p. 269, 2015.

SILVA, S. D. et al. Temporal changes in cardiac oxidative stress, inflammation and remodeling induced by exercise in hypertension: Role for local angiotensin II reduction. **Plos one**, v. 12, p. 0189535, 2017.

SIMPLICIO, J. Á. et al. Reactive oxygen species derived from NAD(P)H oxidase play a role on ethanol-induced hypertension and endothelial dysfunction in rat resistance arteries. **J Physiol Biochem**, v. 73, p. 5-16, 2017.

SIQUES, P.; BRITO, J.; PENA, E. Reactive oxygen species and pulmonary vasculature during hypobaric hypoxia. **Front Physiol**, v. 9, p. 865, 2018.

SPINETTI, G. et al. Diabetes and vessel wall remodelling: from mechanistic insights to regenerative therapies. **Cardiovasc Res**, v. 78, p. 265-273, 2008.

SU, J. B. Vascular endothelial dysfunction and pharmacological treatment. **World J Cardiol**, v. 7, p. 719-741, 2015.

SZASZ, T.; WEBB, R. C. Perivascular adipose tissue: more than just structural support. **Clin Sci (Lond)**, v. 122, p. 1-12, 2012.

SZCZEPANSKA-SADOWSKA, E.; CZARZASTA, K.; CUDNOCH-JEDRZEJEWSKA, A. Dysregulation of the renin-angiotensin system and the vasopressinergic system interactions in cardiovascular disorders. **Curr Hypertens Rep**, v. 20, p. 19, 2018.

TAKAOKA, M. et al. Periadventitial Adipose Tissue Plays a Critical Role in Vascular Remodeling. **Circ Res**, v. 105, p. 906-911, 2009.

TANGVARASITTICHAJ, S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. **World J Diabetes**, v. 15, p. 456-480, 2015.

THOMPSON, A. A. R.; LAWRIE, A. Targeting Vascular Remodeling to Treat Pulmonary Arterial Hypertension **Trends Mol Med**, v. 23, p. 31-45, 2017.

THORGEIRSSON, G.; ROBERTSON, A. L. The vascular endothelium-pathobiologic significance. **Am J Pathol**, v. 93, p. 803-848, 1978.

TIAN, X. Y. et al. Oxidative stress-dependent cyclooxygenase-2-derived prostaglandin f(2 α) impairs endothelial function in renovascular hypertensive rats. **Antioxid Redox Signal**, v. 16, p. 363-373, 2012.

TOUSOULIS, D. et al. The role of nitric oxide on endothelial function. **Curr Vasc Pharmacol**, v. 10, p. 4-18, 2012.

TOUYZ, R. M. Intracellular mechanisms involved in vascular remodelling of resistance arteries in hypertension: role of angiotensin II. **Exp Physiol**, v. 90, p. 449-455, 2005.

TOUYZ, R. M. Reactive oxygen species as mediators of calcium signaling by angiotensin ii: implications in vascular physiology and pathophysiology. **Antioxid Redox Signal**, v. 7, p. 1302-1314, 2005.

TOUYZ, R. M. Vascular Remodeling, Retinal Arteries, and Hypertension. **Hypertension**, v. 50, p. 603-604, 2007.

TOUYZ, R.M. SCHIFFRIN, E.L. Ang II-stimulated superoxide production is mediated via phospholipase D in human vascular smooth muscle cells. **Hypertension**, v. 34, p. 976-998, 1999.

TOUYZ, R.M.; SCHIFFRIN, E.L. Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Pharmacological. Reviews*, v. 52, p. 639-672, 2000.

TRAUPE, T. et al. Obesity increases prostanoid-mediated vasoconstriction and vascular thromboxane receptor gene expression. *J Hypertens*, v. 20, p. 2239-2245, 2002.

TREJO-MORENO, C. et al. Cucumis sativus Aqueous Fraction Inhibits Angiotensin II-Induced Inflammation and Oxidative Stress In Vitro. *Nutrients*, v. 10, p. 276, 2018.

TUNARU, S. et al. Arachidonic acid metabolite 19(S)-HETE induces vasorelaxation and platelet inhibition by activating prostacyclin (IP) receptor. *PLoS One*, v. 11, p. 0163633, 2016.

UEDA, H. Renin and nervous system. *Jpn Heart J*, v. 17, p. 5210526, 1976.

UĞUREL, S. S. et al. Resveratrol prevented lipopolysaccharide-induced endothelial dysfunction in rat thoracic aorta through increased eNOS expression. *Balkan Med J*, v. 33, p. 138-143, 2016.

UMEMURA, S.; NYUI, N.; TAMURA, K. Plasma angiotensinogen concentrations in obese patients. *Am J Hypertens*, v. 10, p. 629-633, 1997.

UNAMUNO, X. et al. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. *Eur J Clin Invest*, v 48, p. 12997, 2018.

UNGER, T.; LI, J. The role of the renin-angiotensin-aldosterone system in heart failure. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, v. 1, p. 7-10, 2004.

VAN VARIK, B. J. et al. Mechanisms of arterial remodeling: lessons from genetic diseases. *Front Genet*, v. 3, p. 290, 2012.

VANHOUTTE, P. M. Endothelial dysfunction the first step toward coronary arteriosclerosis. **Circ J**, v. 73, p. 595-601, 2009.

VANHOUTTE, P. M. Nitric Oxide: From Good to Bad. **Ann Vasc Dis**, v. 11, p. 41-51, 2018.

VANHOUTTE, P. M.; SCOTT-BURDEN, T. The Endothelium in Health and Disease. **Text Heart Inst j**, v 21, p. 62-67, 1994.

VARGAS-ROBLES, H. et al. Antioxidative Diet Supplementation Reverses High-Fat Diet-Induced Increases of Cardiovascular Risk Factors in Mice. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2015, p. 467471, 2015.

VERSARI, D. et al. Endothelium-dependent contractions and endothelial dysfunction in human hypertension. **Br J Pharmacol**, v. 157, p. 527-536, 2009.

VESSIÉREZ, E. et al. Cyclooxygenase-2 inhibition restored endothelium-mediated relaxation in old obese Zucker rat mesenteric arteries. **Front Physiol**, v. 1, p. 145, 2010.

VIRDIS, A. et al. Endothelial Dysfunction in Small Arteries of Essential Hypertensive Patients Role of Cyclooxygenase-2 in Oxidative Stress Generation. **Hypertension**, v. 62, p. 337-344, 2013.

WAGENHAUSER, U. M. et al. Chronic nicotine exposure induces murine aortic remodeling and stiffness segmentation-implications for abdominal aortic aneurysm susceptibility. **Front Physiol**, v 9, p. 1459, 2018.

WANG, G. et al. Origin and differentiation of vascular smooth muscle cells. **J Physiol**, v. 593, p. 3013-3030, 2015.

WANG, M. et al. Matrix Metalloproteinases Promote Arterial Remodeling in Aging, Hypertension, and Atherosclerosis. **Hypertension**, v. 65, p. 698-703, 2015.

WANG, Y.; ZEINALI-DAVARANI, S.; ZHANG, Y. Arterial mechanics considering the structural and mechanical contributions of ECM constituents. **J Biomech**, v. 49, p. 2358-2365, 2016.

WEBER, K. T. Aldosterone in congestive heart failure. **N Engl J Med**, v. 345, p. 1689-1697, 2001.

WEN, Z. et al. Angiotensin II receptor blocker reverses heart failure by attenuating local oxidative stress and preserving resident stem cells in rats with myocardial infarction. **Am J Transl Res**, v. 10, p. 2387-2401, 2018.

WITHERS, S. B. et al. cGMP- dependente protein kinase (PKG) mediates the anticontractile capacity of perivascular adipose tissue. **Cardiovascular Research**, v. 101, p. 130-137, 2014.

WOLF, G. et al. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kB through AT1 and AT2 receptors. **Kidney International**, v. 61, p. 1986-1995, 2002.

WONG, M. S. K.; VANHOUTTE, P. M. COX-mediated endothelium-dependent contractions: from the past to recent discoveries. **Acta Pharmacol Sin**, v. 31, p. 1095-1102, 2010.

WONG, S. L. et al. Pivotal role of protein kinase C delta in angiotensin II-induced endothelial cyclooxygenase-2 expression: a link to vascular inflammation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 31, p. 1169–1176, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Acessed, March 21, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acessed, March 21, 2019.

XAVIER, F. E. et al. Aldosterone induces endothelial dysfunction in resistance arteries from normotensive and hypertensive rats by increasing thromboxane A2 and prostacyclin. **Br J Pharmacol**, v. 154, p. 1225-1235, 2008.

XAVIER, F. E. et al. Endothelium modulates vasoconstrictor response to prostaglandin I2 in rat mesenteric resistance arteries: interaction between EP1 and TP receptors. **Br J Pharmacol**, v. 158, p. 1787-1795, 2009.

XAVIER, F. E. et al. Tranilast Increases Vasodilator Response to Acetylcholine in Rat Mesenteric Resistance Arteries through Increased EDHF Participation. **PLoS One**, v. 9, p. 100356, 2014.

XIA, N. et al. Uncoupling of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Perivascular Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Mice. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 36, p. 78-85, 2016.

YAO, H. et al. NADPH Oxidase-Related Pathophysiology in Experimental Models of Stroke. **Int J Mol Sci**, v. 18, p. 2123, 2017.

YE, Y. et al. The role of eNOS, iNOS, and NF-kappaB in upregulation and activation of cyclooxygenase-2 and infarct size reduction by atorvastatin. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 295, p. 343-351, 2008.

ZHANG, F. et al. Simvastatin attenuates angiotensin II-induced inflammation and oxidative stress in human mesangial cells. **MOLECULAR MEDICINE REPORTS**, v. 11, p. 1246-1251, 2015.

ZHANG, Y. et al. Comparative expression. Of renin-angiotensin pathway proteins in visceral versus subcutaneous fat. **Front Physiol**, v. 9, p. 1370, 2018.

ZHAO, Y.; VANHOUTTE, P. M.; LEUNG, S. W. S. Endothelial Nitric Oxide Synthase-Independent Release of Nitric Oxide in the Aorta of the Spontaneously Hypertensive Rat. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 344, p. 15-22, 2013.

ZHAO, Z. G. et al. The mechanisms of Ang II-induced hypertensive vascular remodeling under suppression of CD68 in macrophages. **Eur Ver Med Pharmacol Sci**, v. 22, p. 6093-6099, 2018.

ZOU, H.; RATZ, P. H.; HILL, M. A. Role of myosin phosphorylation and $[Ca^{2+}]_i$ in myogenic reactivity and arteriolar tone. **Am J Physiol**, v. 269, p. 1590-1596, 1995.