

**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto**  
**Departamento de Fisiologia**

**Respostas Hemodinâmicas à Estimulação do Nervo Depressor Aórtico  
em Ratos Normotensos e Espontaneamente Hipertensos (SHR)**

**Alvaro Ribeiro Barale**

**Ribeirão Preto**  
**2006**

**Universidade de São Paulo  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto  
Departamento de Fisiologia**

**Respostas Hemodinâmicas à Estimulação do Nervo Depressor Aórtico  
em Ratos Normotensos e Espontaneamente Hipertensos (SHR)**

**Alvaro Ribeiro Barale**

Tese de Doutorado, apresentada à  
Faculdade de Medicina de Ribeirão  
Preto - USP, como parte das exigências  
para a obtenção do Título de Doutor em  
Ciências Biológicas área de  
concentração Fisiologia.

**Orientador: Prof. Dr. Helio C. Salgado**

**Ribeirão Preto**

**2006**

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

## FICHA CATALOGRÁFICA

Barale, Álvaro Ribeiro

Respostas Hemodinâmicas à Estimulação do Nervo Depressor Aórtico em Ratos Normotensos e Espontaneamente Hipertensos (SHR). Ribeirão Preto, 2006.

109 p. : il. ; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Fisiologia.

Orientador: Salgado, Hélio Cesar.

1. SHR. 2. Nervo Depressor Aórtico. 3. Barorreflexo. 4. Pressão Arterial. 5. Frequência Cardíaca.

Morre lentamente quem não viaja,  
quem não lê,  
quem não ouve música,  
quem não encontra graça em si mesmo.  
Morre lentamente quem destrói seu amor próprio,  
quem não se deixa ajudar.  
Morre lentamente quem se transforma em escravo do hábito  
repetindo todos os dias os mesmos trajetos,  
quem não muda de marca,  
não se arrisca a vestir uma nova cor  
ou não conversa com quem não conhece.  
Morre lentamente  
quem evita uma paixão e seu redemoinho de emoções,  
justamente as que resgatam o brilho dos olhos  
e os corações aos tropeços.  
Morre lentamente  
quem não vira a mesa quando está infeliz com  
o seu trabalho, ou amor,  
quem não arrisca o certo pelo incerto para ir  
atrás de um sonho,  
quem não se permite, pelo menos uma vez na vida,  
fugir dos conselhos sensatos...  
Viva hoje !  
Arrisque hoje !  
Faça hoje !  
Não se deixe morrer lentamente !  
Não se esqueça de ser feliz !

Um texto de Pablo Neruda

Em memória das mães:

**Ruth Souza Ribeiro**, inteligência, obstinação e disciplina;

**Iaiali Ribeiro Barale**, fé, resignação e luz...

Dedico esse trabalho  
aos meus valorosos filhos, **Bruno, Rafael e Rômulo,**  
à minha companheira incondicional **Lúcia Tamae,**  
ao meu dedicado pai **Mário,**  
e aos meus solidários irmãos, **Maurício, Audália e Marta.**

# Agradecimentos

Ao Criador que sempre me abriu os caminhos do aprendizado e do crescimento.

A minha família, núcleo de fraternidade e afeto, esteio gerador de incentivo.

Ao Prof. Dr. Helio C. Salgado que me permitiu novamente trabalhar no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e, com sua competência, me proporcionou orientação de qualidade e enriquecedora.

Ao Prof. Dr. Rubens Fazan Jr pela inestimável contribuição no aprendizado das técnicas de análise envolvidas neste trabalho, e pela agradável convivência diária.

Ao Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva pela despojada contribuição às etapas-chaves deste trabalho.

Ao técnico Mauro de Oliveira e sua família, pela lealdade e pelo acolhimento pessoal de irmão, durante toda a minha permanência em Ribeirão Preto.

Ao técnico Jaci Airton Castania, pela grande e prazerosa amizade, perseverança e qualidade na preparação dos protocolos experimentais.

Aos técnicos Carlos Alberto Aguiar e Leni Bonagamba, pela competência e pelos laços de convivência bem humorada e solidária.

A fiel amiga Jussara, pela grandeza e dignidade do seu caráter e pelo comportamento obstinado com que defende seus ideais.

A amiga Miriam Bassi pelo seu espírito leve, disponível e agregador que fez nascer essa duradoura amizade.

Aos amigos do cursão e das grandes comemorações, Patrícia Fidelis, Lisandra, Valéria, Fernanda e Walter.

Aos amigos, Paulo e Érika, pela delicadeza e confiança; Julianna, Felipe e Géssica, pela gostosa convivência.

Ao amigo Luis Fernando pela humildade, amizade sincera e valorosa contribuição na análise dos resultados deste trabalho.

Ao amigo Valter Joviniano, pela tranqüila presença e colaboração na confecção deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Cardiovascular, Wagner, Daniel Penteado, Leandro, Renata e André, pela amizade e confiança depositada em mim.

Aos funcionários da Secretaria do Departamento de Fisiologia, Elisa, Cláudia, Fernando e Carlos, pela excelente e prestimosa convivência.

Ao funcionário da manutenção de equipamentos eletrônicos, Clóvis, pelo ótimo convívio e competência na solução de problemas.

Aos funcionários do biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Leonardo e Eduardo, pela atenção e respeito com os animais de experimentação.

Aos colegas da Área de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Uberlândia, Galo, Leonilda e Sidiney que favoreceram o meu afastamento integral para a realização deste trabalho.

Ao apoio financeiro fornecido pela CAPES-PICDT que possibilitou a minha e transferência para Ribeirão Preto, capacitação e realização das etapas do trabalho.

A todos aqueles que, pela simples existência e convívio, me fortaleceram contribuindo direta ou indiretamente para a conclusão desta obra.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Registros típicos de pressão arterial, fluxo na aorta abdominal e na artéria mesentérica superior .....	30
<b>Figura 2.</b> Registro típico utilizado para análise de dados.....	33
<b>Figura 3.</b> Traçados típicos de um rato normotenso controle (RNC) e um rato hipertenso espontâneo (SHR) com resposta na resistência do trem posterior.....	36
<b>Figura 4.</b> Traçados típicos de um RNC e um SHR com resposta na resistência mesentérica .....	37
<b>Figura 5.</b> Estimulação do NDA e variações da pressão arterial média em RNC ....	39
<b>Figura 6.</b> Estimulação do NDA e variações da frequência cardíaca em RNC .....	40
<b>Figura 7.</b> Estimulação do NDA e variações da resistência vascular do trem posterior em RNC e SHR .....	42
<b>Figura 8.</b> Estimulação do NDA e variações da resistência vascular mesentérica em RNC e SHR .....	43
<b>Figura 9.</b> Estimulação do NDA e variações da resistência vascular do trem posterior e mesentérica em RNC.....	45
<b>Figura 10.</b> Estimulação do NDA e variações da resistência vascular do trem posterior e mesentérica em SHR.....	46
<b>Figura 11.</b> Estimulação do NDA e variações de pressão arterial média e frequência cardíaca, antes e após o atenolol nos RNC.....	48
<b>Figura 12.</b> Estimulação do NDA e variações de pressão arterial média e frequência cardíaca, antes e após o atenolol nos SHR.....	49
<b>Figura 13.</b> Estimulação do NDA e variações da resistência do trem posterior e resistência mesentérica em RNC, antes e após o atenolol .....	50
<b>Figura 14.</b> Estimulação do NDA e variações da resistência do trem posterior e resistência mesentérica em SHR, antes e após o atenolol.....	51
<b>Figura 15.</b> Latência das respostas de frequência cardíaca, pressão arterial média, resistências vasculares do trem posterior e mesentérica de RNC e SHR ...	53

# SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	3
O modelo de hipertensão espontânea em ratos .....	4
Atividade barorreceptora e hipertensão .....	8
O reflexo barorreceptor nos SHR.....	10
Utilização das técnicas de estimulação elétrica das aferências barorreceptoras.....	12
Estimulação elétrica dos barorreceptores aórticos no rato acordado.....	13
OBJETIVOS.....	19
MATERIAL E MÉTODOS .....	21
Animais .....	22
Preparação cirúrgica .....	22
Medida do fluxo regional com fluxometria Doppler .....	24
Estimulação elétrica do NDA no rato acordado.....	26
Grupos Experimentais.....	27
Protocolo Experimental .....	28
Análise dos registros.....	29
Obtenção dos dados .....	31
Análise estatística .....	32
RESULTADOS .....	34
Parâmetros hemodinâmicos basais .....	35
Efeitos hemodinâmicos da estimulação elétrica do NDA .....	35
Efeito da estimulação elétrica do NDA nas resistências vasculares regionais .....	41
Comparação das respostas de resistência vascular entre os leitros mesentérico e o trem posterior.....	44
Efeito da administração do atenolol nos parâmetros hemodinâmicos basais .....	47

Efeito do atenolol sobre as respostas hemodinâmicas à estimulação do NDA .....	47
Evolução temporal das respostas hemodinâmicas à estimulação do NDA...	52
DISCUSSÃO.....	54
Resposta da PAM à estimulação do NDA.....	55
Resposta da FC à estimulação do NDA.....	57
Resposta da resistência vascular regional à estimulação do NDA .....	60
Efeito do atenolol nas respostas hemodinâmicas à estimulação do NDA.....	63
CONCLUSÕES.....	67
PERSPECTIVAS .....	69
RESUMO .....	73
ABSTRACT.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	79
APÊNDICE .....	91

# **INTRODUÇÃO**

## O modelo de hipertensão espontânea em ratos

Desde o seu desenvolvimento (Okamoto e Aoki, 1963), o modelo de hipertensão espontânea no rato, o SHR, se não é o modelo mais estudado na literatura pertinente, ele certamente está entre os mais estudados. A sua importância tem sido creditada à similaridade da sua fisiopatogenia com a hipertensão essencial (primária) do homem. Trippodo e Frohlic (1981) ao afirmar que o SHR é um excelente modelo da hipertensão essencial do homem, o fazem com as seguintes ressalvas: 1) reconhecimento da improbabilidade de que ambas as formas de hipertensão espontânea (rato e o homem) sejam expressões idênticas de uma doença hipertensiva determinada geneticamente; 2) ambas têm origem poligênica e são influenciadas por fatores ambientais; 3) sendo o controle cardiocirculatório multifatorial, certos mecanismos pressores não se expressam, necessariamente, em ambas as situações; 4) o conceito fisiológico de que o desequilíbrio de um mecanismo regulatório implica na expressão de um outro mecanismo, isto implica que alterações secundárias, por exemplo, adaptativas, devam ocorrer nos dois modelos. Embora com as devidas ressalvas, este modelo tem se revelado um dos mais estudados atualmente, e bastante útil na elucidação de mecanismos fisiopatológicos, quer do próprio modelo em si, quer da hipertensão essencial do homem.

Os SHR começam a desenvolver hipertensão arterial com 5 semanas de vida, já apresentando uma elevação da pressão arterial considerada como hipertensão espontânea entre a 7<sup>a</sup> e a 15<sup>a</sup> semanas, atingindo um platô entre a 20<sup>a</sup> e 28<sup>a</sup> semanas, não havendo influência sexual neste desenvolvimento (Yamori, 1984; Dickout e Lee, 1998). Entretanto, fatores ambientais tais como,

ingestão exagerada de sódio (Louis e cols. 1971), estresse (Yamori e cols. 1969), alterações “sociais” (Hallback, 1975), e alterações do ciclo claro/escuro (Lais e cols. 1974) afetam o desenvolvimento da hipertensão.

A hipertensão do SHR adulto está associada com um aumento da resistência periférica total e um débito cardíaco normal (Hiley e Yates, 1978) ou diminuído (Potts e cols. 1998), embora nos animais mais jovens (< 12 semanas) tivessem sido observados débitos cardíacos normais ou aumentados (Pfeffer e Frohlic, 1973). Com o desenvolvimento da hipertensão arterial o SHR desenvolve uma progressiva hipertrofia cardíaca (Frohlic, 1977; Head, 1994; Matsuoka e cols. 1996; Thomas e cols. 1997). O débito cardíaco permanece nos níveis normais com o progresso da hipertensão até que, nos estágios finais, o débito cardíaco começa a reduzir em função de uma insuficiência cardíaca congestiva (Frohlic, 1977). Com relação à frequência cardíaca (FC), esta se encontra mais elevada do que nos ratos WKY já na 3<sup>a</sup> semana de vida e, se correlaciona, positivamente, com os níveis de pressão atingidos até a 6<sup>a</sup> semana de vida (Dickhout e Lee, 1998). A taquicardia é considerada como resultado de um aumento na frequência intrínseca do marca passo cardíaco. É interessante que a elevação precoce da FC nos SHR é um índice altamente preditivo da ocorrência de hipertensão na população estudada (Dickhout e Lee, 1998).

Quanto ao achado consistente nos SHR de aumento da resistência periférica total (Judy e cols. 1976; Lundin e cols 1984), parece que as pequenas artérias, arteríolas e, possivelmente, os esfíncteres pré-capilares sejam os principais responsáveis pelo aumento da resistência vascular periférica (Trippodo e Frohlic, 1981; Folkow, 1993). Acredita-se que tanto

processos ativos como estruturais, sejam responsáveis pelo aumento da resistência periférica. Por exemplo, alterações da geometria vascular (Folkow e cols. 1975; Folkow, 1993; Head, 1994), alterações da membrana celular da musculatura lisa vascular (Overbeck, 1972) ou diminuição da densidade arteriolar da musculatura esquelética (Hutchins e Darnell, 1974). Foi demonstrado, ainda, um aumento da resistência venosa (Greenberg e Bohr, 1975), possivelmente relacionada ao aumento da atividade simpática (Frohlic e Pfeffer, 1975; Lundin e cols. 1984) e/ou hipertrofia venular (Greenberg e cols. 1978). Estudos recentes (vanGorp e cols. 2000) mostraram que, nos SHR, as alterações das propriedades funcionais precedem o desenvolvimento da hipertensão arterial, e que a redução da distensibilidade e complacência vascular nos animais jovens resulta de uma hipertrofia da camada média ao invés de alterações intrínsecas das propriedades elásticas dos vasos.

A importância dos fatores neurais no desenvolvimento do SHR foi demonstrada por meio da redução da pressão arterial (PA) em resposta à ablação cirúrgica, ou farmacológica, do sistema nervoso autônomo simpático, prevenção do desenvolvimento da hipertensão por imunossimpatectomia, simpatectomia química e outros métodos (Trippodo e Frohlic, 1981). Existe, portanto, uma ampla documentação de uma hiperatividade simpática no modelo SHR (Frohlic e Pfeffer, 1975; Judy e Farrel, 1979; Morrison e Whitehorn, 1982; Lundin e cols. 1984), inclusive na fase pré-hipertensiva (Cabassi e cols. 1988).

Tem sido sugerido que o sistema nervoso simpático exerce maior influência, nos estágios iniciais ou no desencadeamento da hipertensão arterial nos SHR, do que nas fases tardias da hipertensão estável, quando outros

agentes pressores e mecanismos adaptativos, devem contribuir, também, com a manutenção da alta resistência vascular e da pressão arterial (Folkow e cols, 1975; Trippodo e Fröhlic, 1981). Existe um conjunto de evidências dando suporte à hipótese de hiperatividade simpática em SHR, até mesmo nos estágios mais avançados (Iriuchijima, 1973; Judy e cols, 1976; Coote e Sato, 1977; Takeda e Buñag, 1978; Morrison e Witehorn, 1982). A hiperatividade do sistema nervoso simpático no SHR poderia ser explicada, em parte, pelo papel permissivo da adaptação dos barorreceptores (Nosaka e Okamoto, 1970), ou do arco reflexo como um todo (Nosaka e Wang, 1972; Sapru e Wang, 1976; Coote e Sato, 1977), falhando em se opor aos níveis hipertensivos e, cronicamente, mantendo a elevada pressão arterial. Além disso, a depressão dos mecanismos centrais (Head e Adams, 1988) e periféricos (Sapru e Wang, 1976; Andresen e Brown, 1980; Fazan e cols. 1999) poderiam agravar a falta de eficácia do barorreflexo, já adaptado, em se opor à alta atividade simpática no SHR. A propósito da existência de outros mecanismos pressores além da hiperatividade simpática em SHR, o estudo de Touw e cols. (1980), comparou a resposta hipotensora e a queda de resistência vascular regional ao hexametônio em SHR não anestesiados com a dos ratos WKY, não encontrando diferenças percentuais nessas respostas. Estes autores sugeriram que, em SHR jovens e adultos, os elevados níveis basais de pressão arterial e de resistência vascular seriam mantidos por outro(s) mecanismo(s) além do tônus simpático vasoconstrictor neural, embora não elucidados.



## Atividade barorreceptora e hipertensão

Os barorreceptores são arborizações nervosas localizadas entre as camadas adventícia e média de grandes vasos, localizadas predominantemente na aorta e seio carotídeo. Os barorreceptores são sensíveis à deformação da parede dos vasos constituindo-se, em última análise, em mecanorreceptores (Kirchheim, 1976; Brown, 1980). O estiramento dos barorreceptores abre, presumivelmente, canais iônicos levando à despolarização de suas membranas, gerando um potencial de ação (Chapleau cols. 1995). A modulação da atividade dos barorreceptores pode ocorrer por intermédio de mecanismos iônicos intrínsecos às terminações, ou por meio da liberação de fatores neuro-humorais e parácrinos, que atuam diretamente nas terminações (Chapleau e Abboud, 1994). Na maioria das espécies, as aferências barorreceptoras originadas nos seios carotídeos trafegam com o nervo carotídeo (nervo de Hering), o qual se junta com o nervo glossofaríngeo (IX par craniano) para alcançar o sistema nervoso simpático. As aferências barorreceptoras do arco aórtico trafegam com o nervo depressor aórtico (NDA), o qual se junta ao vago (X par craniano) para alcançar o sistema nervoso central (SNC). Até recentemente, os barorreceptores eram classificados, anatomicamente, em dois tipos, mielinizados e não mielinizados (Korner, 1991). Seagard e cols. (1990) descreveram no nervo carotídeo 2 tipos de padrão de descargas dos barorreceptores (I e II), correspondentes, em linhas gerais, às fibras A (mielínicas) e fibras C (não mielínicas). As descargas das fibras do tipo I são definidas por uma curva hiperbólica descontínua, caracterizada por alta freqüência, alta sensibilidade e estreita faixa de

operação. As fibras do tipo II apresentam curvas de descargas contínuas sigmoidais, baixa frequência, baixa sensibilidade e uma larga faixa operacional (Seagard e cols. 1990, 1992).

O fato de que o nervo do seio carotídeo é, anatomicamente, muito curto, e de difícil manipulação para colocação de eletrodos para registro de sua atividade, o nervo depressor aórtico tem sido aquele mais estudado no rato. Ao que se sabe, até o presente momento, o único registro da atividade elétrica do nervo carotídeo em uma preparação *in situ* no rato Wistar, foi feita por Sapru e Krieger (1977), os quais demonstraram a presença de atividade quimiorreceptora neste nervo, e ausência no NDA. O estudo da atividade do nervo carotídeo foi feito pela primeira vez, no SHR, por Nosaka e Wang (1972), por meio de uma preparação isolada do seio carotídeo. Estes autores verificaram um deslocamento (adaptação) da faixa de funcionamento deste nervo para os níveis de hipertensão. O registro da atividade elétrica dos barorreceptores aórticos dos SHR em uma preparação *in situ* foi feito por Nosaka e Okamoto (1970), os quais demonstraram pela primeira vez, nesta linhagem, que os barorreceptores aórticos se encontravam totalmente adaptados aos níveis de hipertensão. Uma característica da adaptação dos barorreceptores aos níveis de hipertensão é o deslocamento de sua faixa de descargas para os níveis de hipertensão, com diminuição do ganho (inclinação) da curva de pressão - atividade neural (Brown, 1980; Krieger e cols. 1982; Chapleau e cols. 1988; Fazan e cols. 1997), contribuindo com as alterações no controle circulatório reflexo durante a hipertensão crônica (Andresen e Yang, 1989). Sabe-se que a função barorreceptora nos SHR se encontra deprimida (Andresen e cols. 1978), tendo como conseqüência uma instabilidade

circulatória, a qual tende a aumentar a mortalidade e morbidade cardiocirculatória (Ichikawa e cols. 1994). Até hoje há controvérsias na literatura quanto ao(s) mecanismo(s) de alteração da atividade dos barorreceptores nos SHR. Há quem acredite que esta alteração deva ser atribuída a fatores neurais (Andresen e Yang, 1989), como há quem as atribua a fatores mecânicos vasculares, como por exemplo, alteração da distensibilidade do vaso. Entretanto, Yates e Chen (1980) não observaram diferenças morfológicas entre as terminações do NDA de SHR e WKY.

### **O reflexo barorreceptor nos SHR**

A ativação dos barorreceptores provoca inibição das descargas simpáticas, aumento de atividade parassimpática resultando na redução da PA e da FC (Abboud e cols. 1976; Kirchheim, 1976; Krieger e cols. 1982). Em função disso, os barorreceptores exercem importante regulação reflexa da FC, débito cardíaco, contratilidade do miocárdio, vasomotricidade e, conseqüentemente, distribuição regional do fluxo sangüíneo. A principal função do reflexo barorreceptor é manter a PA estável, dentro de uma faixa estreita, em diferentes situações comportamentais como exercício físico, mudança postural, sono, etc. (Krieger e cols. 1982; Chapleau e cols. 1988). A hipertensão arterial pode afetar a aferência, a eferência, bem como as conexões centrais do reflexo barorreceptor. Adaptações estruturais cardiocirculatórias, devido ao enrijecimento dos vasos, são consideradas como responsáveis pelas alterações das aferências barorreceptoras, bem como das eferências do barorreflexo (Zanchetti e Mancia, 1984). Entretanto, em

hipertensos humanos e experimentais, o controle reflexo da FC tem sua sensibilidade reduzida (Widdop e cols. 1990; Head, 1994) devido, primariamente, à atenuação do componente reflexo vagal (parassimpático) ao invés de alterações simpáticas (Head e Adams, 1988; Minami e Head, 1993). Além disso, há evidências de que o desenvolvimento do déficit vagal nos SHR, coincide com o início da hipertrofia cardíaca, e não com o início da hipertrofia vascular (Head, 1994). Um outro grupo de pesquisadores (Han e cols. 1998) demonstrou que os SHR são capazes de manter uma pressão arterial estável decorrente da integridade do componente vascular do barorreflexo, enquanto que o componente cardíaco encontra-se atenuado.

Um outro aspecto interessante da regulação cardiovascular do SHR está relacionado ao controle regional da resistência vascular por meio dos barorreceptores arteriais. Tem sido descrito nos SHR acordados, e no estado de repouso, um tônus vasoconstrictor dos leitos carotídeo, renal e mesentérico superior, igual ao dos ratos normotensos, mas a resistência vascular do trem posterior está alterada (Iriuchijima, 1986). Além do mais, é bem aceito que a atividade vasoconstrictora simpática tônica é anormalmente alta nos SHR acordados (Coote e Sato, 1977; Iriuchijima, 1986, 2000). Em nosso laboratório a estimulação elétrica do NDA, em ratos normotensos não anestesiados, produziu vasodilatação no trem posterior e não alterou a resistência vascular mesentérica (De Paula e cols. 1999), dando suporte ao papel diferencial exercido pelos barorreceptores aórticos no controle do fluxo regional desses animais (Machado e cols, 1994). Este conceito já havia sido demonstrado por Mancia e cols (1976), em cães normotensos anestesiados, tendo sido verificado que os barorreceptores carotídeos exercem um maior controle da

resistência vascular no trem posterior quando comparado com a resistência vascular renal. Tochihara (1996) demonstrou, por meio do registro da atividade do nervo cardíaco inferior, renal e adrenal, em ratos Wistar normotensos anestesiados, que as respostas reflexas simpáticas para o coração foram qualitativa e quantitativamente diferentes daquelas direcionadas para os rins e adrenais, indicando, também, um controle regional simpático diferenciado na regulação das funções cardiovasculares.

### **Utilização das técnicas de estimulação elétrica das aferências barorreceptoras**

No início dos anos 60, motivados pela inexistência de terapia anti-hipertensiva, a estimulação elétrica dos barorreceptores carotídeos foi usada em cães acordados, e em pacientes, como uma ferramenta para abaixamento da PA (Griffith e Schwartz, 1964; Schwartz e Griffith, 1967) e alívio da angina de peito (Braunwald e cols. 1967). Posteriormente, essa técnica foi abandonada como opção terapêutica, principalmente devido à complexidade de sua abordagem metodológica, bem como aos avanços na terapia medicamentosa. Entretanto, a estimulação elétrica dos barorreceptores arteriais de animais de experimentação (cães, coelhos e ratos) continuou sendo uma ferramenta muito útil para a investigação da regulação reflexa da pressão arterial e frequência cardíaca, porém sob anestesia. Recentemente, tem ressurgido o interesse no uso da técnica de estimulação elétrica das aferências dos barorreceptores, visando o abaixamento da PA em cães acordados (Lohmeier e cols. 2004, 2005), e, também em pacientes com hipertensão resistente ao tratamento farmacológico (Sica e cols. 2005). Enquanto a estimulação crônica (14 dias) do

barorreflexo carotídeo produziu redução substancial e duradoura da pressão arterial nos cães normotensos acordados, por supressão da atividade simpática (Lohmeier e cols. 2004), a resposta hipotensora se mostrou nitidamente diminuída, porém não totalmente eliminada, nos cães com hipertensão por infusão crônica de Angiotensina II (Lohmeier e cols. 2005).

### **Estimulação elétrica dos barorreceptores aórticos no rato acordado**

Krieger e Marseillan (1963) mapearam o curso das fibras do NDA na região cervical de ratos Wistar normotensos anestesiados, por meio de técnicas de eletroneuronografia e estimulação elétrica, e verificaram que os seguintes parâmetros: voltagem fixa de 2 V, freqüência entre 80-150 Hz e duração de 1.2 ms, induziam respostas hipotensoras significativas. Mais recentemente, Fan e Andresen (1998) estudaram, por meio da estimulação elétrica do nervo depressor aórtico de ratos normotensos anestesiados, a integração reflexa de fibras mielinizadas e não mielinizadas (tipo C) dependentes da freqüência de estimulação. Estes autores verificaram que, embora as repostas barorreflexas à estimulação elétrica com baixas freqüências fossem inteiramente dependentes de fibras não mielinizadas, mesmo freqüências muito baixas provocavam respostas hipotensoras acentuadas. Por outro lado, as fibras mielinizadas requeriam freqüências muito mais elevadas para produzirem respostas similares às não mielinizadas. Em síntese, estes autores (Fan e Andresen, 1998) concluíram que os diferentes tipos de fibras evocavam respostas reflexas distintas, sugerindo uma diferenciação nos mecanismos de processamento da informação sensorial.

Com relação às respostas hipotensoras à estimulação elétrica do NDA em SHR e WKY anestesiados, Gonzalez e cols. (1983) verificaram que os SHR apresentaram respostas hipotensoras, em valores relativos, mais atenuadas que os WKY. Mais recentemente, Ohta e Talman (1995), também utilizando a estimulação elétrica do NDA de SHR e WKY, sob anestesia, confirmaram os resultados de Gonzalez e cols. (1983), e sugeriram que há alterações centrais e periféricas dos reflexos baro e quimiorreceptores, além das alterações das terminações neurais descritas na literatura. Esta última afirmação está em desacordo com as observações de Yates e Chen (1980), os quais não observaram diferenças morfológicas entre as terminações do NDA de SHR e WKY. Apesar de que têm sido exaustivamente estudados os efeitos dos anestésicos sobre a função barorreceptora, especialmente no rato, os resultados apresentados na literatura são muitas vezes conflitantes, devido às diferenças metodológicas e, também, ao efeito intrínseco do anestésico (Maggi e Meli, 1986; Barringer e Buñag, 1990). McKeown e Shoukas (1998) desenvolveram uma técnica para isolar o seio carotídeo a qual permite trabalhar com os ratos acordados. Por meio desta técnica eles verificaram que estímulos não-pulsáteis no seio carotídeo produziram alterações significativas da pressão arterial, frequência cardíaca e resistência periférica total em ambas as linhagens, ou seja, SHR e WKY. No entanto, houve uma diferença significativa nas respostas do débito cardíaco dos SHR, enquanto que nos WKY o mesmo não foi afetado pela estimulação dos barorreceptores carotídeos. Recentemente, foi desenvolvida a técnica para estimular o nervo depressor aórtico (NDA) em ratos acordados e com livre movimentação (De Paula e cols. 1999; Machado e cols. 2000). Utilizando esta técnica, foi

demonstrado que a estimulação elétrica do NDA, variando a intensidade (voltagem) do estímulo, produziu queda de PA, bradicardia, e vasodilatação no trem posterior, sem alteração na resistência vascular mesentérica, em ratos controles normotensos (RNC) acordados (De Paula e cols. 1999). Além disso, este método foi utilizado em combinação com microinjeções no núcleo do trato solitário (NTS) de ratos acordados, para demonstrar a contribuição dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) e não-NMDA na mediação de componentes simpáticos e parassimpáticos do controle barorreflexo da PA (Machado e cols. 2000).

Nos SHR estão consistentemente prejudicadas a sensibilidade barorreceptora aferente (Sapru e Wang, 1976; Andresen e cols. 1978; Andresen e Yang, 1989; Fazan e cols. 1999), e o controle barorreflexo da FC (Head e Adams, 1988; Minami e Head, 1993). Além disso, ainda há controvérsias quanto ao controle barorreflexo da atividade neural simpática no SHR, o qual tem sido considerado atenuado (Di Bonna e cols. 1997), preservado (Lundin e cols. 1984; Harada e cols. 1992) ou mesmo exacerbados (Thoren, 1987). A inconsistência destas observações reflete, em parte, o controle diferencial barorreflexo da atividade simpática para as diferentes regiões, e o uso de anestesia em muitos desses estudos. Na maioria destes, as respostas barorreflexas da PA foram mensuradas com o uso de drogas vasoativas, as quais, embora tenham permitido avaliações da atividade simpática neural e cardíaca, não permitiram acessar as variações reflexas da resistência vascular regional. Em função desses estudos existem inúmeras evidências indicando adaptação completa e marcada atenuação do controle barorreflexo da FC na hipertensão experimental (Head e Burke, 2001) e, como



também, em humanos (Grassi e cols. 1998). No entanto, não está muito claro se existe adaptação completa da atividade simpática para a vasculatura periférica. Portanto, a atenuação do controle barorreflexo da FC não pode ser vista como uma evidência de atenuação generalizada do controle barorreflexo da resistência vascular (Guo e cols. 1982). Sabe-se que em coelhos com hipertensão renal (1rim-1clipe), enquanto o controle barorreflexo da FC se apresentava atenuado, o controle barorreflexo da atividade simpática do nervo lombar e da resistência vascular do trem posterior estava preservado (Guo e cols. 1983). Portanto, entende-se que estudos complementares são necessários, que permitam elucidar o papel dos barorreceptores no controle reflexo da atividade simpática e parassimpática na hipertensão, tanto para o coração como para os vasos, e que sejam realizados em animais acordados, livres da ação indesejável de anestésicos, e sem o uso de substâncias vasoativas.

O objetivo do presente estudo foi, primeiramente, comparar a magnitude das respostas hemodinâmicas à estimulação elétrica do NDA em RNC e SHR. Em função disso, a utilização da técnica desenvolvida em nosso laboratório para a estimulação elétrica do NDA em ratos acordados (De Paula e cols. 1999) permitiu não somente a avaliação da queda de FC, como também a redução da PA e resistência vascular regional. Além disso, foi sugerida a hipótese de que a ativação elétrica das aferências dos barorreceptores poderia, eficazmente, reduzir a FC, PA e resistência vascular regional nos SHR acordados, pela possibilidade de contornar a bem conhecida deficiência de transdução mecano-sensorial barorreceptora dos SHR (Sapru e Wang, 1976; Andresen e cols. 1978; Andresen e Yang, 1989; Fazan e cols. 1999),

produzindo redução na elevada atividade simpática existente neste modelo de hipertensão (Iriuchijima, 1973, 1986; Coote e Sato, 1977; Morrison e Whitehorn, 1982), tanto para o coração, quanto para os vasos. É sabido que bradicardia barorreflexa em RNC acordados é mediada, principalmente, pelo sistema nervoso parassimpático (Stornetta e cols. 1987; Head e Adams, 1988), e que a atenuação do controle barorreflexo de FC nos SHR é atribuída ao parassimpático (Head e Adams, 1988; Minami e Head, 1993). Assim, no presente estudo foram registradas as respostas à estimulação elétrica do NDA antes e após o bloqueio dos receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos com o atenolol, a fim de se avaliar as participações da ativação parassimpática e inibição simpática nas quedas de PA e FC.

As respostas reflexas à estimulação das aferências barorreceptoras têm sido estudadas em várias espécies, quase sempre sob anestesia, devido às dificuldades de implementação da técnica em animais acordados. Ao que se sabe, todos os estudos prévios que examinaram as respostas à estimulação do NDA em SHR o fizeram sob anestesia (Gonzalez e cols. 1983; Ohta e Talman, 1995; Yin e Sved. 1996 Hayward e cols. 2002), o que pode ter influenciado, profundamente, o tônus basal simpático e parassimpático, a resistência vascular periférica e a mediação central do barorreflexo (Yin e Sved. 1996).

Recentemente, está ressurgindo o interesse na estimulação elétrica das aferências dos barorreceptores como uma maneira de reduzir a PA em cães acordados (Lohmeier e cols. 2004) e, também em pacientes hipertensos (Sica e cols. 2005). Em cães com hipertensão arterial induzida pela infusão crônica de Angiotensina II foi demonstrada redução da PA e supressão da atividade simpática renal, embora a magnitude da resposta hipotensora tenha diminuído,

no decorrer do período de 14 dias de estimulação (Lohmeier e cols. 2005). No presente estudo a técnica de estimulação do NDA em ratos acordados e com livre movimentação (De Paula e cols. 1999; Machado 2000), que permitiu demonstrar uma efetiva redução de PA, FC e resistência vascular regional, foi empregada a fim de se investigar as respostas hemodinâmicas dos SHR e compará-las com as dos RNC, e, também, avaliar o papel da retirada do simpático, por meio do atenolol, nas respostas à estimulação do NDA nos animais acordados.

## **OBJETIVOS**

- Avaliar as respostas hemodinâmicas em relação aos níveis basais, de PA, FC e resistência vascular dos leitos mesentérico e trem posterior em SHR e RNC acordados, submetidos a uma série com várias frequências de estimulações elétricas do NDA;
- Comparar as respostas hemodinâmicas dos SHR com as dos RNC;
- Avaliar o papel o papel dos receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos nessas respostas dos RNC e SHR, por meio da utilização do atenolol;
- Quantificar a latência de aparecimento das respostas hemodinâmicas e compará-las entre os dois grupos, RNC e SHR.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

## **Animais**

Foram utilizados ratos normotensos controles (RNC, n=18) da linhagem Wistar e hipertensos espontâneos (SHR, n=18), pesando 270-340g, com 18-20 semanas de idade. Os RNC foram provenientes do Biotério Central do Campus da USP de Ribeirão Preto, e os SHR da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro (Uberaba, MG). Antes da preparação cirúrgica, os ratos foram mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina, acondicionados em caixas com cinco animais cada, em ciclo claro-escuro (12h) e temperatura controlada (24°C), com livre acesso a água e ração (Nuvilab CR-1, Nuvital, Colombo PR, Brasil). Todos os procedimentos com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

## **Preparação cirúrgica**

Os animais foram submetidos a jejum alimentar prévio de 8-12h, dispondo, apenas, de água nos bebedouros. O efeito da anestesia pelo tiopental sódico (40 mg/kg, i.p. Sigma, St. Louis, MO) foi confirmado pela ausência de reflexo ao estímulo mecânico na cauda. Em seguida, os animais foram posicionados em decúbito dorsal sobre a mesa cirúrgica, a artéria e veia femorais foram canuladas com um tubo de polietileno (PE-10 soldado a um PE-50, Intramedic, Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA), para registro da pressão arterial e infusão endovenosa de substâncias, respectivamente. Por meio de cervicotomia mediana anterior o NDA esquerdo

foi localizado, cuidadosamente dissecado, e isolado, preservando ao máximo a sua irrigação sangüínea. Para o teste de atividade espontânea o NDA foi posicionado sobre um par de eletrodos de aço, e o sinal da atividade nervosa amplificado 500 a 1.000 vezes, por meio de um pré-amplificador de alta impedância (modelo 113, Princeton Applied Research, IR, UK). A seguir, a descarga neural foi passada por um filtro ativo passa-banda (100 Hz a 3 kHz), visualizada em um osciloscópio (modelo 5113, Tektronics, Inc.), sua amplificação sonora monitorizada por um alto-falante. A confirmação da identificação cirúrgica do NDA era feita pelo seu padrão típico de descargas, sincrônico com o pulso de pressão arterial. Somente os ratos que apresentaram uma atividade eletroneurográfica da atividade espontânea de muito boa qualidade (relação sinal/ruído elevada) foram implantados com um par de eletrodos de platina; em seguida, o NDA, foi fixado com silicone de moldagem (Super-Dent, Carlisle Laboratories, Inc, Rockville Center, USA). Após a fixação dos eletrodos no nervo, e um período de 30 minutos para completa polimerização do silicone de moldagem, a atividade do NDA foi novamente registrada para se verificar a preservação de sua integridade. Confirmada a integridade do NDA, as extremidades dos fios do eletrodo foram exteriorizadas na região interescapular dos ratos e soldadas a pequenas tomadas para, posteriormente, serem conectadas a um estimulador elétrico. A incisão cirúrgica cervical foi suturada, com pontos separados, de fios de algodão.

Sob a mesma anestesia, e por meio de laparotomia mediana, as vísceras foram rebatidas e cuidadosamente irrigadas com salina, para o implante de sondas ultrassônicas Doppler (Iowa Doppler Products, Iowa City,



IA) ao redor da artéria mesentérica superior, ou da aorta abdominal inferior, que permitiram medidas das variações de velocidade do fluxo sanguíneo mesentérico, ou do trem posterior, em resposta à estimulação elétrica do NDA. Em seguida, foi feito o teste de funcionamento da sonda Doppler para se obter um sinal com ausência de ruídos, procurando-se a melhor posição para fixação e o adequado ajuste da sonda, evitando-se acotovelamentos ou estenoses do vaso. O preenchimento entre a sonda e o vaso foi feito com gel de ultrassonografia (Med Systems, Flexor, SP), para melhoria da condutividade do sinal. Os fios da sonda Doppler também foram exteriorizados e fixados no dorso do animal para serem conectados ao fluxômetro Doppler (Pulsed Doppler Flowmeter 545C-4, Bioengineering, The University of Iowa). Após a sutura da incisão cirúrgica, o animal foi deixado em caixa individual, com água e ração, para recuperação da anestesia até o dia seguinte, para a realização dos experimentos.

### **Medida do fluxo regional com fluxometria Doppler**

A medida da velocidade do fluxo sanguíneo pode ser feita baseada no efeito Doppler, ou seja, “quando um feixe de ultra-som é dirigido para uma corrente sanguínea, os ecos que retornam, por se chocarem com as partículas da corrente, apresentam uma alteração de frequência (kHz) proporcional à velocidade da corrente”. O som refletido pelas partículas sanguíneas em movimento retorna numa frequência levemente diferente da frequência do sinal transmitido. Esta diferença é dada pela equação Doppler, onde a variação de frequência ( $\Delta f$ ) é linearmente relacionada com a velocidade do fluxo:

$$f = 2 f_0 \frac{V \cos \theta}{c}$$

$\Delta f$ : diferença de frequência (transmitida e refletida);

$f_0$ : frequência transmitida;

$V$ : velocidade do fluido;

$c$ : velocidade do som;

$\theta$ : ângulo entre o cristal (eixo acústico) e vaso (fluxo).

Portanto, o deslocamento Doppler (*Doppler shift*) é proporcional ao fluxo. Embora o fluxo sanguíneo absoluto, e a medida real da resistência não possam ser determinados por essa técnica, a resistência relativa pode ser calculada por meio da seguinte fórmula:

$$R \text{ ou resistência relativa (mmHg/KHz)} = \frac{\text{Pressão Arterial Média (mmHg)}}{\text{Alteração Doppler (KHz)}}$$

O valor calculado é proporcional à resistência absoluta no leito vascular em questão. Além disso, variações na resistência podem ser calculadas como percentagem em relação ao controle, pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Resistência} = \frac{R \text{ no pico da resposta} - R \text{ na linha de base}}{R \text{ na linha de base}} \times 100$$

A expressão de variações na resistência como percentagem do controle, permite fazer comparações entre grupos. Uma das vantagens da fluxometria baseada no efeito Doppler pulsátil é a de permitir a implantação crônica de várias sondas em diferentes leitos vasculares de animais de pequeno porte. Pormenores da técnica de fluxometria Doppler, incluindo a construção de

sondas ultrassônicas, fidedignidade do método para estimar a velocidade do fluxo, e cálculo quantitativo de variações percentuais na resistência vascular foram descritos por Haywood e cols. (1981).

### **Estimulação elétrica do NDA no rato acordado**

No dia seguinte à cirurgia a cânula da artéria femoral era conectada a um transdutor de pressão (Statham, P23Gb, Hato Hey, PR); os fios da sonda Doppler foram conectados ao fluxômetro Doppler (Pulsed Doppler Flowmeter 545C-4, Bioengineering, The University of Iowa), e os eletrodos do NDA foram conectados ao estimulador elétrico (EMG/EP, N200/A, System BioMed, Hungary). Os sinais da pressão arterial (PA) e de variação de velocidade do fluxo, mesentérica ou trem posterior, foram levados a um computador IBM/PC equipado com uma placa analógico-digital (CAD 12/36 Lynx Tecnologia Eletrônica, São Paulo, SP, Brazil), e coletados continuamente numa frequência de amostragem de 500 Hz, por meio do programa Aqdados (Lynx Tecnologia Eletrônica, SP), e arquivados para posterior análise. Após a conexão aos equipamentos era sempre realizada a calibração (1 kHz = 0.6 V) do sistema de aquisição no fluxômetro, o qual era equipado com auto-falante, para se obter sinais ultrassônicos com ausência de ruídos. Em seguida, foi feito um teste de resposta a um estímulo de 5 s aplicado no NDA (1 mA, 2 ms, 10 Hz), e somente os animais que responderam nitidamente, com queda da PA, foram aproveitados nos experimentos. Alguns animais com sonda ultrassônica Doppler implantada, cujo sinal tornou-se ruidoso e inadequado para análise do

fluxo, porém, apresentando nítida resposta hipotensora e bradicárdica, foram aproveitados no estudo hemodinâmico (respostas de PA e FC).

## **Grupos Experimentais**

### **Ratos Normotensos Controles (RNC)**

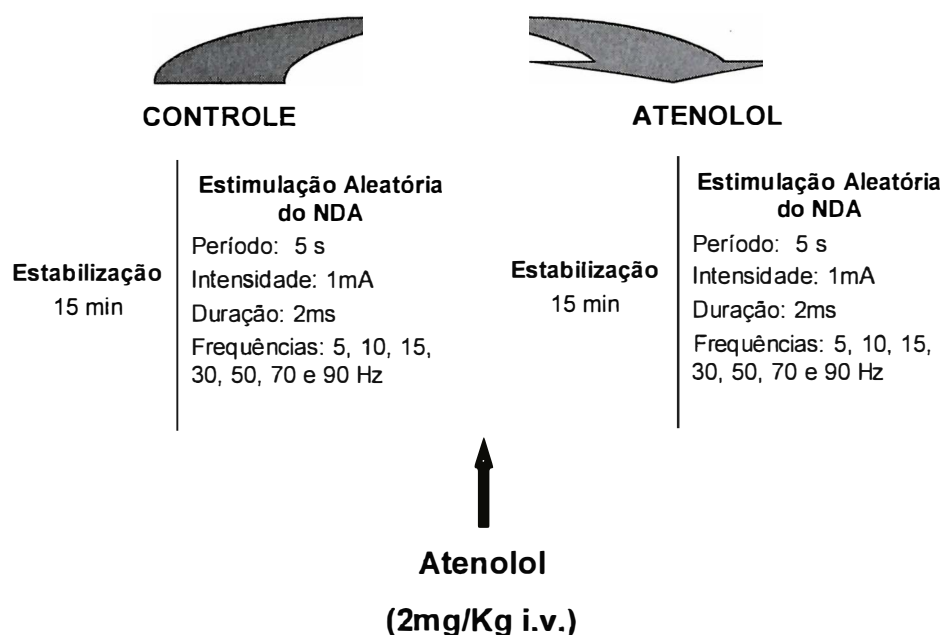
- I. Ratos implantados com sonda Doppler na aorta abdominal inferior (n=7), para medida do fluxo e avaliação da resistência do trem posterior (RTP)
- II. Ratos implantados com sonda Doppler na artéria mesentérica superior (n=7), para medida do fluxo e avaliação da resistência mesentérica (RM).

### **Ratos Hipertensos Espontâneos (SHR)**

- III. Ratos implantados com sonda Doppler na aorta abdominal inferior (n=7), para medida do fluxo e avaliação da RTP.
- IV. Ratos implantados com sonda Doppler na artéria mesentérica superior (n=7), para medida do fluxo e avaliação da RM.

## Protocolo Experimental

O protocolo experimental (diagrama abaixo) consistiu de uma série de estimulações elétricas do NDA durante 5 s, com pulsos intensidade de 1mA, 2ms de duração e frequências de 5, 10, 15, 30, 50, 70 e 90 Hz aplicadas aleatoriamente, com intervalos de 5 minutos para recuperação entre cada estímulo. Os parâmetros de estimulação utilizados no presente estudo são comumente aplicados para estimulação de nervos autonômicos (nervo vago, nervo laríngeo e nervos esplâncnicos), em várias espécies de animais de experimentação e até mesmo em humanos. Ao final da série de estimulações, foi feita a administração do atenolol (2 mg/kg i.v., Sigma, St. Louis, MO), e os animais foram submetidos à uma nova série com os mesmos parâmetros da série anterior. O atenolol utilizado foi para avaliar a contribuição do parassimpático cardíaco nas respostas barorreflexas produzidas pela estimulação elétrica do NDA.



## **Análise dos registros**

Observam-se na figura 1 os registros típicos de PA e fluxo regional pulsáteis, obtidos durante os experimentos de estimulação do NDA com 30 Hz, em animais do grupo RNC e SHR, com sondas Doppler implantadas na aorta abdominal ou artéria mesentérica superior.

Os arquivos de PA e fluxo regional foram processados por meio do programa computacional Advanced CODAS/Windaq (Dataq Instruments Inc.), para a detecção dos pontos máximos (picos) e mínimos (vales) nos sinais periódicos da PA e do fluxo. Neste programa, a detecção automática foi sobreposta ao registro original de valores sistólicos e diastólicos, verificada visualmente, e eventuais erros dessa detecção foram corrigidos manualmente. O intervalo de tempo entre sucessivas diástoles (intervalo de pulso) permitiu o cálculo da FC. Assim, foram gerados arquivos dos registros de PA e fluxo com suas freqüências, e respectivos valores sistólicos, diastólicos e médios (batimento-a-batimento). Em seguida, os arquivos de PA, FC e fluxo foram agrupados para a leitura e análise, a qual foi feita por meio do programa AcqKnowledge® v.3.5.7 (BIOPAC Systems, Inc). A confecção das figuras para apresentação dos dados foi feita por meio do programa SigmaPlot 2002 para Windows Versão 8.0.(SPSS, Inc.).

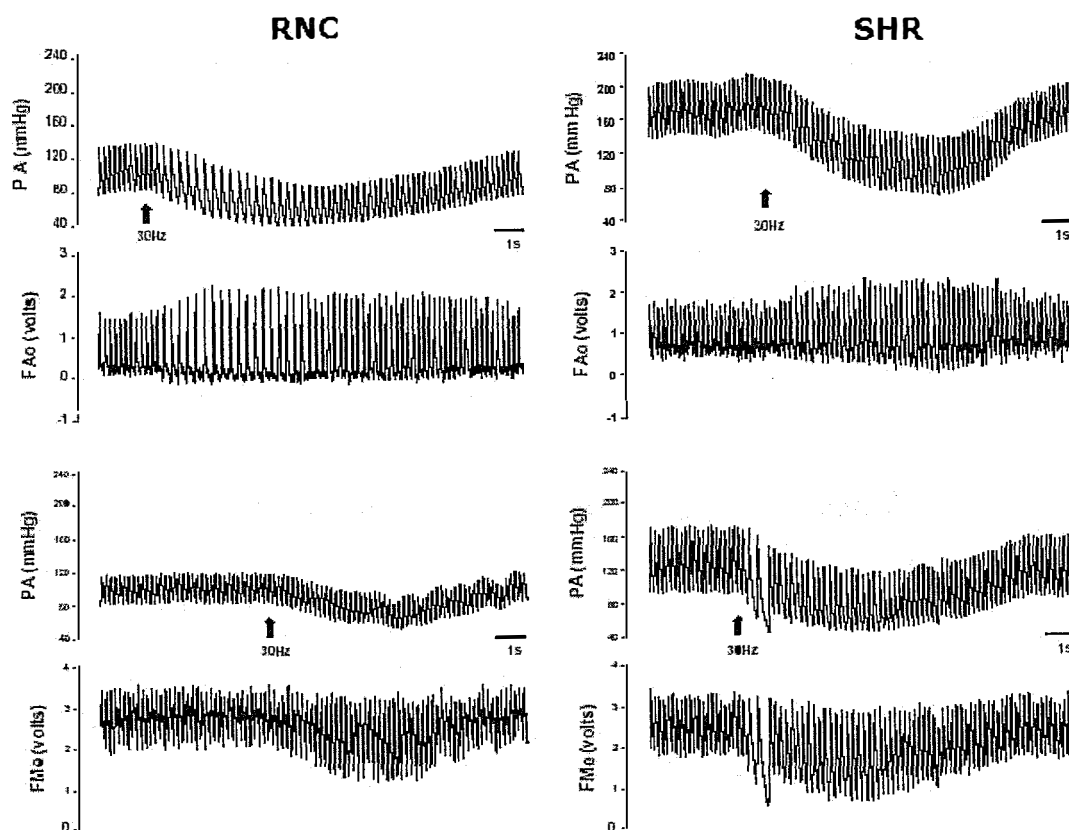


Figura 1. Registros típicos de pressão arterial (PA), fluxo na aorta abdominal (FAo) e na artéria mesentérica superior (FMe), obtidos durante protocolo de estimulação do NDA com 30 Hz, em ratos normotensos controles (RNC, painel à esquerda) e ratos hipertensos espontâneos (SHR, painel à direita).

## Obtenção dos dados

Observa-se na figura 2 o traçado típico utilizado para a leitura, correspondente a um animal do grupo RNC com sonda Doppler implantada na aorta abdominal, e as respostas hemodinâmicas durante à estimulação elétrica do NDA. As variações máximas ( $\Delta_{m\acute{a}x}$ ) de pressão arterial média (PAM) e FC, em relação aos níveis controles, foram calculadas em valores absolutos. As resistências vasculares (RV) no período controle, e durante a resposta máxima, foram calculadas por meio da equação:

$$RV \text{ (mmHg/V)} = PAM \text{ (mmHg)} / \text{Fluxo M\acute{e}dio (V)}$$

Em seguida, as variações máximas ( $\Delta_{m\acute{a}x}$ ) de RM ou RTP foram normalizadas em relação ao controle (%).

Pormenores da técnica de fluxometria Doppler, incluindo a construção de sondas ultrassônicas, fidedignidade do método para estimar a velocidade do fluxo, e cálculo quantitativo de variações percentuais na resistência vascular foram descritos por Haywood e cols. (1981). A expressão de variações na RV, como percentagem do controle, permite fazer comparações entre grupos, apesar da diferença na linha de base da resistência.



## **Análise estatística**

Os resultados são apresentados como média  $\pm$  EPM. As respostas de PA, FC, RTP e RM à estimulação do NDA em SHR e RNC foram avaliadas por meio de análise de variância de duas vias (ANOVA 2-way), para medidas repetidas (grupo: SHR vs RNC; medidas repetidas: freqüência de estimulação). Dentro de cada grupo a magnitude das variações da RTP vs RM, foram comparadas utilizando ANOVA 2-way separada. Os efeitos do atenolol sobre as respostas freqüência-dependente, em cada grupo, foram avaliados, também, por meio de ANOVA 2-way para medidas repetidas. Quando a ANOVA indicou significância, o pós-teste de Tukey para múltiplas comparações foi utilizado para avaliar as diferenças entre as médias. Os valores basais de PAM, FC, e resistências vasculares, antes e após atenolol, foram comparados por meio de teste-t pareado. As diferenças dos valores basais de RNC vs SHR foram comparadas por meio do teste-t não pareado. As análises estatísticas foram feitas por meio do programa computacional SigmaStat para Windows versão 2.0 (Jandel Corporation, San Raphael, CA, USA). As diferenças foram consideradas significantes quando  $P < 0.05$ .

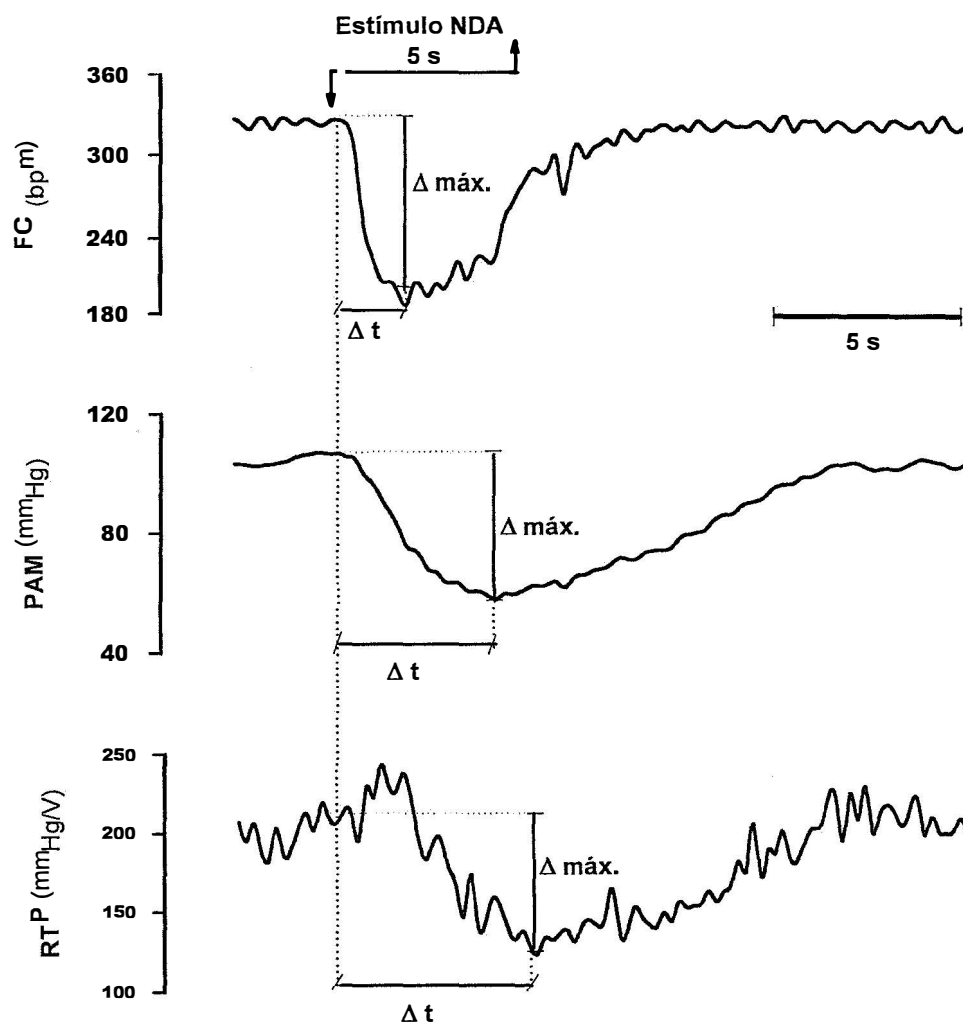


Figura 2. Registro típico de um rato normotenso controle (RNC) implantado com sonda Doppler na aorta abdominal utilizado para análise de dados. Observa-se o intervalo de tempo ( $\Delta t$ ) para atingir as respostas máximas ( $\Delta \text{máx.}$ ) de frequência cardíaca (FC), pressão arterial média (PAM) e resistência do trem posterior (RTP), em resposta à uma estimulação elétrica do NDA com frequência de 30 Hz.

## **RESULTADOS**

Os resultados serão apresentados como média $\pm$ EPM sob a forma de figuras, e os dados individuais sob a forma de tabela no apêndice.

### **Parâmetros hemodinâmicos basais**

No conjunto foram estudados 18 SHR e 18 RNC. Os valores basais de PAM e FC dos SHR foram, respectivamente, 150 $\pm$ 5 mmHg e 393 $\pm$ 9 bpm, e, para os RNC, 103 $\pm$ 2 mmHg e 360 $\pm$ 5 bpm. Estes resultados indicam que os SHR apresentaram tanto a PAM como a FC significativamente maiores do os RNC.

### **Efeitos hemodinâmicos da estimulação elétrica do NDA**

Estão ilustrados na figura 3 os registros de PAM, FC e RTP, em um rato RNC e um SHR, implantados com sonda Doppler na aorta abdominal inferior. A estimulação elétrica do NDA durante 5s, induziu quedas apreciáveis de PA, FC e RTP, em ambos os animais.

Estão ilustrados na figura 4 os registros de PAM, FC e RM, em um rato RNC e um SHR, implantados com sonda Doppler na artéria mesentérica superior. A estimulação elétrica do NDA durante 5s, induziu quedas, também, apreciáveis de PA, FC e RM, em ambos os animais.

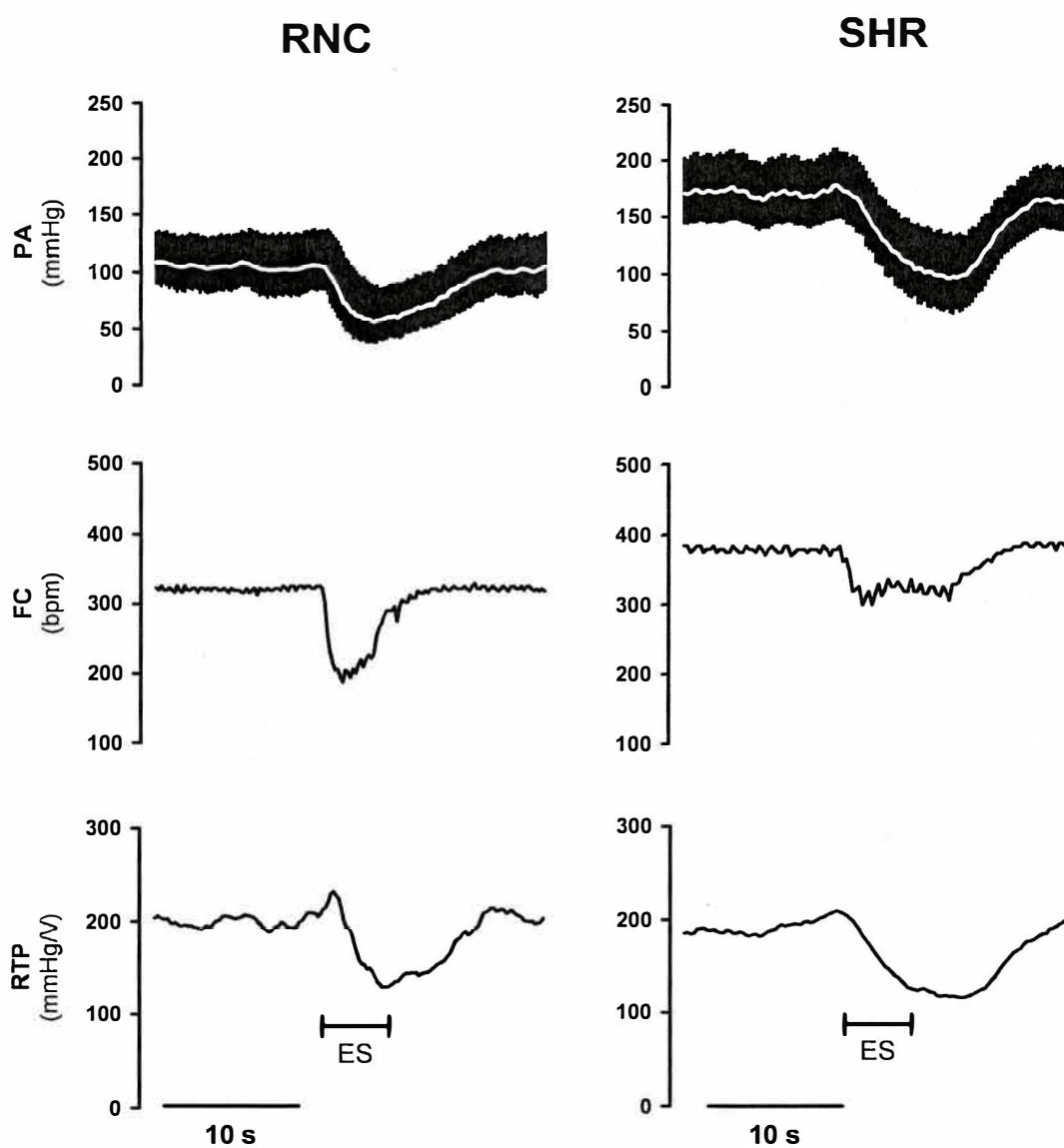
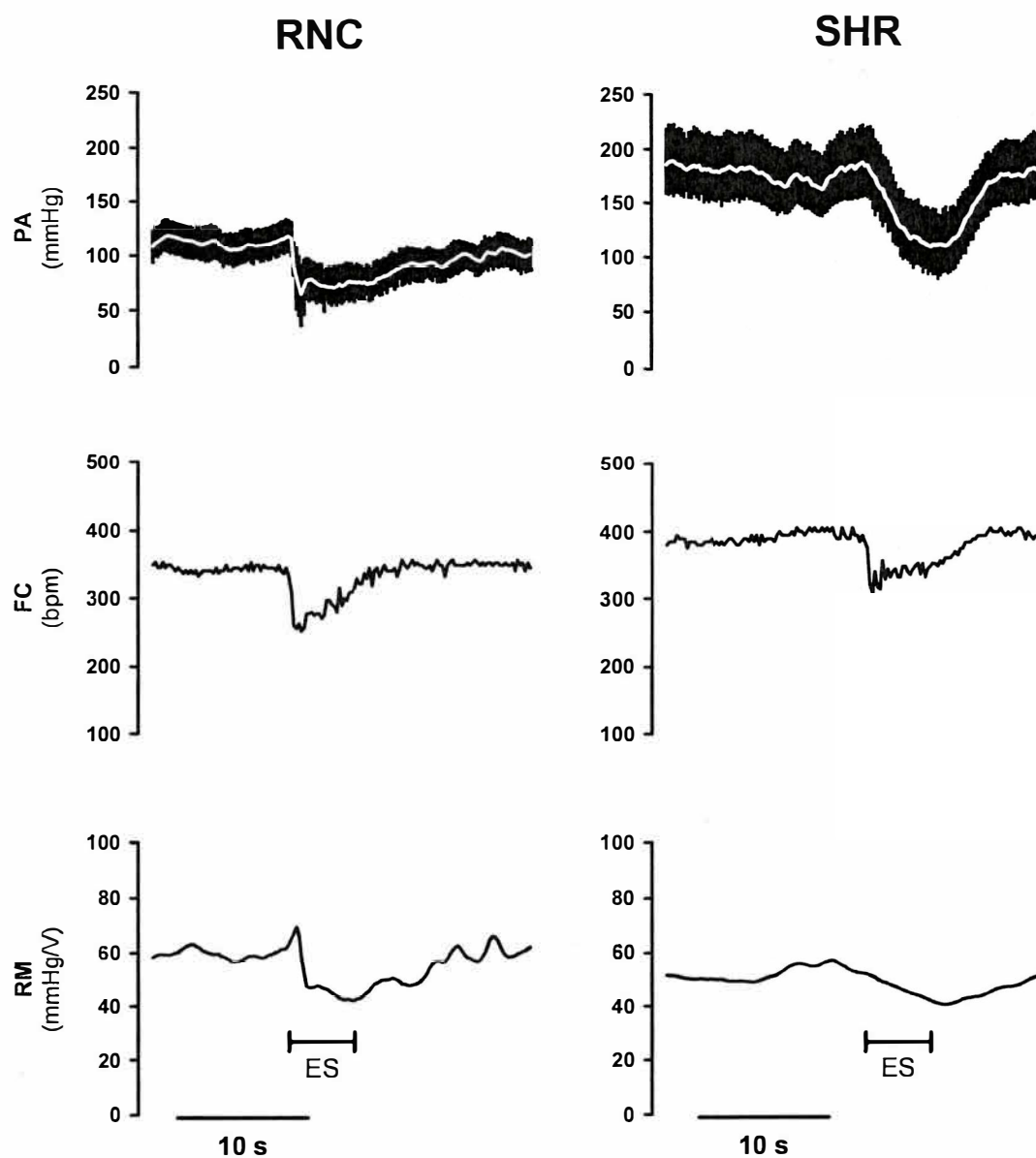


Figura 3. Traçados típicos de um rato normotenso controle (RNC) e um rato hipertenso espontâneo (SHR), onde se observa queda da pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e resistência vascular do trem posterior (RTP), em resposta à estimulação elétrica (ES) do nervo depressor aórtico (NDA), durante 5s, com frequência de 30 Hz.



Z

Figura 4. Traçados típicos de um rato normotenso controle (RNC) e um rato hipertenso espontâneo (SHR), onde se observa queda da pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e resistência vascular mesentérica (RM), em resposta à estimulação elétrica (ES) do nervo depressor aórtico (NDA), durante 5s, com frequência de 30 Hz.

Observa-se na figura 5 que o estímulo elétrico do NDA induziu, tanto nos RNC como nos SHR, queda de PAM, em valores absolutos, frequência dependente ( $P < 0.001$ ). Observa-se também, que as quedas de PAM nos SHR foram maiores do que nos RNC, nas frequências de 30 a 90 Hz ( $P < 0.05$ ). Destaca-se que as respostas máximas foram obtidas com 90 Hz, apresentando valores de  $-68 \pm 5$  mmHg para os SHR, e  $-38 \pm 3$  mmHg para os RNC. Os resultados indicam que os SHR apresentaram com 90 Hz, queda de 1.8 vezes maior que os RNC.

Está ilustrado na figura 6 que a estimulação elétrica do NDA apresentou queda da FC frequência dependente ( $P < 0.001$ ), tanto nos RNC quanto nos SHR. Não se observou, entretanto, diferença de resposta, para cada frequência, entre os grupos RNC e SHR.

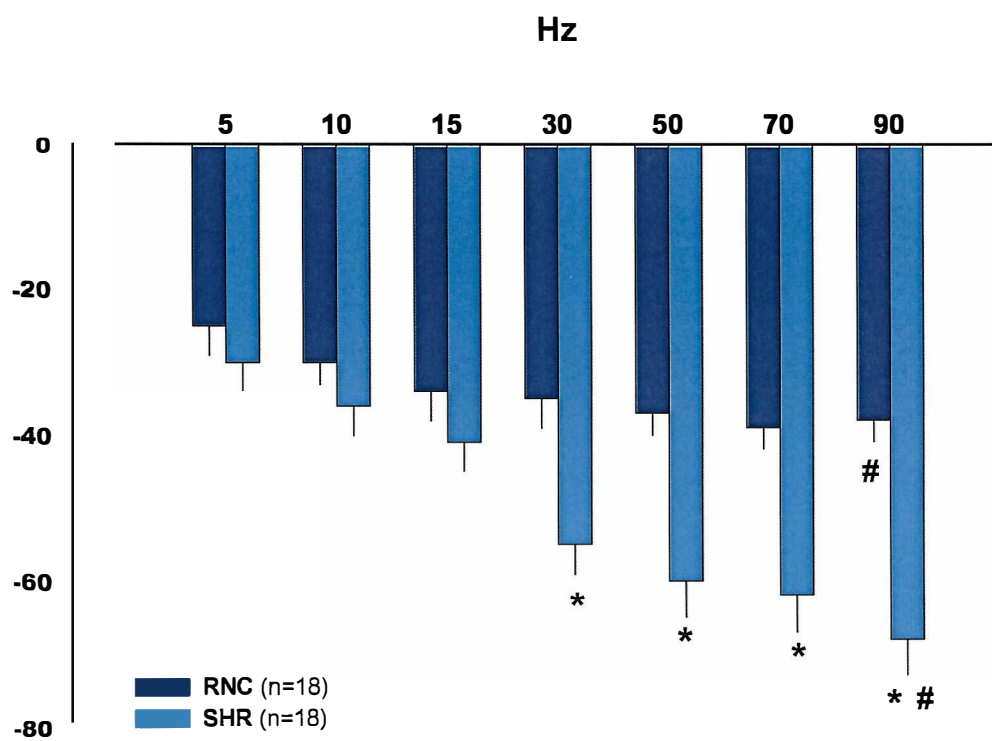


Figura 5. Variações da pressão arterial média ( $\Delta$ PAM) em resposta à estimulação elétrica do NDA com freqüências de 5 a 90 Hz. #  $P < 0.001$  efeito da freqüência de estimulação na curva de respostas do grupo. \*  $P < 0.05$  em relação aos RNC.



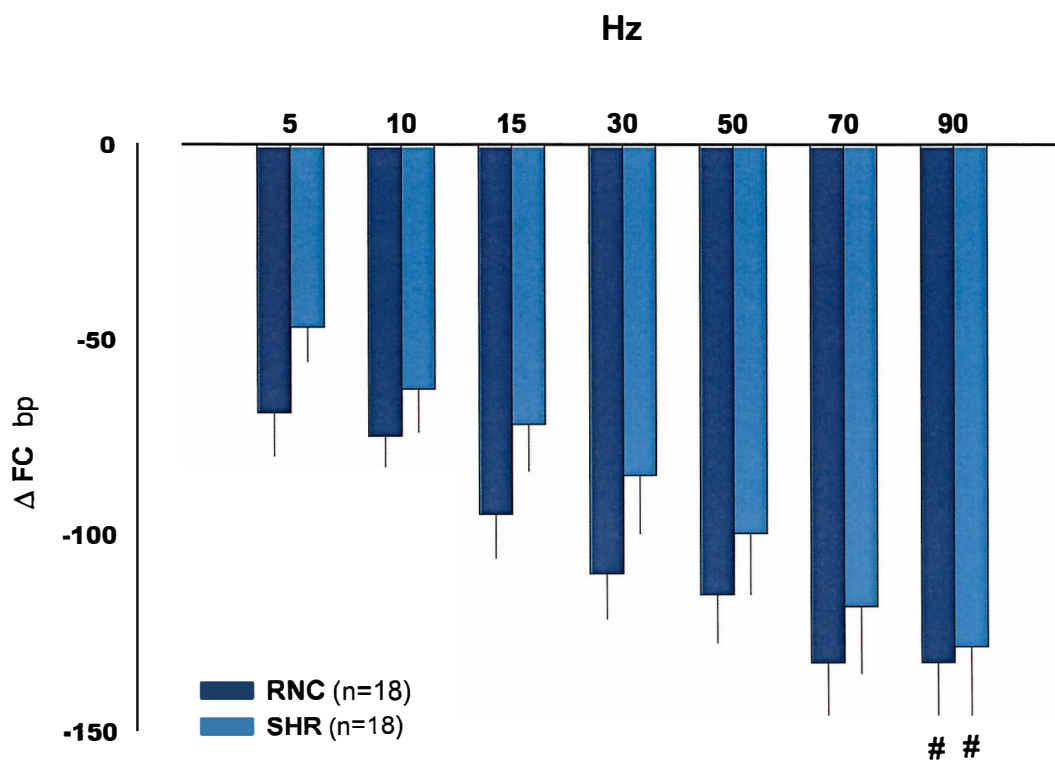


Figura 6. Variações da frequência cardíaca ( $\Delta FC$ ) em resposta à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz. #  $P < 0.001$  efeito da frequência de estimulação na curva de respostas do grupo.

## **Efeito da estimulação elétrica do NDA nas resistências vasculares regionais**

Está ilustrado na figura 7 que a estimulação elétrica do NDA induziu queda da RTP, tanto nos RNC quanto nos SHR. Entretanto, o efeito frequência dependente ( $P < 0.001$ ) foi observado, apenas, nos SHR.

Está ilustrado na figura 8 que a estimulação elétrica do NDA produziu queda da RM, sem um efeito da frequência dependente, e sem diferenças entre os grupos.

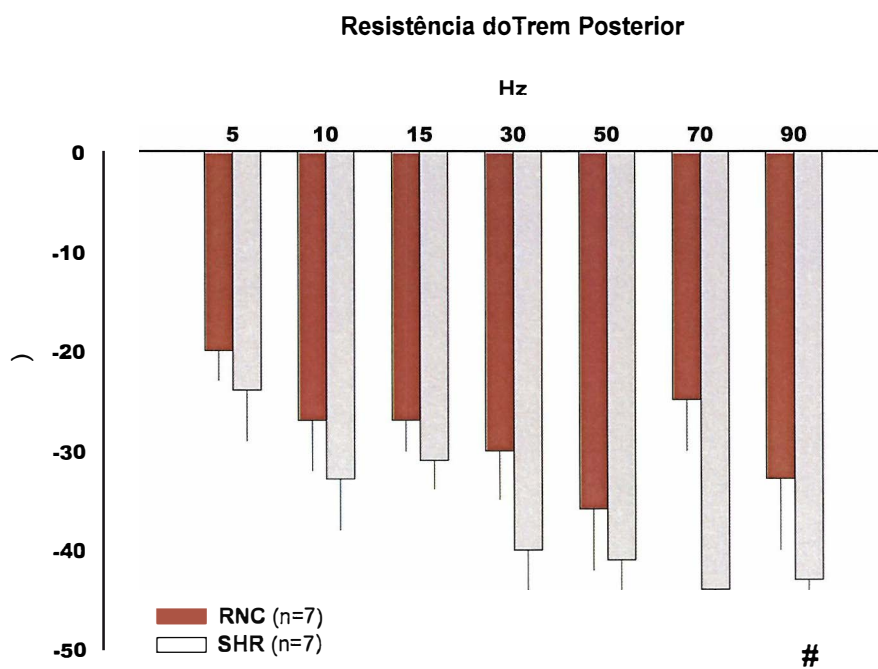


Figura 7. Variações (%) da resistência vascular do trem posterior (RTP) em resposta à estimulação elétrica do NDA, durante 5s, com freqüências de 5 a 90 Hz, em ratos normotensos controles (RNC) e hipertensos espontâneos (SHR). #  $P < 0.001$  efeito da freqüência de estimulação na curva de respostas do grupo.

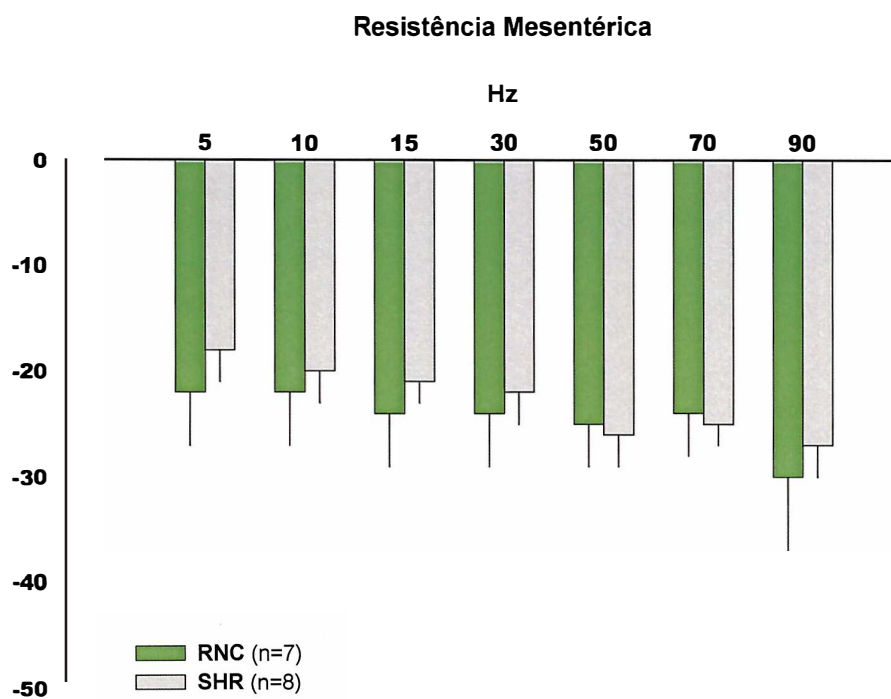


Figura 8. Variações (%) da resistência vascular mesentérica (RM) em resposta à estimulação elétrica do NDA, durante 5s, com freqüências de 5 a 90 Hz, em ratos normotensos controles (RNC) e hipertensos espontâneos (SHR).

## **Comparação das respostas de resistência vascular entre os leitos mesentérico e o trem posterior**

Observa-se na figura 9 que a estimulação elétrica do NDA induz queda da RM e RTP, nos RNC, sem efeito frequência dependente, e sem diferença entre os leitos vasculares.

Na figura 10 está ilustrado que a estimulação elétrica do NDA produziu queda da RM e RTP nos SHR. As quedas de RTP, com efeito frequência dependente, foram maiores que as de RM dos 10 aos 90 Hz..

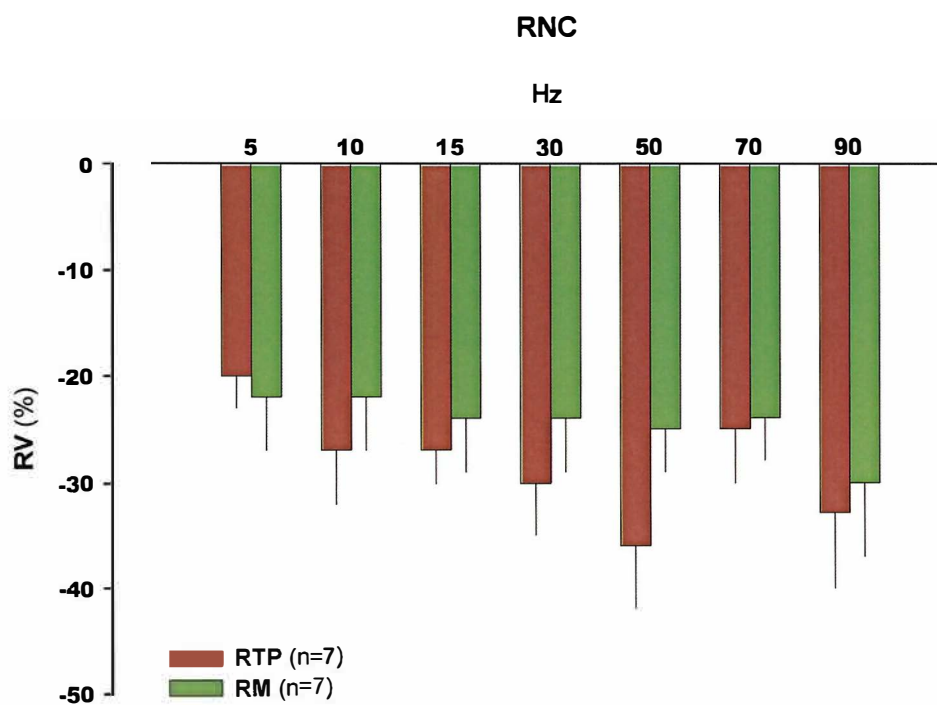


Figura 9. Variações (%) da resistência vascular (RV) do trem posterior (RTP) e mesentérica (RM), em ratos normotensos controles (RNC) submetidos à estimulação elétrica do NDA, durante 5s, com freqüências de 5 a 90 Hz.

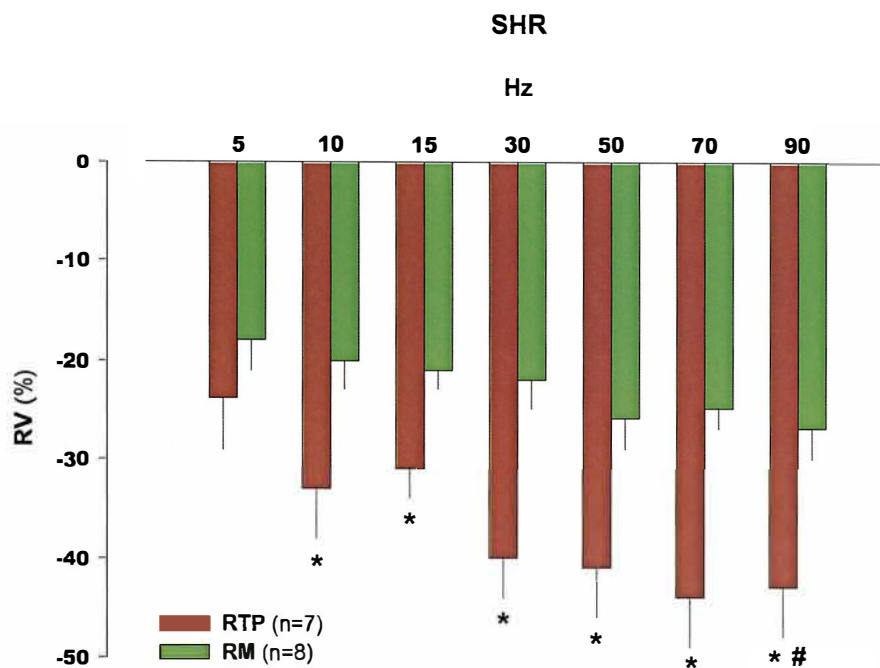


Figura 10. Variações (%) da resistência vascular (RV) do trem posterior (RTP) e mesentérica (RM), em SHR submetidos à estimulação elétrica do NDA, durante 5s, com freqüências de 5 a 90 Hz. #  $P < 0.001$  efeito da freqüência de estimulação na curva de respostas do leito vascular; \*  $P < 0.05$  em relação à RM.

## **Efeito da administração do atenolol nos parâmetros hemodinâmicos**

### **basais**

O atenolol não alterou a PAM basal dos RNC ( $103 \pm 2$  vs.  $105 \pm 2$  mmHg, pós-atenolol), mas aumentou, discreta, porém, significativamente a PAM dos SHR ( $150 \pm 5$  vs.  $163 \pm 6$  mmHg, pós-atenolol;  $P=0,002$ ). Houve redução significativa da FC basal nos RNC ( $360 \pm 5$  vs.  $349 \pm 5$ , pós-atenolol;  $P=0,017$ ), porém com maior intensidade nos SHR ( $393 \pm 9$  vs.  $340 \pm 4$  bpm, pós-atenolol;  $P < 0,001$ ).

## **Efeito do atenolol sobre as respostas hemodinâmicas à estimulação do**

### **NDA**

Observa-se na figura 11 que o estímulo elétrico do NDA nos RNC, após o atenolol, não alterou o padrão frequência-dependente ( $P < 0.001$ ) das quedas de PAM e FC.

Está ilustrado na figura 12 que o estímulo do NDA nos SHR, após o atenolol não alterou o padrão de queda frequência dependente da PAM; entretanto, o bloqueio  $\beta_1$ -adrenérgico produziu significante atenuação das quedas de FC, dos 10 aos 90 Hz.

Está ilustrado na figura 13 que as quedas de RTP e RM à estimulação do NDA, não foram alteradas, após o atenolol, nos RNC,

Na figura 14 observa-se que o atenolol não alterou as quedas de RTP e RM à estimulação do NDA nos SHR.



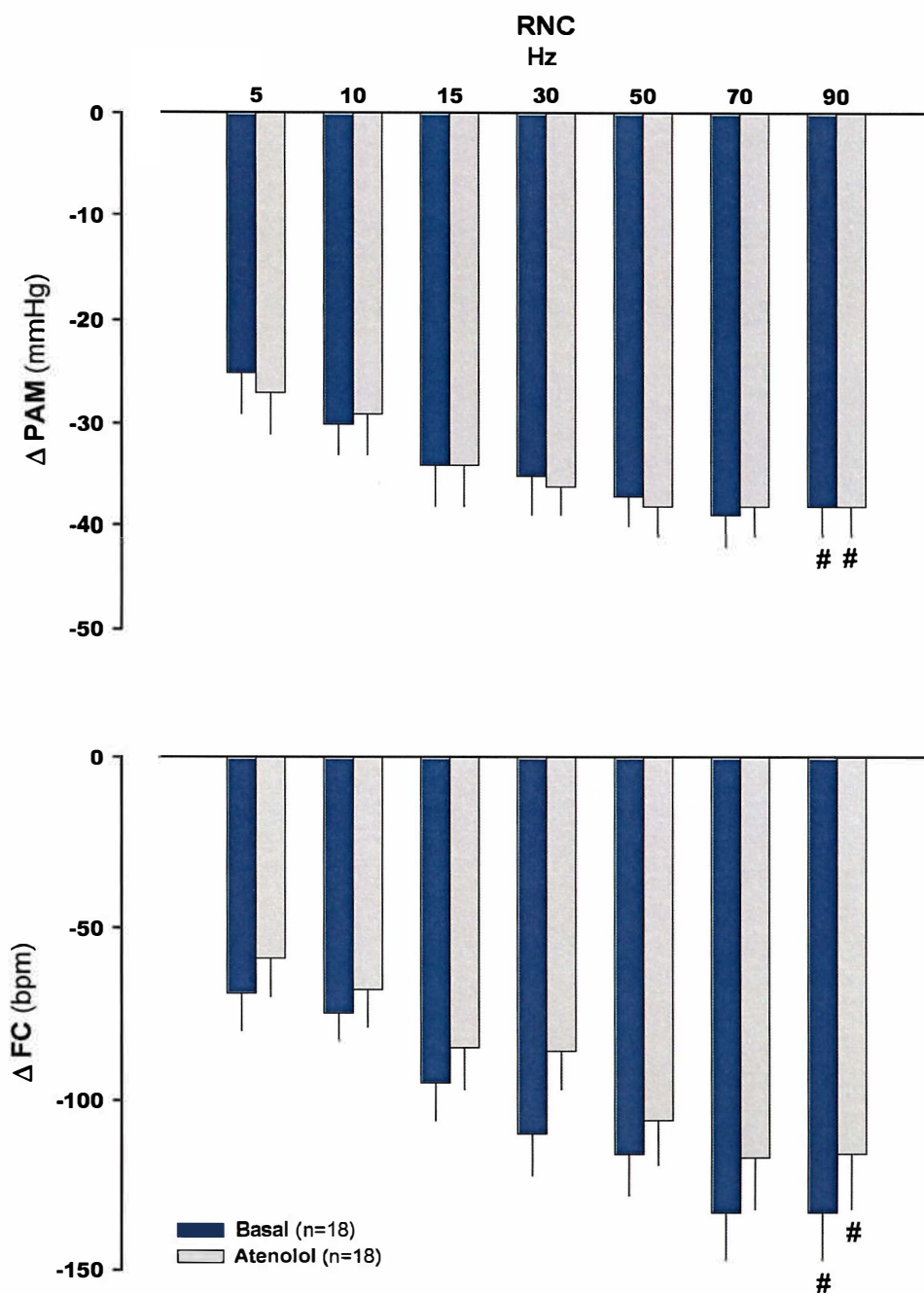


Figura 11. Variações ( $\Delta$ ) de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), em resposta à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz, antes (basal) e após a administração do atenolol nos ratos normotensos controles (RNC). #  $P < 0.001$  efeito da frequência de estimulação na curva de respostas.

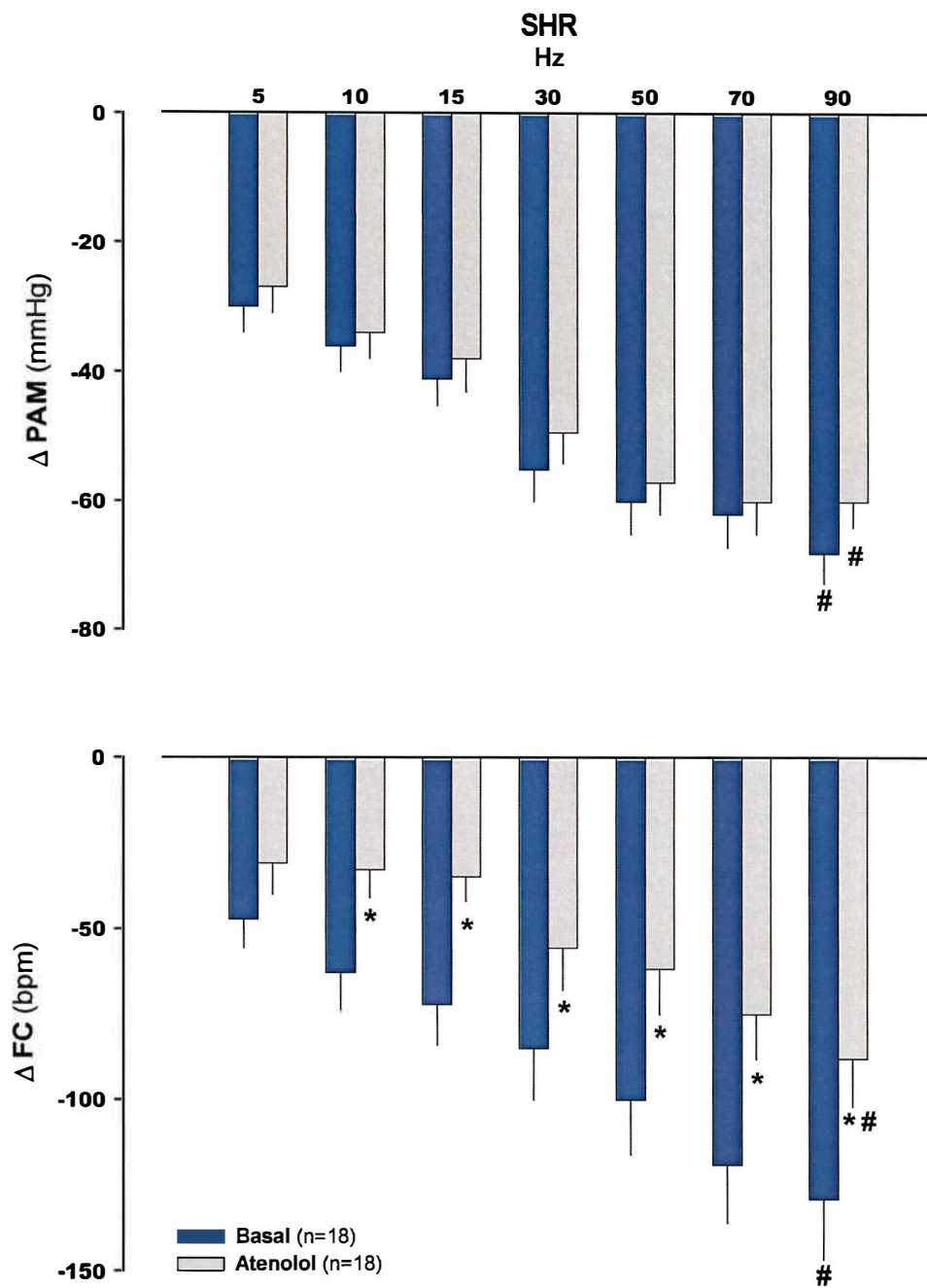


Figura 12. Variações ( $\Delta$ ) de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), em resposta à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz, antes (basal) e após a administração do atenolol nos SHR. #  $P < 0.001$  efeito da frequência de estimulação na curva de respostas. \*  $P < 0.05$  em relação ao basal.

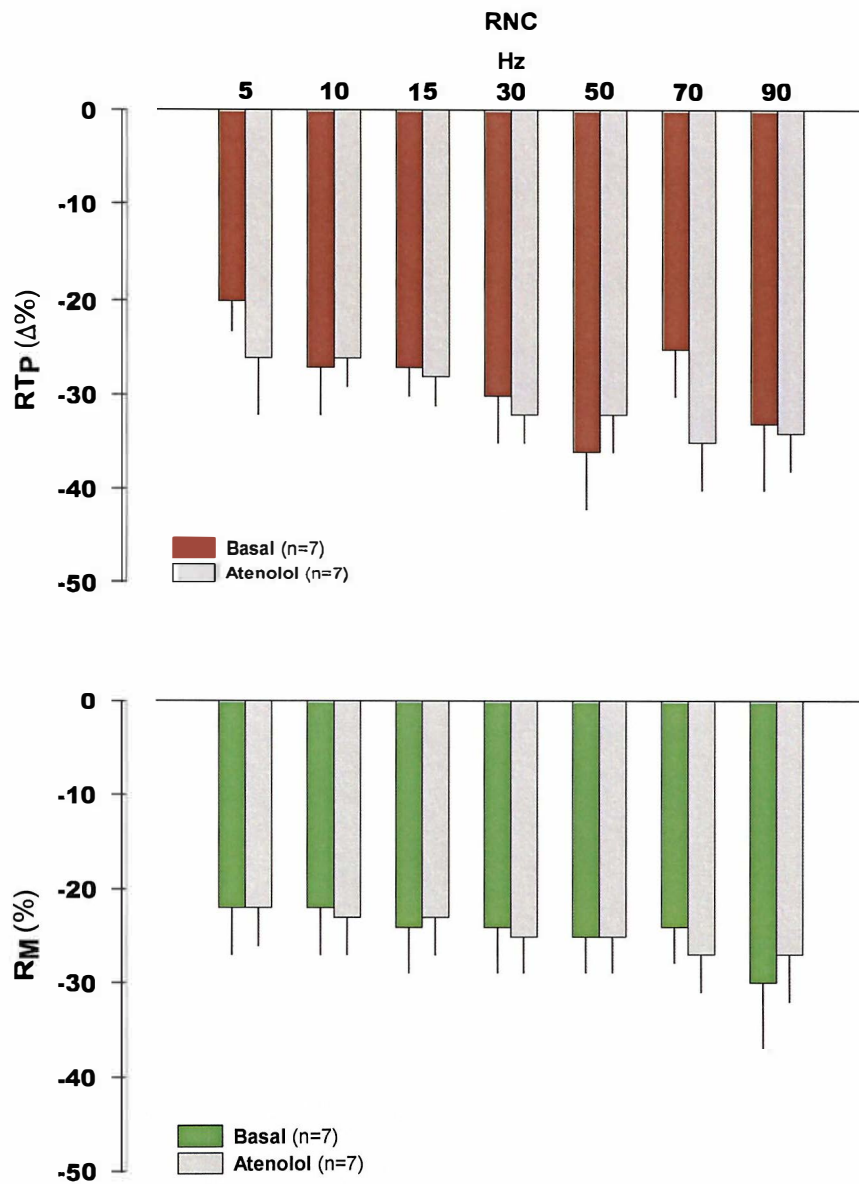


Figura 13. Variações (%) da resistência do trem posterior (RTP) e resistência mesentérica (RM) em ratos normotensos controles (RNC), em resposta à estimulação do NDA, durante 5 s, nas frequências de 5 a 90 Hz, antes (basal) e após administração de atenolol.

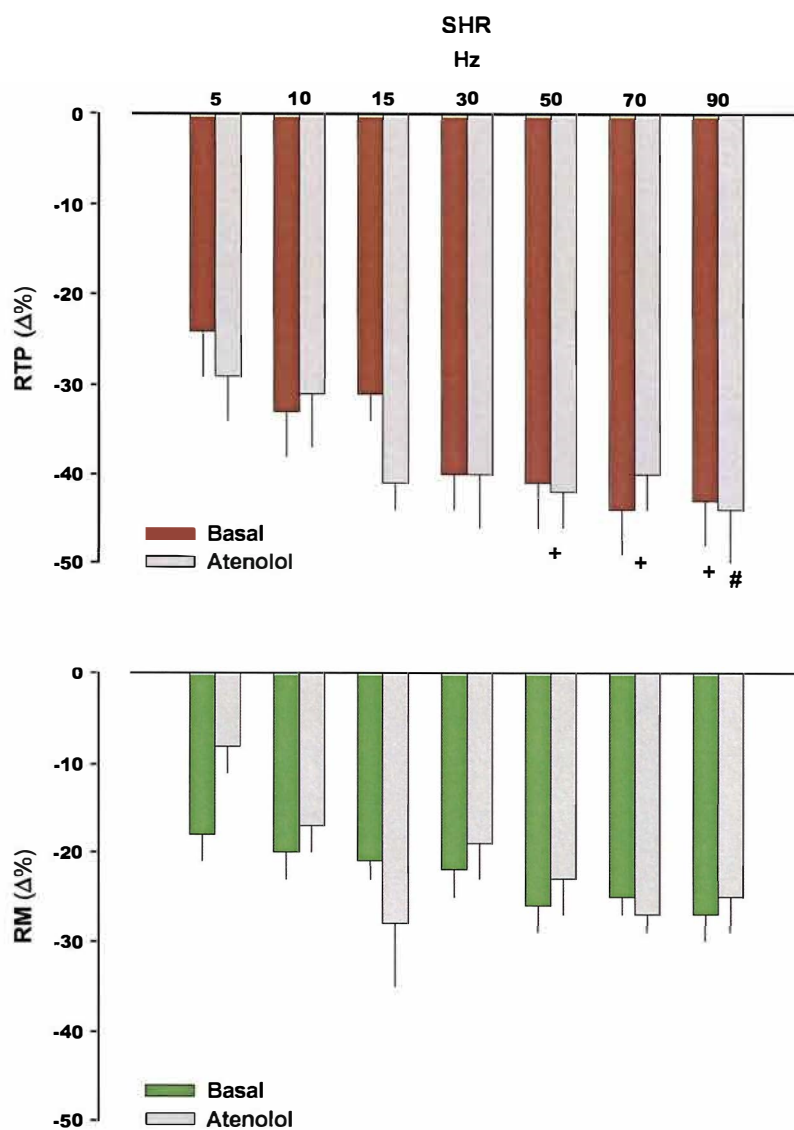


Figura 14. Variações (%) da resistência do trem posterior (RTP) e resistência mesentérica (RM) nos SHR, em resposta à estimulação do NDA, durante 5 s, nas frequências de 5 a 90 Hz, antes (basal) e após administração de atenolol. #  $P < 0.001$  em relação ao efeito frequência dependente.

### **Evolução temporal das respostas hemodinâmicas à estimulação do NDA**

Estão ilustradas na figura 15 as latências das respostas de FC, PAM, RTP e RM, após o início do estímulo do NDA com 30 Hz, durante 5s, em SHR e RNC. As latências das respostas hemodinâmicas não foram diferentes entre os grupos RNC e SHR, sendo que a resposta de FC significativamente precedeu as respostas de PAM, RTP e RM.

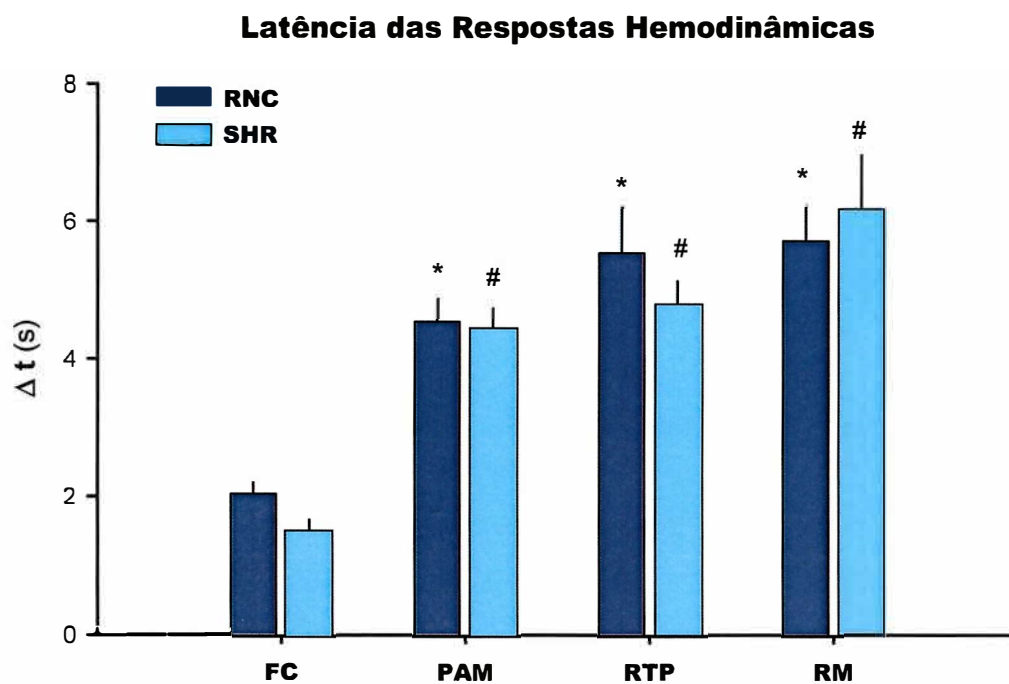


Figura 15 - Latência ( $\Delta t$ ) das respostas de frequência cardíaca (FC), pressão arterial média (PAM), resistências vasculares do trem posterior (RTP) e mesentérica (RM), de RNC e SHR, após o início da estimulação do NDA, durante 5 s, com 30 Hz. \*  $P < 0.001$  em relação à FC para os RNC; #  $P < 0.001$  em relação à FC para os SHR.

**DISCUSSÃO**

O objetivo deste estudo foi avaliar, e comparar, as respostas de PAM, FC e resistência vascular regional (trem posterior e mesentérica), produzidas pela estimulação elétrica do NDA em ratos acordados SHR e RNC. Os resultados mostraram que as respostas hipotensoras e bradicárdicas, produzidas pela estimulação elétrica do NDA, estão mantidas nos SHR acordados. Os mecanismos responsáveis pela hipotensão e bradicardia em SHR vs RNC têm modulação diferente. Nos SHR, a vasodilatação do trem posterior foi predominantemente maior que a do leito mesentérico e bradicardia foi complementada pela retirada barorreflexa da atividade simpática cardíaca.

### **Resposta da PAM à estimulação do NDA**

A estimulação elétrica do NDA nos RNC acordados provocou queda frequência-dependente da PAM. Esses achados estão de acordo com estudos clássicos mostrando que ativação do barorreflexo produz inibição das descargas simpáticas, aumento de atividade parassimpática, e subsequente queda da PA (Abboud e cols. 1976; Kirchheim, 1976; Krieger e cols. 1982). No presente estudo, os resultados de queda da PAM frequência-dependente estão em consonância com observações prévias, as quais, utilizando estimulação do NDA (de Paula e cols. 1999) ou anestesiados (Fan e cols. 1996; Possas e cols. 2005), demonstraram também queda frequência-dependente de PAM em RNC acordados. De maneira semelhante Faber e Brody (1983) demonstraram que a estimulação do nervo laríngeo superior produziu redução da PAM frequência-



dependente (1-12 Hz), com estímulos elétricos de intensidade supra-máxima (14 V com duração de 0.5 ms) no período de 24 s.

A estimulação elétrica do NDA nos SHR acordados também provocou queda frequência-dependente da PAM, porém, em altas frequências de estimulação as quedas de PAM foram aproximadamente duas vezes maiores do que as quedas dos RNC. Embora exista a comprovada atenuação da sensibilidade barorreceptora aferente dos SHR (Sapru e Wang, 1976; Andresen e cols. 1978; Andresen e Yang, 1989) a estimulação do NDA foi capaz de produzir respostas hipotensoras nos SHR mais acentuadas que nos RNC. Quedas da PA frequência-dependente foram observadas por Yin e Sved (Yin e Sved. 1996) por meio de estimulação elétrica do NDA em ratos WKY e SHR anestesiados com uretana. No entanto, esses autores (Yin e Sved. 1996) obtiveram atenuação da resposta depressora nos SHR quando a magnitude das respostas se tornava progressivamente diminuída, durante estimulação mais prolongada (15-30 segundos) com alta frequências (25 Hz) e intensidade de 150  $\mu$ A. Fan e cols. (1996) ao estimularem o NDA de ratos normotensos anestesiados (pentobarbital) com intensidade supramáxima (18-20 V e duração de 0.1 ms), por períodos de 60 s, encontraram respostas depressoras e bradicárdicas do tipo frequência-dependente, que se intensificaram com as frequências de 1 a 10 Hz quando atingiram o máximo dessas respostas. Porém essas respostas se mantiveram inalteradas em níveis máximos, mesmo em frequências tão altas quanto 200 Hz. A discrepância destes resultados com os do presente estudo pode ser atribuída à diferença metodológica. No presente estudo, o curto período (5 s) de estimulação elétrica do NDA, com intensidade

fixa (1 mA) e pulso de 2ms de duração, induziu resposta frequência-dependente de PAM dos 5 aos 90 Hz, tanto em SHR como RNC acordados.

O efeito depressor de anestésicos (Sapru e Krieger, 1979) deve, também, ser considerado, podendo ser avaliado no estudo de Gonzalez e cols. (1983), os quais ao estimularem o NDA de ratos WKY e SHR anestesiados, observaram que as respostas depressoras, quando expressas como percentagem de queda de PA, estavam significativamente menores nos SHR em relação aos WKY. Outra diferença em relação aos dados do presente estudo, também atribuída ao efeito anestésico, é ilustrada pela atenuação da resposta depressora dos SHR quando comparados aos ratos WKY (Ohta e Talman, 1995). O fato de que os RNC e SHR têm uma resposta hipotensora evidente à estimulação do NDA, e de que os SHR apresentam quedas da PAM significativamente maiores que as dos RNC, demonstra que a estimulação elétrica do NDA em ratos acordados produz respostas efetivas na ausência dos efeitos indesejáveis da anestesia (Sapru e Krieger, 1979), contornando a sensibilidade barorreceptora atenuada nos SHR (Andresen e Yang, 1989).

### **Resposta da FC à estimulação do NDA**

A estimulação elétrica do NDA nos animais acordados provocou uma bradicardia frequência-dependente tanto nos SHR quanto nos RNC, sem diferença significativa entre os dois grupos. A ativação do barorreflexo, produzindo inibição das descargas simpáticas, e aumento de atividade parassimpática, induz bradicardia e hipotensão (Abboud e cols. 1976; Kirchheim, 1976; Krieger e cols. 1982). Em ratos normotensos acordados a

bradicardia induzida pelo reflexo barorreceptor, durante as rápidas elevações de PA produzidas por injeções de drogas vasoativas, é mediada, primariamente, pelo sistema nervoso parassimpático (Coleman, 1980; Stornetta e cols. 1987; Head e McCarty, 1987), sendo o seu componente imediato, 1 s depois de atingida a pressão máxima, inteiramente parassimpático (Coleman, 1980). Além disso, foi observado em estudos prévios em RNC acordados com estimulações do NDA de curta duração (5s) (De Paula e cols. 1999), ou elevações súbitas da PA produzidas por injeções de fenilefrina (Head e McCarthy, 1987), que a bradicardia resultante foi abolida pela metilatropina, demonstrando a apreciável participação da ativação reflexa do parassimpático na resposta bradicárdica. Foi observado também, que após elevações rápidas da PA produzidas por injeções de fenilefrina *in bolus*, a retirada reflexa da atividade simpática contribui com a bradicardia reflexa, após 10 s, embora em menor grau (Head e McCarthy, 1987). No presente estudo as respostas máximas de FC em RNC, observadas logo aos 2s do início da estimulação do NDA, poderiam ser devidas, portanto, à ativação parassimpática barorreflexa, com uma participação menos significativa da retirada reflexa de atividade simpática sobre o coração.

Os resultados do presente estudo mostraram uma resposta bradicárdica à estimulação do NDA altamente preservada nos SHR, em relação aos RNC, embora exista uma comprovada redução da sensibilidade barorreceptora aferente (Sapru e Wang, 1976; Andresen e cols. 1978; Andresen e Yang, 1989; Fazan e cols. 1999), bem como uma atenuação do controle barorreflexo da FC (Head e Adams, 1988, 1992; Minami e Head, 1993). Contrariamente aos resultados obtidos no presente estudo com SHR acordados, respostas

bradicárdicas à estimulação do NDA estiveram ausentes em SHR anestesiados, quando comparados com RNC (Otha e Talman, 1995; Yin e Sved, 1996; Hayward e cols. 2002). Suspeita-se que essa diferença nos resultados seja decorrente do efeito anestésico, visto que a FC basal nos SHR estava elevada e a magnitude da bradicardia reflexa foi, substancialmente, maior em ambos os grupos, RCN e SHR acordados (presente estudo), quando comparados com os ratos anestesiados (Otha e Talman, 1995; Yin e Sved, 1996).

Entretanto, a resposta bradicárdica frequência-dependente produzida pela estimulação do NDA, se coaduna com a observação de Fan e cols. (1996) em ratos anestesiados, os quais demonstraram por meio da estimulação elétrica do NDA com voltagem fixa (supra-máxima), bradicardias que se intensificaram com frequências entre 1 e 10 Hz antes de atingir a resposta máxima (Fan e cols. 1996). Por outro lado, resposta bradicárdica intensidade-dependente não frequência-dependente foi observada por meio de estimulação elétrica do NDA em RNC acordados com voltagens (0.5 a 3V) e variando a frequência de 10 a 50Hz (de Paula e cols. 1999). Essa diferença observada na resposta bradicárdica, quando comparada com presente estudo, pode ser atribuída à diferente abordagem metodológica. Isto é, no presente estudo a estimulação elétrica foi aplicada com corrente (1 mA) e voltagem fixas e frequência variável (Hz), enquanto que no estudo mencionado (de Paula e cols. 1999) a corrente para o estímulo não foi controlada, devendo ter variado com as diversas voltagens.

## **Resposta da resistência vascular regional à estimulação do NDA**

No presente estudo, a estimulação elétrica do NDA em RNC acordados produziu queda de resistência vascular tanto do trem posterior como do leito mesentérico, porém, sem efeito frequência-dependente, e sem diferença significativa em ambos os leitos. Estudo prévio do laboratório (De Paula e cols. 1999) demonstrou que a estimulação elétrica do NDA em RNC acordados produziu vasodilatação no trem posterior e não alterou a resistência vascular mesentérica. A diferença observada no leito mesentérico, quando comparada com presente estudo, pode ser atribuída à diferente abordagem metodológica. No estudo anterior (De Paula e cols. 1999) a frequência era fixa (50 Hz) e a voltagem variável (0.5 a 2.5 V). Entretanto, dados de redução das resistências vasculares mesentérica e do trem posterior em RNC do presente estudo, estão de acordo com as observações de Possas e cols. (2005), os quais demonstraram reduções nas resistências vasculares mesentérica e do trem posterior em ratos normotensos, mesmo anestesiados, quando submetidos à estimulação do NDA. Além disso, estes autores observaram que as quedas frequência-dependentes foram predominantes na resistência do trem posterior (Possas e cols. 2005). A diferença em relação aos resultados do presente estudo em RNC, pode ser devida, também, à anestesia e à diferença metodológica. Enquanto no presente estudo analisou-se o pico de resposta máxima da resistência vascular, durante períodos de 5s de estímulo do NDA com intensidade de corrente fixa (1 mA), aqueles autores analisaram a área total sob a curva da resposta da resistência vascular durante 15 s de estimulação com voltagem fixa (8 V). Ainda, por meio de diferente abordagem metodológica, a estimulação no nervo laringeo superior com frequência variável

(1-12 Hz) produziu quedas frequência-dependentes das resistências vasculares, predominantemente no trem posterior em relação ao leito mesentérico em RNC anestesiados (Faber e Brody, 1983).

Quanto ao mecanismo da redução predominante da resistência vascular do trem posterior, produzida pela estimulação dos aferentes barorreceptores em RNC, isto tem sido atribuído à retirada reflexa do tônus simpático vasoconstrictor (Faber e Brody, 1983). Possas e cols (2005) sugerem que a vasodilatação total do trem posterior induzida pela estimulação do NDA, é iniciada pela retirada do *drive* vasoconstrictor neurogênico, e pode ser complementada pela liberação de fatores recém - sintetizados pela NO sintase neuronal, ativada nos terminais do nervo simpático lombar.

Quanto aos SHR, os resultados do presente estudo mostraram que a queda de resistência vascular no trem posterior foi significativamente maior que a do leito mesentérico e apresentou efeito frequência-dependente. Aliado a esse fato, existem inúmeros trabalhos os quais que demonstraram importância diferenciada para o território vascular do trem posterior no controle da alta resistência periférica dos SHR. No trem posterior, a área suprida pela aorta terminal, onde quase inexistente tônus vasoconstrictor simpático em ratos normotensos (Iriuchijima e Sakata, 1985), um considerável tônus vasoconstrictor simpático foi observado em SHR (Iriuchijima, 1985). Comparando a distribuição regional do tônus vasoconstrictor simpático em SHR vs ratos normotensos acordados, Iriuchijima (1986), observou quedas significativas de resistência vascular nas áreas carotídea e renal, após o bloqueio ganglionar com hexametônio nos dois grupos, mas não na área da mesentérica superior, sugerindo uma pequena atuação do território

mesentérico no controle da resistência periférica de ratos normotensos e SHR. Medidas de fluxo e pressão em SHR acordados têm mostrado que a elevada resistência periférica, em comparação com ratos normotensos, é nitidamente maior na área do trem posterior, e contribui com cerca de 40% na redução da condutância periférica total (Iriuchijima, 1983). Essas investigações sobre a distribuição do tônus vasoconstrictor simpático demonstraram a elevada importância do leito do trem posterior na contribuição neural para a hipertensão do SHR acordado (Iriuchijima 1986). Adicionalmente, o emprego de bloqueadores de canal de cálcio produziu queda dose-dependente da resistência vascular muscular esquelética, mas não nos leitos renal e mesentérico. (Nivelstein e cols. 1985). Embora estas abordagens sejam farmacológicas (Iriuchijima, 1986; Nivelstein e cols. 1985; Struyker-Boudier e cols. 1984), estes achados indicam uma atuação pequena exercida pelo território mesentérico, e maior importância do trem posterior no controle da resistência periférica total dos SHR, de acordo com os dados do presente estudo com estimulação do NDA nos SHR acordados. Complementam essa observação, os estudos de Cabassi e cols (2001) em músculos esqueléticos, cujos eferentes simpáticos são barorreflexo-dependentes, nos quais o aumento do metabolismo de noradrenalina, e a sua reduzida recaptção intersticial, contribuem para com a alta disponibilidade intersticial e com os efeitos pós-sinápticos no SHR adulto. Sendo assim, uma redução barorreflexa da atividade neural simpática muscular produzida pela estimulação elétrica do NDA, contribuiria, efetivamente, para a redução da liberação/disponibilidade tecidual da noradrenalina, e da resistência vascular periférica e, conseqüentemente, da pressão arterial.

## **Efeito do atenolol nas respostas hemodinâmicas à estimulação do NDA**

Os resultados mostraram que a resposta hipotensora à estimulação elétrica do NDA foi preservada após bloqueio dos receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos com o atenolol, tanto nos SHR quanto RNC, evidenciando a pequena contribuição da inibição reflexa da atividade simpática ao coração na queda da PAM nos dois grupos. Neste mesmo sentido, os resultados de De Paula e cols. (de Paula e cols. 1999) também mostraram a ausência de contribuição da ativação parassimpática reflexa na queda da PAM, por meio da abolição da resposta bradicárdica pela metilatropina, sem alteração da resposta hipotensora de RNC acordados submetidos à estimulação do NDA. No presente estudo a estimulação do NDA, associada à inibição do componente simpático ao coração pelo atenolol, não alterou a resposta hipotensora barorreflexa. Esses achados estão de acordo com observações prévias de Faber e Brody (1983), os quais, embora tenham utilizado RNC anestesiados, demonstraram que a abolição da bradicardia induzida pela estimulação das aferências dos barorreceptores, que trafegam com o nervo laringeo superior, não afeta as respostas de PA ou da resistência vascular.

No presente estudo o atenolol não alterou a resposta bradicárdica dos RNC. Tal fato poderia ser explicado pela participação efetiva da ativação do componente parassimpático barorreflexo, e pela pequena participação de um componente de retirada reflexa da atividade simpática ao coração (Coleman, 1980; Head e McCarthy, 1987). Por outro lado, a pequena importância da retirada do componente simpático na bradicardia reflexa dos RNC poderia, simplesmente, refletir o menor tônus simpático basal nos RNC acordados, visto



que a redução de FC basal nestes animais foi significativamente menor em relação à dos SHR.

No presente estudo a contribuição pouco relevante da bradicardia reflexa na resposta hipotensora foi confirmada nos SHR, cujas respostas bradicárdicas, mesmo atenuadas após o atenolol, não afetaram as quedas de PAM. Os resultados do presente estudo indicam que, ao contrário dos RNC, a inibição reflexa da atividade simpática contribui, significativamente, com a resposta bradicárdica nos SHR. Este efeito pode estar relacionado, em parte, ao alto nível do tônus basal simpático cardíaco nos SHR, indicado no presente estudo pela maior queda da FC basal, tanto em valores relativos como absolutos, após a administração de atenolol. Assim, o exacerbado tônus basal simpático cardíaco, ao ser desativado reflexamente a cada estimulação elétrica do NDA, poderia contribuir com a resposta bradicárdica do SHR.

Os resultados do presente estudo mostraram que a resposta de FC à estimulação do NDA nos SHR estava preservada antes do bloqueio dos receptores  $\beta_1$  – adrenérgicos com atenolol; porém, o fato de se mostrar atenuada após o bloqueio, reforça a noção da existência de uma atenuação seletiva do ramo parassimpático do controle barorreflexo da FC nos SHR. Além disso, ficou evidente no presente estudo que a contribuição da retirada da atividade simpática na resposta bradicárdica dos SHR, demonstrada pela atenuação da bradicardia em aproximadamente 32% após atenolol, compensou a já descrita atenuação da capacidade parassimpática de controle da FC nos SHR adultos (Head e Adams, 1988; Minami e Head, 1993).

Quanto ao mecanismo proposto para a resposta hipotensora vale ressaltar as observações de Faber e Brody (1983), os quais, por meio de

estimulação do nervo laríngeo superior de ratos normotensos, sugeriram que o reflexo de redução na resistência vascular tenha sido o principal determinante da queda de PA, uma vez que a abolição da bradicardia não afetou a resposta hipotensora. Além disso, esses autores encontraram uma resposta hipotensora atenuada juntamente com a abolição da vasodilatação no trem posterior em consequência à transecção seletiva do nervo lombar direito (Faber e Brody, 1983). Nesta mesma linha de observação, de Paula e cols. (1999) demonstraram por meio de estimulação elétrica do NDA em RNC que a resposta hipotensora ficou preservada após o bloqueio da bradicardia com metilatropina. No estudo atual, o fato de haver preservação da resposta hipotensora e da redução reflexa da resistência vascular do trem posterior e mesentérica, mesmo com a atenuação da bradicardia reflexa, está de acordo com os resultados de Guo e cols. (1982), os quais demonstraram que, embora o controle barorreflexo da FC em coelhos estivesse atenuado em consequência à desnervação seletiva carotídea ou aórtica, o controle reflexo sobre a resistência do trem posterior estava preservado. Nos coelhos com hipertensão renal, nos quais o controle barorreflexo da FC já estava atenuado pela hipertensão, o controle da resistência vascular do trem posterior e da atividade simpática lombar estava também preservado (Guo e cols. 1983). Outro resultado relevante no estudo atual foi a similaridade das latências da resposta hipotensora e da queda de resistência vascular regional mesentérica e trem posterior, tanto nos SHR quanto nos RNC. Esse fato, evidenciando uma estreita correlação temporal entre a queda da PAM e resposta vasodilatadora da circulação regional, se encontra apoiado, em parte, nos resultados de Ducher e cols. (1996), os quais demonstraram em ratos acordados estreita

correlação temporal entre quedas na pressão arterial sistólica e vasodilatação no trem posterior, sendo que a vasodilatação mesentérica ocorreu com retardo de 7 batimentos cardíacos. Mais recentemente, Possas e cols. (2005) demonstraram que as respostas depressoras em ratos normotensos anestesiados, submetidos à estimulação do NDA, foram correlacionadas com reduções nas resistências vasculares, predominantemente no trem posterior em relação ao leito mesentérico. Portanto, no presente estudo, embora o débito cardíaco não tenha sido mensurado, pode-se presumir que a queda da PAM em ambos os grupos, tenha sido associada à evidente redução reflexa da resistência vascular mesentérica e do trem posterior.

Um dos achados mais importantes do presente estudo, nos SHR, é que, a despeito da reconhecida atenuação da função barorreceptora (Andresen e Yang, 1989; Brown, 1980; Chapleau e cols. 1988; Fazan e cols. 1999; Krieger e cols. 1982), bem como de todo o arco reflexo (Andresen e cols. 1978; Yin e Sved, 1996), o barorreflexo desta cepa hipertensiva responde, de maneira eficaz, à estimulação elétrica do NDA em situação de vigília, exibindo considerável bradicardia e hipotensão. É também relevante a observação de que a queda na resistência vascular do trem posterior tenha tido maior contribuição nesta resposta hipotensora. Sendo assim, a atenuação do barorreflexo do SHR, descrita na literatura, poderia ser atribuída a um desarranjo dos componentes mecânicos e/ou elétricos do barorreceptor (Chapleau e cols. 1988).

**CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos com a estimulação elétrica do NDA em ratos acordados permitiram chegar às seguintes conclusões:

- As quedas de PAM e FC mediadas pelo barorreflexo em resposta à estimulação elétrica do NDA, com animais acordados estão mantidas nos SHR acordados quando comparados com os RNC.
- Os mecanismos responsáveis pela hipotensão e bradicardia em SHR vs RNC têm modulação diferente. No SHR, a resposta vasodilatadora do trem posterior está aumentada em relação à mesentérica, e a bradicardia é mediada, em parte, pela retirada do tônus simpático, o que complementa a reconhecida atenuação do parassimpático no controle da FC deste modelo de hipertensão.

**PERSPECTIVAS**

O conceito da atenuação do barorreflexo nos SHR é amplamente aceito (Andresen e Brown, 1978; Yin e Sved, 1996). A maioria dos estudos que têm examinado o controle do sistema nervoso autonômico sobre as respostas hemodinâmicas, e a mediação central do barorreflexo, têm sido desenvolvidos em animais anestesiados. A estimulação elétrica das aferências do barorreceptor contorna anatomicamente os nervos sensoriais do arco aórtico/seio carotídeo, quando se sabe que a sensibilidade barorreceptora está prejudicada nos SHR (Andresen e Yang, 1989; Brown, 1980; Chapleau e cols. 1988; Fazan e cols. 1999; Krieger e cols. 1982). Ainda assim, a despeito de alterações no arco reflexo como um todo, as quedas reflexas de FC e PA à estimulação do NDA estão preservadas nos SHR acordados (presente estudo). A elevada atividade simpática associada à elevada resistência vascular do trem posterior dos SHR acordados, podem contribuir, pelo menos em parte, com a eficácia do reflexo barorreceptor durante a estimulação do NDA.

A possibilidade de reduzir a PA por meio de estimulação elétrica das aferências dos barorreceptores nos quadros de hipertensão pode ter importantes implicações clínicas. No início dos anos 60, motivada pela inexistência de terapia anti-hipertensiva eficaz, a estimulação elétrica dos barorreceptores carotídeos foi usada em cães acordados e em pacientes como um instrumento para abaixar a PA (Griffith e Schwartz, 1964; Schwartz e Griffith, 1967) e aliviar a angina de peito (Braunwald e cols. 1967). Posteriormente, essa técnica foi clinicamente abandonada, principalmente devido às complexidades de sua abordagem metodológica e, também, devido ao progresso da terapia farmacológica da hipertensão arterial. Estudos recentes têm mostrado reduções mantidas de PA, durante uma semana ou

mais, por meio da estimulação elétrica das aferências do seio carotídeo em cães normotensos acordados (Lohmeier, 2004), e em pacientes com hipertensão resistente à terapia farmacológica (Sica e cols. 2005). A redução efetiva e duradoura dos níveis pressóricos, durante a estimulação crônica do nervo do seio carotídeo, parece depender do modelo de hipertensão. No modelo de hipertensão induzida por infusão crônica de Angiotensina-II em cães, como observado por Lohmeier e cols (2005), os quais encontraram significativa atenuação, à longo-prazo, do efeito hipotensor produzido pela estimulação do seio carotídeo. Além do modelo de hipertensão, a efetiva redução dos níveis pressóricos na hipertensão estável também depende da técnica de estimulação elétrica utilizada. Considerando a da técnica de estimulação elétrica do NDA utilizada no presente estudo, a aplicação de estímulo no NDA durante períodos curtos de 5s, com intensidade de corrente fixa, numa ampla faixa de freqüências, produziu respostas hipotensoras apreciáveis e crescentes, tanto em SHR quanto nos RNC. Esse resultado propiciou uma importante visão do controle cardiovascular sob condições extremas, em animais com livre movimentação nos quais a PA estava sendo monitorada continuamente.

A estimulação dos barorreceptores tem sido exaustivamente utilizada em situações experimentais com animais anestesiados, muito frequentemente se valendo de drogas vasoativas. Nessas abordagens, embora possam ser realizadas avaliações qualitativas e quantitativas, os resultados são consideravelmente prejudicados, face aos efeitos dos anestésicos sobre controle autonômico cardiovascular, ou face aos efeitos diretos, cardíacos e vasculares, das substâncias empregadas para estímulo do barorreflexo. A



técnica de estimulação elétrica do NDA em ratos acordados permitiu a avaliação da bradicardia, respostas hipotensoras e alterações da resistência vascular regional (de Paula e cols. 1999). Adicionalmente, esse método foi utilizado, combinado com microinjeções no núcleo do trato solitário (NTS) de ratos acordados, para demonstrar a contribuição dos receptores N-metil-D-ácido aspártico (NMDA) e não-NMDA, mediando os componentes parassimpático e simpático do controle barorreflexo de FC e PA (Machado e cols. 2000). Essa técnica de estimulação elétrica do NDA em ratos acordados, pode vir a ser de grande utilidade nos estudos que visam investigar mecanismos centrais e periféricos do controle barorreflexo, proporcionando avaliações quantitativas das respostas hemodinâmicas, tais como PAM, débito cardíaco, FC, resistências vasculares regionais e resistência periférica total.

**RESUMO**

**Barale AR.** Respostas Hemodinâmicas à Estimulação do Nervo Depressor Aórtico em Ratos Normotensos e Espontaneamente Hipertensos (SHR). Departamento de Fisiologia - Faculdade de Medicina – USP – Ribeirão Preto.

As respostas barorreflexas produzidas pelas variações da pressão artéria estão atenuadas nos ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Foi sugerida a hipótese de que as respostas reflexas à estimulação das aferências barorreceptoras do nervo depressor aórtico (NDA), efetivamente contornando a transdução mecano-sensorial, estão preservadas nos SHR acordados. A pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC) e as resistências vasculares regionais (trem posterior e mesentérica) foram medidas antes e durante a estimulação do NDA durante 5 s com frequências aleatórias (5, 10, 15, 30, 50, 70 e 90 Hz), em SHR acordados (n=18) e ratos normotensos controles (RNC, n=18). O protocolo foi repetido após bloqueio dos receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos com atenolol. Os SHR apresentaram níveis basais elevados PAM ( $150 \pm 5$  vs.  $103 \pm 2$  mmHg nos RNC) e FC ( $393 \pm 9$  vs.  $360 \pm 5$  mmHg nos RNC). A latência das respostas de FC, PAM e resistências vasculares (trem posterior e mesentérica) foi a mesma em SHR e RNC. A resposta hipotensora frequência-dependente à estimulação do NDA foi preservada, ou até aumentada, nos SHR comparada com a do RNC. As maiores quedas absolutas da PAM, que ocorreram em altas frequências de estimulação do NDA nos SHR ( $-68 \pm 5$  vs.  $-38 \pm 3$  mmHg nos RNC com 90 Hz,  $P < 0.05$ ) foram associadas com a queda preferencial de resistência vascular do trem posterior ( $-43 \pm 5\%$ ) vs. resistência mesentérica ( $-27 \pm 3\%$ ) nestes animais. Ao contrário, a estimulação do NDA reduziu de forma equivalente as resistências do trem posterior e

mesentérica nos RNC ( $-33\pm 7\%$  e  $-30\pm 7\%$ , respectivamente). A redução frequência-dependente na FC foi também preservada nos SHR, embora o mecanismo da bradicardia tenha sido diferente. O atenolol atenuou significativamente a bradicardia nos SHR ( $-88\pm 14$  vs.  $-129\pm 18$  bpm, com 90 Hz de estimulação,  $P<0.05$ ), mas não alterou a bradicardia nos RNC ( $-116\pm 16$  vs.  $-133\pm 13$  bpm). A bradicardia barorreflexa residual na presença de atenolol (componente parassimpático) foi significativamente reduzida nos SHR quando comparado aos RNC ( $P<0.05$ ). Os resultados indicam que: 1) as quedas de PAM e FC em resposta à estimulação elétrica do NDA estão mantidas em SHR em comparação com os RNC acordados; 2) o mecanismo responsável pela hipotensão tem modulação diferente, sendo preferencialmente maior no trem posterior do SHR; 3) a retirada barorreflexa do tono simpático complementa a atenuação do parassimpático no controle da FC dos SHR. Pode-se concluir que, contornando a transdução mecano-sensorial, a estimulação elétrica das aferências barorreceptoras efetivamente reduz a PAM e FC nos SHR acordados.

**Palavras-chaves:** SHR, nervo depressor aórtico, barorreflexo, pressão arterial frequência cardíaca, atenolol.

**ABSTRACT**

**Barale AR.** Hemodynamic Responses to Electrical Stimulation of Aortic Depressor Nerve in Normotensive and Spontaneously Hypertensive Rats (SHR). Department of Physiology – School of Medicine – USP – Ribeirão Preto.

Baroreflex responses to changes in arterial pressure are impaired in spontaneously hypertensive rats (SHR). We hypothesized that reflex responses to electrical stimulation of baroreceptor afferents in the aortic depressor nerve (ADN), effectively bypassing mechano-sensory transduction, are preserved in conscious SHR. Mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), and regional vascular resistances were measured before and during electrical stimulation of ADN for 5s at varying frequencies (5, 10, 15, 30, 50, 70 and 90 Hz) in conscious SHR (n=18) and normotensive control rats (NCR, n=18). The protocol was repeated after blockade of  $\beta_1$ -adrenergic receptors with atenolol. SHR exhibited higher basal MAP ( $150 \pm 5$  vs  $103 \pm 2$  mmHg in NCR) and HR ( $393 \pm 9$  vs.  $360 \pm 5$  bpm in NCR). The latency response of HR, MAP and vascular resistance (hindquarter and mesenteric) were similar in SHR and RNC. The frequency-dependent hypotensive response to ADN stimulations was preserved, or even enhanced, in SHR compared with that in NCR. The greater absolute fall in MAP that occurred at higher frequencies of ADN stimulation in SHR ( $-68 \pm 5$  vs.  $-38 \pm 3$  mmHg in NCR at 90 Hz,  $P < 0.05$ ) was associated with preferential decrease in hindquarter vascular resistance ( $-43 \pm 5\%$ ) vs. mesenteric vascular resistance ( $-27 \pm 3\%$ ) in SHR ( $P < 0.05$ ). In contrast, ADN stimulation decreased hindquarter and mesenteric vascular resistances equivalently in NCR ( $-33 \pm 7\%$  and  $-30 \pm 7\%$ , respectively). Baroreflex-mediated decreases in HR were also preserved in SHR although the mechanism of the bradycardia differed. Atenolol

significantly attenuated the reflex bradycardia in SHR ( $-88 \pm 14$  vs.  $-129 \pm 18$  bpm, with 90 Hz stimulation,  $P < 0.05$ ), but did not alter the bradycardia in NCR ( $-116 \pm 16$  vs.  $-133 \pm 13$  bpm). The residual baroreflex bradycardia in the presence of atenolol (parasympathetic component) was significantly reduced in SHR as compared to NCR ( $P < 0.05$ ).

The results indicate that: 1) baroreflex mediated decreases in MAP and HR in response to electrical stimulation of the ADN are preserved in conscious SHR; 2) the mechanisms responsible for the hypotension is differently modulated with hindquarter vasodilatation preferentially augmented in SHR; 3) baroreflex bradycardia in SHR was mediated by withdrawal of sympathetic tone compensates for impaired parasympathetic control of HR in SHR. We conclude that bypassing mechano-sensory transduction with electrical stimulation of baroreceptor afferents effectively reduces MAP and HR in conscious SHR.

**Key words:** SHR, aortic depressor nerve, baroreflex, arterial pressure, heart rate, atenolol.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



**Abboud FM, Heistad DD, Mark AL, Schmid PG.** Reflex control of the peripheral circulation. *Prog Cardiovasc Dis* 18: 371-403, 1976.

**Andresen MC, Krauhs JM, Brown AM.** Relationship of aortic wall and baroreceptor properties during development in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 43: 728-738, 1978.

**Andresen MC and Brown AM.** Baroreceptor function in spontaneously hypertensive rats: Effect of preventing hypertension. *Circ Res* 47: 829-834, 1980.

**Andresen MC, Yang M.** Rapid baroreceptor resetting is unaltered by chronic hypertension in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 256: H1228-H1235, 1989.

**Barringer LD, Buñag DR.** Differential anesthetic depression of chronotropic baroreflex in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 13: 10 – 15, 1990.

**Braunwald E, Epstein SE, Glick G, Wechsler AS, Braunwald NS.** Relief angina pectoris by electrical stimulation of the carotid-sinus nerves. *New Engl J Med* 14: 1278-1283, 1967.

**Brown A.** Receptors under pressure: An update on baroreceptors. *Circ Res* 46: 1-10, 1980.

**Cabassi A, Vinci S, Calzolari M, Bruschi G, Borghetti A.** Regional sympathetic activity in pre-hypertensive phase of spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 62: 1111–1118, 1998.

**Cabassi A, Vinci S, Quartieri F, Moschini L, Borghetti A.** Norepinephrine reuptake in skeletal muscle of hypertensive rats in vivo. *Hypertension* 37: 698–702, 2001.

**Chapleau MW, Hajduczuk G, Abboud FM.** Mechanisms of resetting of arterial baroreceptors: An overview. *Am J Med Sci* 295: 327-334, 1988.

**Chapleau MW, Abboud FM.** Modulation of baroreceptor activity by ionic and paracrine mechanisms: an overview. *Brazilian J Med Biol Res* 27: 1001-1015, 1994.

**Chapleau MW, Cunningham JT, Sullivan MJ, Wachtel RE, Abboud FM.** Structural versus functional modulation of the arterial baroreflex. *Hypertension* 26: 341-347, 1995.

**Coleman TG.** Arterial baroreflex control of heart rate in the conscious rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 238: H515-H520, 1980.

**Coote JH, Sato Y.** Reflex regulation of sympathetic activity in the spontaneously hypertensive rat. *Circ. Res* 40: 571-577, 1977.

**De Paula PM, Castania JA, Bonagamba LGH, Salgado HC, and Machado BH.** Hemodynamic responses to electrical stimulation of the aortic depressor nerve in awake rats. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol* 277: R31-R38, 1999.

**DiBona GF, Jones SY, Sawin LL.** Reflex effects on renal nerve activity characteristics in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 30: 1089-1096, 1997.

**Dickout JG, Lee RM.** Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 274: H794-H800, 1998.

**Ducher M, Zhang ZQ, Cerutti C, Julien C, Gustin MP, Paultre CZ.** Spontaneous cardiac baroreceptor reflex and regional circulations in conscious rats. *J Hypertens* 14:865-869,1996.

**Faber JF, Brody MJ.** Reflex hemodynamic response to superior laryngeal nerve stimulation in the rat. *J Auton Nerv Syst* 9: 607-622, 1983.

**Fan W, Reynolds J, Andresen CM.** Baroreflex frequency-response characteristics to aortic depressor and carotid sinus nerve stimulation in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 271: H2218 – H2227, 1996.

**Fan W, Andresen CM.** Differential frequency-dependent reflex integration of myelinated and nonmyelinated rat aortic baroreceptors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 44: H632 - H640, 1998.

**Fazan Jr. R, Ballejo G, Salgado MCO, Moraes MFD, Salgado HC.** Heart rate variability and baroreceptor function in chronic diabetic rats. *Hypertension* 30: 632-635, 1997.

**Fazan VPS, Fazan Jr R, Salgado HC, Barreira AA.** Morphology of aortic depressor nerve myelinated fibers in normotensive Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *J Auton Nerv Syst* 77: 133-139, 1999.

**Folkow B, Halback M, Lundgren Y, Sivertsson R, Weiss L.** Importance of adaptive changes in vascular design for establishment of primary hypertension studied in man and in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 32/33: 2-16, 1975.

**Folkow B.** Early structural changes in hypertension: pathophysiology and clinical consequences. *J Cardiovasc Pharmacol* 22: S1 - S6, 1993.

**Frohlich ED, Pfeffer MA.** Adrenergic mechanisms in human and SHR hypertension. *Clin Sci Mol Med* 48: 225s - 238s, 1975.

**Frohlich ED.** The adrenergic nervous system and hypertension: state of the art. *Mayo Clin Proc* 52: 361-368, 1977.

**Gonzalez ER, Krieger AJ, Sapru HN.** Central resetting of baroreflex in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 5: 346-352, 1983.

**Grassi G, Cattaneo BM, Seravalle G, Lanfranchi A, Mancia G.** Baroreflex control of sympathetic nerve activity in essential and secondary hypertension. *Hypertension* 31: 68-72, 1998.

**Greenberg S, Bohr DR.** Venous smooth muscle in hypertension: Enhanced contractility of portal veins from spontaneously rats. *Circ Res* 36/37 (suppl I): 208-215, 1975.

**Greenberg S, Palmer EC, Wilborn WM.** Pressure-independent hypertrophy of veins and pulmonary arteries of spontaneously hypertensive rats. Characterization of function, structural and histochemical changes. *Clin Sci Mol Med* 55: 31s-36s, 1978.

**Griffith LSC, Schwartz SI.** Reversal of renal hypertension by electrical stimulation of the carotid sinus nerve. *Surgery.* 56: 232-239, 1964.

**Guo GB, Thames MD, Abboud FM.** Differential baroreflex control of heart rate and vascular resistance in rabbits. Relative role of carotid, aortic, and cardiopulmonary baroreceptors. *Circ Res* 50: 554-565, 1982.

**Guo GB, Thames MD, Abboud FM.** Arterial baroreflexes in renal hypertensive rabbits. Selectively and redundancy of baroreceptor influence on heart rate, vascular resistance, and lumbar sympathetic nerve activity. *Circ Res* 53: 223-234, 1983.

**Hallback M.** Consequence of social isolation on blood pressure, cardiovascular reactivity and design in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 93: 455-465, 1975.

**Han CJ, Tsai ML, Chen RF, Chai CY, Yen CT.** Attenuation of cardiac but not vascular component in baroreflex of spontaneously rats. *Chin J Physiol* 41: 107-112, 1998.

**Harada S, Imaizumi T, Ando S, Hirooka Y, Sunagawa K, Takeshita A.** Arterial baroreflex dynamics in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol* 263: R524-R528, 1992.

**Hayward LF, Riley AP, Felder RB.**  $\alpha_2$ -Adrenergic receptors in NTS facilitate baroreflex function in adult spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H2336-H2345, 2002.

**Haywood JR, Shaffer RA, Fastenow C, Fink GD, Brody MJ.** Regional blood flow measurement with pulsed Doppler flowmeter in conscious rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 241: H273-H278, 1981.

**Head GA, McCarty R.** Vagal and sympathetic components of the heart rate range and gain of the baroreceptor-heart rate reflex in conscious rats. *J Auton Nerv Syst* 21: 203-213, 1987.

**Head GA, Adams MA.** Time course of changes in baroreceptor reflex control of heart rate in conscious SHR and WKY: contribution of the cardiac vagus and sympathetic nerves. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 15: 289-292, 1988.

**Head GA.** Cardiac baroreflexes and hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 21: 791-802, 1994.

**Head GA, Burke SL.** Renal and cardiac sympathetic baroreflexes in hypertensive rabbits. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28: 972-975, 2001.

**Hiley CR, Yates MS.** The distribution of cardiac output in the anaesthetized spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci Mol Med* 55: 317-320, 1978.

**Hutchins PM, Darnell AE.** Observation of a decreased number of small arterioles in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 34/35 (suppl I): 161-165, 1974.

**Ichikawa M, Suzuki H, Kumagai K, Ryuzaki M, Kumagai H, Jimbo M, Nishizawa M, Saruta T.** Effects of antihypertensive agents on baroreceptor function in early hypertensive rats. *Hypertension* 24: 808-15, 1994.

**Iriuchijima J.** Sympathetic discharge rate in spontaneously hypertensive rats. *Jpn Heart J* 14: 350-356, 1973.

**Iriuchijima J.** Regional blood flow in conscious spontaneously hypertensive rats. *Jpn Heart J* 33: 41-50, 1983.

**Iriuchijima J.** Mechanism of elevation of hindquarter vascular resistance in spontaneously hypertensive rats. *Jpn J Physiol* 35: 45-56, 1985.

**Iriuchijima J, Sakata S.** Regional difference in vasoconstrictor tone in conscious rats. *Jpn J Physiol* 35: 1051-1063, 1985.

**Iriuchijima J.** Regional distribution of vasoconstrictor tone in conscious spontaneously hypertensive rats. *Jpn J Physiol* 36: 1101-1111, 1986.

**Iriuchijima J.** Inhibition of abnormal hindquarter vascular tone in spontaneously hypertensive rats with chlorpromazine. *Tohoku J Exp Med* 192: 35-40, 2000.

**Judy WV, Watanabe AM, Henry DP, Besch HR Jr, Murphy WR, Hockel GJ.** Sympathetic nerve activity: Role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Circ Res*: 38 (suppl II): 21-29, 1976.

**Judy WV, Farrell SK.** Arterial baroreceptor reflex control of sympathetic nerve activity in the spontaneously rat. *Hypertension* 1: 605-614, 1979.

**Kirchheim HR.** Systemic arterial baroreceptor reflexes. *Physiol Rev* 56: 100-176, 1976.

**Korner PI.** Two functional types of carotid baroreceptor. *NIPS* 6: 200, 1991.

**Krieger EM, Marseillan RF.** Aortic depressor fibers in rat: an electrophysiological study. *Am J Physiol* 205: 771-774, 1963.

**Krieger EM, Salgado HC, Michelini LC.** Resetting of the baroreceptors. In: *Cardiovascular Physiology IV, International Review of Physiology* 26, edited by Guyton AC and Hall JE. Baltimore, MD: University Park Press; p.119-146, 1982.

**Lais LT, Bhatnagar RA, Brody MJ.** Inhibition by dark adaptation of the progress of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *Circ Res* 34/35 (suppl I): 155-160, 1974.

**Lohmeier TE, Irwin ED, Rossing MA, Serdar DJ, Kieval RS.** Prolonged activation of baroreflex produces sustained hypotension. *Hypertension* 43: 306-311, 2004.

**Lohmeier TE, Dwyer TM, Hildebrandt DA, Irwin ED, Rossing MA, Serdar DJ, Kieval RS.** Influence of prolonged baroreflex activation on arterial pressure in angiotensin hypertension. *Hypertension* 46: 1194-1200, 2005.

**Louis WJ, Tabei R, Spector S.** Effects of sodium intake on inherited hypertension in the rat. *Lancet* 2: 1283-1286, 1971.

**Lundin S, Ricksten SE, Thoren P.** Interaction between "mental stress" and baroreceptor reflexes concerning effects on heart rate, mean arterial pressure and renal sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 120: 273-281, 1984.

**Machado BH, Bonagamba LGH, Castania JA, Menani JV.** Aortic baroreceptors play a predominant role in the regulation of hindlimb vascular resistance in rats. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol* 267: R476-R480, 1994.

**Machado BH, Castania JA, Bonagamba LGH, Salgado HC.** Neurotransmission of autonomic components of aortic baroreceptors afferents in the NTS of awake rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279: H67-H75, 2000.

**Maggi CA, Meli A.** Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems. *Experientia* 42:292 – 297, 1986.

**Mancia G, Shepherd JT, Donald DE.** Interplay among carotid sinus, cardiopulmonary, and carotid body reflexes in dogs. *Am J Physiol* 230: 19-24, 1976.

**Matsuoka H, Nakata M, Kohno K, Koga Y, Nomura G, Toshima H, Imaizumi T.** Chronic L-arginine administration attenuates cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 27:14-18,1996.

**McKeown KP, Shoukas AA.** Chronic isolation of carotid sinus baroreceptor region in conscious normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol* 275: H322-H329, 1998.

**Minami N, Head GA.** Relationship between cardiovascular hypertrophy and cardiac baroreflex function in spontaneously hypertensive and stroke-prone rats. *J Hypertens* 11: 523-533, 1993.

**Morrison SF, Whitehorn D.** Baroreceptor reflex gain is not diminished in spontaneous hypertension. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol* 243: R500-R505, 1982.

**Nivelstein HMNW, van Essen H, Tijssem CM, Smits JFM, Struyker-Boudier HAJ.** Systemic and regional hemodynamic actions of calcium entry blockers in conscious spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 113: 187-198, 1985.

**Nosaka S, Okamoto K.** Modified characteristics of the aortic baroreceptor activities in the spontaneously hypertensive rat. *Jpn Circ J.* 34: 685–693, 1970.

**Nosaka S, Wang SC.** Carotid sinus baroreceptor functions in spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol* 222:1079-1084, 1972.

**Ohta H, Talman WT.** Alteration of baroreceptor and chemoreceptor reflexes in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 22: S60-S61, 1995.

**Okamoto K, Aoki K.** Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 27: 282-293, 1963.

**Overbeck HW.** Vascular responses to cations, osmolality, and angiotensin in renal hypertensive dogs. *Am J Physiol* 223: 1358-1364, 1972.

**Pfeffer MA, Frohlich ED.** Hemodynamic and myocardial function in young and old normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ Res*; 32/33 (suppl I): 28-38, 1973.

**Possas OS, Johnson AK, Lewis SJ.** Role of nistrosyl factors in the hindlimb vasodilatation elicited by barorreceptor afferent nerve stimulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 290(3):R741-748. [PubMed - in process]

**Potts JT, McKeown KP, Shoukas AA.** Reduction in arterial compliance alters carotid baroreflex control of cardiac output in a model of hypertension. *Am J Physiol* 43: H1121-H1131,1998.



**Sapru HN, Krieger AJ.** Carotid and aortic chemoreceptor function in the rat. *J Appl Physiol* 42:3 344 – 348, 1977.

**Sapru HN, Krieger AJ.** Cardiovascular and respiratory effects of some anesthetics in the decerebrate rat. *Eur J Pharmacol* 53: 151-158, 1979.

**Sapru HN, Wang SC.** Modification of aortic baroreceptor resetting in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol*. 230: 664-74, 1976.

**Schwartz SI, Griffith LSC.** Reduction of hypertension by electrical stimulation of the carotid sinus nerve. In *Baroreceptors and Hypertension*. Edited by P Kezdi. Oxford, UK, Pergamon Press pp 409-424, 1967.

**Seagard JL, Van Brederode JFM, Dean C, Hopp FA, Gallenberg LA, Kampine JP.** Firing characteristics of single-fiber carotid sinus baroreceptors. *Circ Res* 66: 1499 – 1509, 1990.

**Seagard LJ, Gallenberg AL, Hopp FA, Dean C.** Acute resetting in two functionally different types of carotid baroreceptors. *Circ Res* 70: 559-565, 1992.

**Sica D, Lohmeier T, Schimidli J, Mohaupt M.** Baroreflex therapy in resistant hypertension. *Hypertension* 46: 825-826, 2005 [Abstract].

**Stornetta RL, Guyenet PG, McCarty RC.** Autonomic nervous system control of heart rate during baroreceptor activation in conscious and anesthetized rats. *J Auton Nerv Syst* 20:121-127, 1987.

**Struyker-Boudier HA, Nievelstein HM, van Essen H, Smits JF.** Calcium antagonists: systemic and regional haemodynamic effects in conscious spontaneously hypertensive rats (SHR). *J Hypertens* 2(3): S527-S529, 1984.

**Takeda K, Buñag RD.** Sympathetic hyperactivity during hypothalamic stimulation in spontaneously hypertensive rats. *J Clin Invest*. 62: 642-648, 1978.

**Thomas CJ, Rankin AJ, Head GA, Woods RL.** ANP enhances bradycardic reflexes in normotensive but not spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 5: 1126-1132, 1997.

**Thoren P.** Efferent renal nerve traffic in spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens A* 9: 259-279, 1987.

**Tochihara M.** Reflex control of cardiac sympathetic nerve activity in anesthetized rats. *Hokkaido Igaku Zasshi* 71: 247 – 258, 1996.

**Touw KB, Haywood JR, Shafer RA, Brody MJ.** Contribution of the sympathetic nervous system to vascular resistance in conscious young and adult spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2: 408-418, 1980.

**Trippodo NC, Frohlich ED.** Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat. *Circ Res* 48: 309-319, 1981.

**van Gorp AW, Schenau DS, Hoeks AP, Boudier HA, de Mey JG, Reneman RS.** In spontaneously hypertensive rats alterations in aortic wall properties precede development of hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278: H1241-H1247, 2000.

**Widdop RE, Verberne AJ, Jarrott B, Louis WJ.** Impaired arterial baroreceptor reflex and cardiopulmonary vagal reflex in conscious spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*; 8:269-275, 1990.

**Yamori Y, Matsumoto M, Yamabe H, Okamoto K.** Augmentation of spontaneous hypertension by chronic stress in rats. *Jpn Circ J* 33: 399-409, 1969.

**Yamori Y.** Development of the spontaneously hypertensive rat (SHR) and of various spontaneous rat models, and their implications. *In experimental and genetic models of hypertension. Handbook of Hypertension.* Editado por W de Jong, Elsevier, Amsterdam vol. 4, pp 224- 239. 1984.

**Yates RD, Chen I.-Li.** An electron microscopic study of the baroreceptors in the internal carotid artery of the spontaneously hypertensive rat. *Cell Tissue Res* 205: 473-483, 1980.

**Yin M, Sved AF.** Role of  $\gamma$ -aminobutyric acid B receptors in baroreceptor reflexes in hypertensive rats. *Hypertension* 27: 1291-1298, 1996.

**Zanchetti A, Mancia G.** Structural cardiovascular adaptation and the consequences for baroreflexes. *Hypertension*. 6: III93 – III99, 1984.

**APÊNDICE**

**Tabela 1** – Valores basais de pressão arterial média (mmHg) e das repostas produzidas pela estimulação elétrica do nervo depressor aórtico (NDA) com frequências de 5 a 90 Hz em ratos normotensos controles.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	94	-7	-16	-44	-31	-22	-31	-34
2	105	-11	-18	-19	-31	-38	-22	-37
3	110	-10	-5	-11	-9	-11	-22	-32
4	115	-5	-17	-11	-22	-15	-27	-18
5	85	-15	-36	-33	-47	-46	-36	-37
6	94	-36	-33	-29	-42	-45	-49	-51
7	101	-17	-27	-27	-33	-34	-36	-29
8	111	-40	-35	-37	-41	-37	-31	-29
9	110	-34	-42	-39	-51	-44	-50	-46
10	109	-23	-23	-43	-19	-28	-27	-24
11	100	-11	-19	-23	-37	-37	-44	-55
12	95	-48	-48	-58	-56	-58	-62	-61
13	99	-15	-20	-13	-32	-25	-19	-26
14	118	-10	-24	-20	-14	-22	-39	-32
15	106	-70	-60	-73	-70	-57	-65	-63
16	112	-34	-36	-43	-40	-57	-64	-41
17	97	-29	-37	-38	-44	-46	-49	-38
18	85	-31	-46	-46	-16	-36	-34	-37
<b>Média</b>	<b>103</b>	<b>-25</b>	<b>-30</b>	<b>-34</b>	<b>-35</b>	<b>-37</b>	<b>-39</b>	<b>-38</b>
<b>EPM</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>

**Tabela 2** – Valores basais de pressão arterial média (mmHg) após administração de atenolol e das repostas produzidas pela estimulação elétrica do nervo depressor aórtico com frequências de 5 a 90 Hz em ratos normotensos controles.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	91	-34	-27	-38	-31	-30	-29	-34
2	105	-18	-19	-15	-29	-26	-38	-43
3	119	-5	-5	-8	-11	-20	-30	-17
4	100	-21	-9	-16	-33	-28	-25	-27
5	94	-38	-32	-39	-43	-35	-38	-41
6	110	-31	-41	-37	-42	-52	-51	-50
7	103	-18	-17	-32	-31	-31	-29	-35
8	117	-32	-33	-34	-40	-42	-33	-42
9	108	-35	-33	-42	-43	-43	-47	-34
10	118	-4	-42	-33	-16	-34	-37	-32
11	110	-18	-21	-26	-40	-44	-38	-37
12	93	-53	-51	-47	-51	-61	-56	-57
13	98	-7	-9	-31	-22	-20	-15	-20
14	123	-19	-17	-19	-26	-38	-17	-25
15	98	-55	-64	-56	-63	-57	-61	-63
16	109	-36	-39	-70	-55	-43	-44	-45
17	99	-27	-29	-33	-33	-38	-56	-36
18	95	-38	-36	-44	-38	-37	-38	-40
<b>Média</b>	<b>105</b>	<b>-27</b>	<b>-29</b>	<b>-34</b>	<b>-36</b>	<b>-38</b>	<b>-38</b>	<b>-38</b>
<b>EPM</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>

**Tabela 3** – Valores basais de frequência cardíaca (bpm) e das repostas produzidas pela estimulação elétrica do nervo depressor aórtico com frequências de 5 a 90 Hz em ratos normotensos controles.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	333	-48	-88	-166	-149	-144	-155	-149
2	388	-14	-22	-43	-33	-86	-32	-41
3	395	-104	-98	-94	-95	-134	-156	-219
4	371	-33	-30	-24	-51	-59	-56	-51
5	351	-47	-61	-78	-148	-100	-90	-137
6	351	-87	-101	-107	-136	-142	-170	-147
7	344	-41	-134	-74	-178	-110	-102	-102
8	390	-111	-61	-111	-109	-84	-108	-143
9	326	-52	-89	-84	-124	-106	-122	-115
10	382	-109	-131	-158	-178	-159	-191	-203
11	350	-26	-40	-56	-78	-124	-150	-161
12	357	-176	-73	-122	-175	-204	-252	-242
13	372	-6	-8	-29	-23	-38	-74	-71
14	378	-57	-52	-93	-76	-36	-120	-111
15	352	-146	-96	-187	-190	-208	-181	-200
16	346	-73	-72	-67	-90	-168	-190	-64
17	343	-34	-105	-64	-89	-124	-183	-147
18	350	-78	-91	-148	-55	-70	-59	-85
<b>Média</b>	<b>360</b>	<b>-69</b>	<b>-75</b>	<b>-95</b>	<b>-110</b>	<b>-116</b>	<b>-133</b>	<b>-133</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>14</b>	<b>14</b>

**Tabela 4** – Valores basais de frequência cardíaca (bpm) após administração de atenolol e das repostas produzidas pela estimulação elétrica do nervo depressor aórtico (NDA) com frequências de 5 a 90 Hz em ratos normotensos controles.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	322	-138	-162	-182	-156	-141	-179	-188
2	346	-9	-8	-11	-19	-21	-40	-41
3	377	-67	-95	-42	-57	-127	-144	-147
4	367	-7	-7	-13	-18	-16	-23	-37
5	355	-74	-93	-123	-121	-107	-104	-121
6	352	-67	-93	-95	-112	-142	-139	-182
7	348	-39	-58	-75	-96	-108	-97	-110
8	341	-41	-28	-51	-90	-113	-79	-45
9	307	-61	-79	-99	-117	-116	-133	-120
10	354	-8	-143	-162	-133	-165	-193	-184
11	338	-24	-32	-52	-72	-137	-62	-82
12	359	-164	-78	-129	-76	-192	-227	-244
13	384	-6	-8	-16	-17	-19	-16	-20
14	384	-10	-43	-60	-20	-73	-48	-13
15	324	-122	-117	-155	-186	-185	-176	-196
16	316	-58	-77	-106	-68	-88	-142	-103
17	346	-48	-27	-45	-79	-57	-200	-145
18	356	-119	-75	-122	-104	-102	-102	-101
<b>Média</b>	<b>349</b>	<b>-59</b>	<b>-68</b>	<b>-85</b>	<b>-86</b>	<b>-106</b>	<b>-117</b>	<b>-116</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>16</b>



**Tabela 5** – Valores basais de resistência vascular do trem posterior (mmHg/V) e das respostas (%) à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz em ratos normotensos controles.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	92	-17	-40	-33	-45	-41	-28	-36
2	207	-19	-16	-23	-35	-44	-3	-47
3	182	-19	-24	-19	-24	-20	-28	-19
4	103	-26	-27	-23	-10	-34	-39	-33
5	199	-36	-46	-43	-36	-42	-43	-32
6	139	-13	-10	-26	-16	-9	-10	-2
7	104	-12	-27	-23	-44	-60	-22	-60
<b>Média</b>	<b>147</b>	<b>-20</b>	<b>-27</b>	<b>-27</b>	<b>-30</b>	<b>-36</b>	<b>-25</b>	<b>-33</b>
<b>EPM</b>	<b>19</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>7</b>

**Tabela 6** – Valores basais de resistência vascular do trem posterior (mmHg/V) após administração de atenolol e das repostas (%) à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz em ratos normotensos controles.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
<b>1</b>	116	-33	-19	-35	-30	-35	-35	-46
<b>2</b>	350	-23	-34	-25	-32	-45	-37	-42
<b>3</b>	452	-11	-13	-19	-25	-15	-23	-24
<b>4</b>	108	-39	-25	-45	-22	-35	-26	-44
<b>5</b>	331	-50	-38	-28	-41	-26	-60	-33
<b>6</b>	241	-12	-22	-22	-28	-29	-29	-15
<b>7</b>	131	-18	-32	-21	-46	-37	-35	-31
<b>Média</b>	<b>247</b>	<b>-26</b>	<b>-26</b>	<b>-28</b>	<b>-32</b>	<b>-32</b>	<b>-35</b>	<b>-34</b>
<b>EPM</b>	<b>51</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>

**Tabela 7** – Valores basais de resistência vascular mesentérica (mmHg/V) e das repostas (%) à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz em ratos normotensos controles.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
<b>1</b>	29	-29	-29	-28	-32	-38	-29	-31
<b>2</b>	37	-6	-8	-3	-16	-15	-11	-18
<b>3</b>	74	-1	-5	-10	-7	-8	-15	-10
<b>4</b>	34	-33	-27	-36	-38	-32	-35	-66
<b>5</b>	62	-31	-25	-30	-35	-35	-32	-32
<b>6</b>	29	-16	-21	-17	-14	-23	-17	-16
<b>7</b>	92	-35	-41	-43	-27	-27	-28	-38
<b>Média</b>	<b>51</b>	<b>-22</b>	<b>-22</b>	<b>-24</b>	<b>-24</b>	<b>-25</b>	<b>-24</b>	<b>-30</b>
<b>EPM</b>	<b>9</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>7</b>



**Tabela 9** – Valores basais de pressão arterial média (mmHg) e das repostas produzidas pela estimulação elétrica do nervo depressor aórtico (NDA) com frequências de 5 a 90 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	132	-29	-23	-26	-50	-43	-36	-51
2	138	-26	-35	-45	-66	-67	-55	-78
3	127	-37	-52	-55	-57	-56	-58	-63
4	162	-44	-20	-28	-43	-59	-70	-68
5	138	-8	-38	-18	-31	-18	-28	-28
6	153	-18	-35	-27	-49	-36	-51	-52
7	150	-19	-27	-38	-67	-62	-69	-67
8	170	-5	-16	-30	-37	-55	-71	-70
9	170	-14	-34	-63	-78	-81	-88	-90
10	145	-75	-75	-83	-99	-95	-104	-108
11	120	-30	-32	-37	-44	-46	-43	-58
12	197	-48	-42	-51	-52	-45	-42	-44
13	143	-8	-22	-26	-31	-49	-31	-51
14	152	-14	-20	-12	-33	-35	-45	-49
15	138	-57	-67	-66	-78	-91	-80	-87
16	174	-44	-24	-29	-71	-71	-91	-107
17	159	-27	-30	-60	-47	-84	-88	-88
18	128	-44	-47	-51	-54	-86	-59	-58
<b>Média</b>	<b>150</b>	<b>-30</b>	<b>-36</b>	<b>-41</b>	<b>-55</b>	<b>-60</b>	<b>-62</b>	<b>-68</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

**Tabela 10** – Valores basais de pressão arterial média (mmHg) após administração de atenolol e das repostas produzidas pela estimulação elétrica do nervo depressor aórtico com frequências de 5 a 90 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	109	-28	-28	-35	-37	-44	-50	-51
2	159	-16	-36	-46	-79	-76	-53	-70
3	136	-23	-36	-36	-55	-52	-62	-58
4	162	-10	-13	-25	-36	-58	-59	-69
5	144	-6	-10	-17	-15	-57	-38	-22
6	166	-12	-7	-14	-23	-34	-46	-50
7	155	-26	-29	-45	-53	-57	-64	-53
8	186	-12	-20	-14	-29	-74	-83	-80
9	180	-25	-39	-52	-75	-76	-72	-82
10	162	-81	-78	-85	-90	-113	-104	-96
11	134	-36	-21	-32	-38	-28	-30	-44
12	185	-48	-43	-33	-29	-39	-41	-31
13	166	-10	-28	-11	-39	-32	-34	-51
14	178	-23	-19	-34	-38	-50	-48	-60
15	154	-41	-64	-74	-64	-67	-65	-59
16	212	-30	-49	-43	-61	-69	-80	-90
17	194	-19	-40	-28	-71	-46	-95	-59
18	143	-41	-44	-54	-52	-62	-55	-59
<b>Média</b>	<b>163</b>	<b>-27</b>	<b>-34</b>	<b>-38</b>	<b>-49</b>	<b>-57</b>	<b>-60</b>	<b>-60</b>
<b>EPM</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>

**Tabela 11** – Valores basais de frequência cardíaca (bpm) e das repostas produzidas pela estimulação elétrica do nervo depressor aórtico com frequências de 5 a 90 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	409	-28	-40	-97	-125	-84	-117	-167
2	435	-37	-33	-32	-84	-181	-173	-228
3	427	-108	-178	-173	-213	-177	-266	-272
4	382	-24	-22	-32	-33	-82	-69	-76
5	323	-11	-68	-17	-24	-8	-29	-24
6	416	-24	-72	-25	-46	-42	-78	-66
7	377	-55	-51	-73	-91	-94	-127	-132
8	379	-16	-30	-48	-34	-56	-97	-121
9	454	-18	-36	-69	-80	-91	-126	-119
10	383	-136	-123	-174	-233	-264	-265	-272
11	477	-47	-60	-42	-47	-50	-45	-45
12	402	-65	-67	-71	-70	-43	-39	-53
13	334	0	-2	-20	-33	-27	-33	-51
14	361	-4	-21	-21	-21	-19	-41	-43
15	374	-123	-137	-151	-163	-173	-180	-193
16	380	-33	-41	-45	-82	-133	-171	-156
17	373	-52	-66	-113	-85	-138	-155	-172
18	382	-68	-84	-101	-65	-144	-133	-125
<b>Média</b>	<b>393</b>	<b>-47</b>	<b>-63</b>	<b>-72</b>	<b>-85</b>	<b>-100</b>	<b>-119</b>	<b>-129</b>
<b>EPM</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>

**Tabela 12** – Valores basais de frequência cardíaca (bpm) após administração de atenolol e das repostas produzidas pela estimulação elétrica do nervo depressor aórtico (NDA) com frequências de 5 a 90 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	324	-13	-24	-41	-64	-49	-67	-80
2	364	-6	-14	-15	-38	-63	-62	-95
3	318	-17	-16	-26	-41	-75	-65	-171
4	331	-9	-8	-16	-21	-39	-42	-40
5	300	-6	-9	-9	-40	-43	-16	-14
6	354	-13	-23	-11	-17	-24	-54	-37
7	345	-21	-26	-41	-54	-72	-74	-71
8	331	-12	-20	-26	-12	-56	-63	-47
9	334	-13	-20	-34	-53	-57	-84	-72
10	350	-140	-138	-108	-229	-253	-253	-256
11	364	-102	-69	-86	-93	-31	-98	-135
12	339	-12	-19	-10	-16	-11	-14	-22
13	343	-16	-2	-7	-18	-15	-13	-39
14	341	-4	-11	-9	-15	-26	-24	-44
15	351	-71	-65	-76	-113	-109	-124	-136
16	357	-28	-52	-43	-50	-74	-110	-123
17	339	-15	-33	-17	-68	-52	-107	-90
18	336	-52	-40	-56	-65	-71	-84	-108
<b>Média</b>	<b>340</b>	<b>-31</b>	<b>-33</b>	<b>-35</b>	<b>-56</b>	<b>-62</b>	<b>-75</b>	<b>-88</b>
<b>EPM</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>14</b>



**Tabela 13** – Valores basais de resistência vascular do trem posterior (mmHg/V) e das respostas (%) à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	435	-43	-58	-39	-33	-47	-54	-44
2	261	-14	-20	-14	-24	-20	-23	-25
3	94	-26	-37	-33	-34	-30	-33	-27
4	119	-13	-25	-30	-53	-55	-63	-63
5	149	-12	-23	-34	-40	-44	-47	-44
6	117	-18	-28	-34	-47	-46	-39	-47
7	150	-43	-39	-36	-49	-47	-45	-48
<b>Média</b>	<b>189</b>	<b>-24</b>	<b>-33</b>	<b>-31</b>	<b>-40</b>	<b>-41</b>	<b>-44</b>	<b>-43</b>
<b>EPM</b>	<b>46</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

**Tabela 14** – Valores basais de resistência vascular do trem posterior (mmHg/V) após administração de atenolol e das repostas (%) à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	1064	-47	-56	-42	-62	-44	-34	-41
2	291	-13	-21	-27	-13	-39	-23	-24
3	142	-22	-16	-32	-37	-19	-27	-29
4	128	-15	-16	-55	-31	-44	-50	-62
5	345	-38	-39	-42	-51	-45	-52	-62
6	242	-27	-29	-45	-42	-51	-41	-43
7	220	-41	-42	-46	-41	-50	-50	-44
<b>Média</b>	<b>347</b>	<b>-29</b>	<b>-31</b>	<b>-41</b>	<b>-40</b>	<b>-42</b>	<b>-40</b>	<b>-44</b>
<b>EPM</b>	<b>123</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>6</b>

**Tabela 15** – Valores basais de resistência vascular mesentérica (mmHg/V) e das repostas (%) à estimulação elétrica do NDA com freqüências de 5 a 90 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	318	-23	-15	-25	-25	-38	-27	-36
2	159	-30	-28	-22	-20	-20	-22	-26
3	129	-22	-29	-34	-35	-22	-28	-23
4	58	-10	-14	-9	-19	-19	-23	-17
5	82	-28	-36	-21	-30	-38	-35	-35
6	48	-7	-16	-17	-22	-14	-18	-23
7	69	-6	-7	-22	-13	-29	-25	-41
8	54	-21	-17	-22	-15	-29	-19	-17
<b>Média</b>	<b>115</b>	<b>-18</b>	<b>-20</b>	<b>-21</b>	<b>-22</b>	<b>-26</b>	<b>-25</b>	<b>-27</b>
<b>EPM</b>	<b>32</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>

**Tabela 16** – Valores basais de resistência vascular do trem posterior (mmHg/V) após administração de atenolol e das repostas (%) à estimulação elétrica do NDA com frequências de 5 a 90 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

Rato	Basal	Hz						
		5	10	15	30	50	70	90
1	372	-9	-10	-68	-28	-18	-29	-29
2	260	-9	-19	-36	-35	-18	-19	-27
3	110	-11	-24	-37	-2	-20	-33	-3
4	72	-10	-17	-19	-21	-29	-30	-38
5	103	-20	-29	-32	-16	-47	-30	-38
6	57	-4	-7	-11	-11	-17	-17	-21
7	85	-7	-14	-11	-24	-16	-36	-19
8	58	7	-16	-14	-15	-21	-22	-22
<b>Média</b>	<b>140</b>	<b>-8</b>	<b>-17</b>	<b>-28</b>	<b>-19</b>	<b>-23</b>	<b>-27</b>	<b>-25</b>
<b>EPM</b>	<b>40</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>4</b>

**Tabela 17** – Latência ( $\Delta t$ , s) de aparecimento das respostas de pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), resistência vascular do trem posterior (RTP) e mesentérica (RM), à estimulação elétrica do nervo depressor aórtico com frequência de 30 Hz em ratos normotensos controles.

$\Delta t$		
Rato	PAM	FC
1	4.95	3.47
2	5.51	2.54
3	5.00	1.74
4	6.49	1.67
5	5.67	2.22
6	2.66	2.66
7	4.72	2.82
8	3.55	2.34
9	4.89	1.63
10	1.54	8.7
11	5.47	2.24
12	4.65	1.40
13	4.50	1.57
14	3.86	1.98
<b>Média</b>	<b>4.53</b>	<b>2.10</b>
<b>EPM</b>	<b>0.34</b>	<b>0.18</b>

$\Delta t$		
Rato	RTP	RM
1	6.79	6.07
2	5.98	4.89
3	3.76	5.19
4	6.85	7.33
5	6.83	5.27
6	2.35	7.44
7	6.30	3.66
<b>Média</b>	<b>5.56</b>	<b>5.69</b>
<b>EPM</b>	<b>0.67</b>	<b>0.51</b>

**Tabela 18** – Latência ( $\Delta t$ , s) de aparecimento das respostas de pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), resistência vascular do trem posterior (RTP) e mesentérica (RM), à estimulação elétrica do nervo depressor aórtico com frequência de 30 Hz em ratos hipertensos espontâneos.

$\Delta t$		
Rato	PAM	FC
1	3.32	1.37
2	3.11	1.54
3	2.27	0.75
4	6.32	3.29
5	4.27	1.20
6	6.09	1.22
7	4.93	1.64
8	5.68	2.28
9	4.88	1.18
10	3.39	1.07
11	4.00	1.34
12	5.20	1.66
13	4.58	1.06
14	3.77	1.58
15	4.78	0.83
<b>Média</b>	<b>4.44</b>	<b>1.47</b>
<b>EPM</b>	<b>0.30</b>	<b>0.16</b>

$\Delta t$		
Rato	RTP	RM
1	4.67	5.31
2	3.87	8.78
3	4.77	4.40
4	5.58	4.03
5	3.43	10.51
6	5.71	5.27
7	5.59	3.77
8	-	5.70
<b>Média</b>	<b>4.80</b>	<b>5.97</b>
<b>EPM</b>	<b>0.34</b>	<b>0.85</b>

## **Baroreflex responses to electrical stimulation of aortic depressor nerve in conscious SHR**

Helio C. Salgado<sup>1</sup>, Álvaro R. Barale<sup>1</sup>, Jaci A. Castania<sup>1</sup>, Benedito H. Machado<sup>1</sup>, Mark W. Chapleau<sup>2</sup>, Rubens Fazan, Jr.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil; <sup>2</sup>Departments of Internal Medicine and Physiology & Biophysics, University of Iowa and Veterans Affairs Medical Center, Iowa City, IA, USA.

Running title: Aortic depressor nerve stimulation in conscious SHR.

Correspondence:

*Dr. Helio C. Salgado*

Department of Physiology

School of Medicine of Ribeirão Preto

University of São Paulo

Av. Bandeirantes, 3900

14049-900 Ribeirão Preto, SP, Brazil

Phone: 55 (16) 3602 3201

Fax: 55 (16) 3633 0017

E-mail: [hcsalgad@fmrp.usp.br](mailto:hcsalgad@fmrp.usp.br)

## ABSTRACT

Baroreflex responses to changes in arterial pressure are impaired in spontaneously hypertensive rats (SHR). Mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), and regional vascular resistances were examined before and during electrical stimulation (5-90 Hz) of the aortic depressor nerve (ADN) in conscious SHR and normotensive control rats (NCR). The protocol was repeated after  $\beta_1$ -adrenergic receptor blockade with atenolol. SHR exhibited higher basal MAP ( $150\pm 5$  vs.  $103\pm 2$  mmHg) and HR ( $393\pm 9$  vs.  $360\pm 5$  bpm). The frequency-dependent hypotensive response to ADN stimulation was preserved or enhanced in SHR. The greater absolute fall in MAP at higher frequencies ( $-68\pm 5$  vs.  $-38\pm 3$  mmHg at 90 Hz stimulation) in SHR was associated with a preferential decrease in hindquarter ( $-43\pm 5\%$ ) vs. mesenteric ( $-27\pm 3\%$ ) resistance. In contrast, ADN stimulation decreased hindquarter and mesenteric resistances equivalently in NCR ( $-33\pm 7\%$  and  $-30\pm 7\%$ ). Reflex bradycardia was also preserved in SHR although its mechanism differed. Atenolol attenuated the bradycardia in SHR ( $-88\pm 14$  vs.  $-129\pm 18$  bpm at 90 Hz stimulation), but did not alter the bradycardia in NCR ( $-116\pm 16$  vs.  $-133\pm 13$  bpm). The residual bradycardia under atenolol (parasympathetic component) was reduced in SHR. The results indicate: 1) baroreflex-mediated decreases in MAP and HR are preserved in conscious SHR; 2) the mechanisms responsible for hypotension and bradycardia differ in SHR vs. NCR; hindquarter vasodilatation is preferentially augmented and baroreflex-mediated withdrawal of sympathetic tone compensates for impaired parasympathetic control of HR in SHR. We conclude that bypassing mechano-sensory transduction with electrical stimulation of baroreceptor afferents effectively reduces MAP and HR in conscious SHR.

**Key words:** SHR, aortic depressor nerve, baroreflex, arterial pressure, heart rate, atenolol.



## INTRODUCTION

Baroreceptor afferent sensitivity (1,2,10,27) and baroreflex-mediated changes in heart rate (HR) (15,24) are consistently impaired in spontaneously hypertensive rats (SHR). More controversial is baroreflex control of sympathetic nerve activity, which has been reported to be impaired (8), preserved (12,21) or augmented (30) in SHR. The inconsistent findings may reflect, in part, differential baroreflex control of sympathetic activity to different regions and use of anesthesia in many of the studies. In the majority of studies, baroreflex responses were measured in response to drug-induced changes in arterial blood pressure (BP), which does not allow assessment of reflex changes in vascular resistance.

The goal of the present study was to compare the magnitude of reflex responses to electrical stimulation of baroreceptor afferents in the aortic depressor nerve (ADN) in conscious normotensive control rats (NCR) and SHR. This approach allowed us to assess not only the fall in HR, but also the decrease in BP and regional vascular resistances. Furthermore, we hypothesized that electrical activation of baroreceptor afferents would more effectively inhibit HR and BP in SHR due to bypassing mechano-sensory transduction which is known to be impaired in SHR (1,2,10,27) and the importance of elevated sympathetic activity in mediating the hypertension in this model (6,16,17,25). Impaired baroreflex control of HR in SHR has been attributed primarily to a defect in parasympathetic control (15,24). In order to assess the relative roles of parasympathetic activation and sympathetic inhibition to the reflex decreases in BP, we recorded responses to ADN stimulation both before and after administration of the beta-1 adrenergic receptor blocker atenolol.

Reflex responses to electrical stimulation of baroreceptor afferents have been studied in a variety of species, usually under anesthesia due to technical difficulties in implementing the technique in conscious animals. To our knowledge, all of the previous studies that have examined responses to ADN stimulation in SHR have been carried out under anesthesia (11,13,26,31), which can profoundly influence baseline parasympathetic and sympathetic tone, peripheral vascular resistance, and the central mediation of the baroreflex (31).

Recently, there has been a resurgence of interest in using electrical stimulation of baroreceptor afferents as a means to lower BP in conscious dogs and patients with hypertension (19,20,28). We recently developed a technique to stimulate the aortic depressor nerve (ADN) in conscious freely-moving rats (7,23) and have employed this methodology in the present study to investigate baroreflex function in SHR.

## **MATERIALS AND METHODS**

Male NCR (Wistar) and SHR (18-22 weeks of age, 270-340g) were used in the present study. All procedures were reviewed and approved by the Committee of Ethics in Animal Research at the University of São Paulo, School of Medicine at Ribeirão Preto.

The methodological approach to stimulate the left ADN and record simultaneously the BP, HR and regional blood flows has been described elsewhere (7,23). Briefly, under thiopental sodium anesthesia (40 mg/kg, Sigma, St. Louis, MO) the ADN was carefully isolated and placed on a bipolar platinum electrode. The correct identification of the nerve was confirmed by its typical pattern of discharge synchronous with arterial pulse pressure. The ADN was covered with silicone impression material (Super-Dent, Carlisle Laboratories, Inc., Rockville Center, NY). A 30 min period was allowed for complete polymerization of the silicone impression material, and the activity of the nerve was recorded again to verify the integrity of the signal. Once the integrity of the signal was confirmed, the fine platinum wires of the electrodes were exteriorized on the back of the rats and soldered to a small plug to be connected to the electrical stimulator.

Under the same anesthesia, the femoral artery and vein were catheterized with polyethylene tubing (PE 50 and PE 10, Intramedic, Becton Dickinson and Company, Sparks, MD) for arterial BP recording and intravenous drug administration, respectively. In addition, a laparotomy was performed for the placement of miniaturized Doppler probes (Iowa Doppler Products, Iowa City, IA) around the superior mesenteric artery or inferior abdominal aorta in order to measure changes in blood flow velocity and calculate mesenteric or hindquarter vascular resistance, respectively. Catheters and flow probes were

exteriorized on the back of the rats and surgical incision sites were closed using sutures. Twenty-four hours after the end of the surgery, the rats were connected to the recording system which consisted of a pressure transducer (Statham, P23Gb, Hato Hey, PR), a Pulsed Doppler Flowmeter (545C-4, Bioengineering, The University of Iowa, IA), and the electrical stimulator (EMG/EP, N200/A, System BioMed, Hungary). The signals, i.e. pulsatile arterial pressure, mean arterial pressure (MAP), and regional (mesenteric or hindquarter) blood flow velocity were fed to an IBM/PC equipped with a 12 bit analog to digital interface (CAD 12/36 Lynx Eletrônica, São Paulo, SP, Brazil) and continuously sampled (500 Hz).

Cardiovascular variables were recorded for at least 15 min before electrical stimulation of the ADN (1mA, 2 ms pulse length, for 5s) at 5, 10, 15, 30, 50, 70 and 90 Hz in a random sequence, before and after the administration of the  $\beta_1$ -adrenergic receptor blocker atenolol (2 mg/kg, iv, Sigma, St. Louis, MO). Each stimulus was applied for 5s at intervals of at least 5 min. After the administration of atenolol, we waited 15 min before beginning a new series of electrical stimulations. The differences between the pre-stimulation baseline levels of MAP, HR, and vascular resistances and the maximum changes in these variables elicited by each frequency of electrical stimulation were quantified. Changes in vascular resistance ( $\Delta VR\%$ ) were calculated for mesenteric and hindquarter vascular beds as described by Haywood et al (14).

Data are presented as means  $\pm$  SEM. Frequency-response data for ADN stimulation in SHR and NCR were analyzed by repeated measures two-way ANOVA (group: SHR vs. NCR; repeated measures: stimulus frequency). Within each group of rats, the magnitude of changes in hindquarter and mesenteric vascular resistances were compared using a separate 2-way ANOVA. The effects of atenolol on the frequency-response data in each group were analyzed by repeated measures 2-way ANOVA. When ANOVA was significant, the Tukey's multiple comparison post-hoc test was used to test for differences between means. Baseline values of MAP, HR, and vascular resistances before and after atenolol were compared by paired t-test. Differences in baseline values in NCR vs. SHR were compared by unpaired t-test. Differences were considered significant when  $P < 0.05$ .

## RESULTS

### Basal MAP and HR Before and After Atenolol

The basal level of MAP in SHR was higher than in NCR ( $150\pm 5$  vs.  $103\pm 2$  mmHg). SHR also had a significantly higher HR than NCR ( $393\pm 9$  vs.  $360\pm 5$  bpm). Atenolol decreased basal HR to a significantly greater extent in SHR (from  $393\pm 9$  to  $340\pm 4$  bpm,  $\Delta=53\pm 8$  bpm) than in NCR (from  $360\pm 5$  to  $349\pm 5$  bpm,  $\Delta=11\pm 4$  bpm). Atenolol did not change basal MAP in NCR ( $103\pm 2$  vs.  $105\pm 2$  mmHg), but did slightly increase MAP in SHR (from  $150\pm 5$  to  $163\pm 3$  mmHg).

### Hemodynamic Responses to Electrical Stimulation of ADN

Figure 1 illustrates the hypotension, bradycardia, and decrease in hindquarter vascular resistance elicited by electrical stimulation (30 Hz) of the ADN in conscious NCR and SHR. Figure 2 illustrates the responses to ADN stimulation in another pair of rats (NCR and SHR) that depict the fall in mesenteric vascular resistance. The group data for the changes in MAP and HR elicited by electrical stimulation of ADN are summarized in Figure 3. ADN stimulation caused significant frequency-dependent decreases in MAP and HR (Figure 3). The absolute decreases in MAP (mmHg) were similar in NCR vs. SHR at low frequencies of ADN stimulation and significantly larger in SHR at higher frequencies of stimulation (Figure 3). The frequency-dependent reflex decreases in HR in response to ADN stimulation were not significantly different in SHR vs. NCR (Figure 3).

ADN stimulation significantly decreased both hindquarter and mesenteric vascular resistances in both NCR and SHR (Figures 1, 2, and 4). NCR showed similar decreases in mesenteric and hindquarter vascular resistance. On the other hand, the reflex decrease in hindquarter vascular resistance was significantly greater than the decrease in mesenteric vascular resistance in SHR (Figure 4).

### Effects of Atenolol on Responses to Electrical Stimulation of ADN

The group data for changes in MAP and HR elicited by electrical

stimulation of the ADN, before and after blockade of  $\beta_1$ -adrenergic receptors with atenolol are summarized in Figure 5. In NCR, stimulation of the ADN produced frequency-dependent decreases in both MAP and HR, neither of which was affected by atenolol (Figure 5). As observed in NCR, atenolol did not influence baroreflex-mediated decreases in MAP in SHR (Figure 5). In contrast, atenolol significantly attenuated the reflex decreases in HR in SHR (Figure 5). The residual parasympathetic-mediated baroreflex bradycardia in the presence of atenolol was significantly reduced in SHR compared with that in NCR (Figure 5). The magnitude of the reflex decrease in HR evoked by 90 Hz ADN stimulation averaged  $-116 \pm 16$  bpm in NCR and  $-88 \pm 14$  bpm in SHR ( $P < 0.05$ ). Atenolol did not influence the baroreflex-mediated decreases in hindquarter and mesenteric vascular resistances in either NCR or SHR (data not shown).

## DISCUSSION

The major new findings of the present study are that baroreflex-mediated decreases in MAP and HR elicited by electrical stimulation of the ADN are preserved in conscious SHR and that the mechanisms responsible for the hypotension and bradycardia differ in SHR vs. NCR. Hindquarter vasodilatation is preferentially augmented and baroreflex-mediated withdrawal of sympathetic tone compensates for impaired parasympathetic control of HR in SHR.

Our results are discussed in relation to previous studies of baroreflex function in SHR, use of the ADN stimulation method to study the baroreflex, and the implications of our findings.

### Previous Studies

Baroreceptor afferent sensitivity (1,2,10,27) and baroreflex-mediated changes in heart rate (HR) (15,24) are consistently impaired in SHR. The decreased baroreflex sensitivity for control of HR has been attributed primarily to a defect in parasympathetic control (15,24). Our finding that the HR response to ADN stimulation in SHR is preserved before blockade of  $\beta_1$  receptors with atenolol but attenuated after  $\beta_1$  receptor blockade is consistent with the notion of a selective defect in the parasympathetic limb of baroreflex control of HR in SHR.

The lack of effect of atenolol on baroreflex-mediated bradycardia in NCR was expected. The baroreceptor reflex bradycardia during rapid increases in BP is normally mediated by the parasympathetic nervous system in conscious rats (15,29). Furthermore, in a previous study we showed that the bradycardia elicited by brief stimulation of the ADN in conscious NCR was abolished by methylatropine (7), confirming the predominant role of the parasympathetic nervous system in mediating rapid bradycardic responses to brief increases in baroreceptor activity. Our results indicate that withdrawal of sympathetic activity contributes significantly to baroreflex-mediated bradycardia in SHR but not NCR. This effect may relate, in part, to the higher basal level of cardiac sympathetic tone in SHR, supported in the present study by the significantly greater fall in HR after atenolol administration in SHR vs. NCR. The absence of a sympathetic component of baroreflex bradycardia in NCR may reflect, in part, the low basal sympathetic tone in conscious NCR.

In contrast to our results in conscious SHR, bradycardic responses to ADN stimulation were blunted in anesthetized SHR compared with NCR (13,26,31). We suspect that the different results may reflect an effect of anesthesia; the basal HR in SHR was higher and the magnitude of the reflex bradycardia substantially greater in both NCR and SHR when the rats were conscious (present study) compared to when the rats were anesthetized (26,31).

Similarly, previous studies have shown that the depressor response to ADN stimulation is either attenuated or unaltered in anesthetized SHR (11,13,31). In contrast, we have demonstrated that the absolute decrease in MAP was significantly augmented in conscious SHR vs. NCR (Figure 3). Interestingly, the enhancement of the depressor response in SHR was only evident at high frequencies of ADN stimulation (30-90 Hz); decreases in BP were similar in SHR and NCR at low frequencies of stimulation (5-15 Hz) (Figure 3). We speculate that the relatively low levels of resting sympathetic activity and vascular resistance in NCR may be effectively inhibited by relatively low frequencies of baroreceptor stimulation, whereas higher frequencies of stimulation are needed to fully inhibit the high sympathetic activity in SHR.

In addition to the presence or absence of anesthesia, the differences between our results and those of previous studies may reflect differences in the

duration of ADN stimulation. Impairment of baroreflex-mediated decreases in sympathetic nerve activity and BP in anesthetized SHR is most evident during a prolonged period of ADN stimulation (>15 s) (11,31). In the present study, the period of left ADN stimulation was limited to 5 seconds in order to minimize the buffering influence of other baroreceptor afferents in the right ADN and carotid sinus nerves.

The reflex fall in BP in response to ADN stimulation is likely mediated by the decrease in peripheral vascular resistance that we (Figure 4) (7) and others have measured during periods of baroreceptor activation. The finding that attenuation of the HR response to baroreceptor stimulation by cardiac autonomic blockade does not affect the BP (Figure 5) or regional vascular resistance responses (9) suggests a lack of, or minimal contribution of decreased cardiac output to the fall in BP. Interestingly, the enhanced depressor response to ADN stimulation in SHR was associated with preferential vasodilation in the hindlimb compared with the mesenteric vascular bed. This result is consistent with previous studies that demonstrated a stronger baroreflex influence on hindlimb vs. mesenteric vascular resistance (7,9,22) and a minimal contribution of the mesenteric vasculature to the elevated peripheral vascular resistance in SHR (17).

#### Assessment of Baroreflex by Response to ADN Stimulation

In the present study, we chose to activate the baroreflex by electrical stimulation of baroreceptor afferents for the following reasons: 1) to enable assessment of reflex changes in vascular resistance and BP; 2) to bypass the site of baroreceptor mechano-electrical transduction that is known to be impaired in SHR; 3) the feasibility of using the method in conscious rats; and 4) the recent demonstration that electrical activation of baroreceptor afferents can produce a sustained decrease in BP with potential therapeutic applications to chronic hypertension.

It is important to realize that the preserved or enhanced baroreflex control of BP observed in the present study does not mean that the reflex is normal or augmented in SHR under normal conditions. Clearly, baroreceptor afferent sensitivity (1,2,3,5,10,18,27) and cardiovagal baroreflex control of HR (15,24) are impaired in SHR. The bypassing of baroreceptor sensory

transduction with ADN stimulation likely facilitated our demonstration of preserved or enhanced baroreflex control of BP in conscious SHR.

Furthermore, one must consider that the electrical stimulus to the ADN in the present experiments is different than that which occurs during increases in BP. The stimulus parameters used in this study (1 mA pulses of 2 ms duration at various frequencies for 5 s) are expected to simultaneously activate a large percentage of both myelinated and nonmyelinated baroreceptor afferent fibers in the ADN and generate a train of action potentials at constant frequency in these fibers. In contrast, in the intact animal the recruitment pattern of individual baroreceptor fibers varies depending on the BP level and fiber type, and the pattern of action potential firing is pulsatile (in phase with the arterial pressure pulse) instead of continuous (4).

Another important factor to consider is the duration of the period of baroreceptor activation. The results of previous studies suggest that impairment of baroreflex-mediated decreases in sympathetic nerve activity and BP in SHR is most evident during sustained periods of baroreceptor stimulation; the immediate reflex response is relatively preserved (11,31). We limited the duration of ADN stimulation to 5 seconds in order to minimize buffering of the reflex change in BP by other baroreceptor afferents in the carotid sinus nerves and contralateral ADN. Future studies are needed to determine if the augmented depressor responses to high-frequency stimulation of ADN in SHR are maintained throughout more prolonged periods of ADN stimulation.

## Perspectives

The concept of decreased baroreflex sensitivity in hypertension is widely accepted, and is supported by numerous studies in humans and animal models, including SHR. The evidence for decreased baroreflex sensitivity in SHR comes mostly from studies of baroreflex control of HR, and studies of control of sympathetic nerve activity and BP in anesthetized rats. In the present study, we used a novel preparation that enables measurement of responses to electrical stimulation of baroreceptor afferents in the ADN in conscious rats (7,23).

The results demonstrate that baroreceptor-mediated decreases in HR, vascular resistance, and BP in response to ADN stimulation are preserved or even enhanced in conscious SHR. The preservation of baroreflex function can



be attributed to the fact that ADN stimulation bypasses the site of BP sensing in baroreceptor terminals which is known to be impaired in SHR, and to the high level of resting sympathetic activity in SHR that may be susceptible to baroreflex inhibition.

The effective baroreflex-mediated decreases in vascular resistance and BP encourage further investigation into the use of electrical activation of baroreceptor afferents in the treatment of chronic hypertension. In fact, recent studies have demonstrated sustained reductions in BP during chronic electrical activation of carotid sinus baroreceptor afferents in conscious dogs and humans with hypertension (19,20,28).

## **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors thank Mr. Mauro Oliveira and Mr. Carlos Alberto Aguiar da Silva for excellent technical assistance.

This work was supported by FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), PRONEX (Programa de Apoio a Núcleos de Excelência) and CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

## REFERENCES

1. Andresen MC, Krauhs JM, Brown AM. Relationship of aortic wall and baroreceptor properties during development in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 43: 728-738, 1978.
2. Andresen MC, Yang M. Rapid baroreceptor resetting is unaltered by chronic hypertension in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 256: H1228-H1235, 1989.
3. Brown A. Receptors under pressure: An update on baroreceptors. *Circ Res* 46: 1-10, 1980.
4. Chapleau MW, Abboud FM. Contrasting effects of static and pulsatile pressure on carotid baroreceptor activity in dogs. *Circ Res* 61: 648-658, 1987.
5. Chapleau MW, Hajduczuk G, Abboud FM. Mechanisms of resetting of arterial baroreceptors: An overview. *Am J Med Sci* 295: 327-334, 1988.
6. Coote JH, Sato Y. Reflex regulation of sympathetic activity in the spontaneously hypertensive rat. *Circ Res* 40: 571-577, 1977.
7. De Paula PM, Castania JA, Bonagamba LGH, Salgado HC, and Machado BH. Hemodynamic responses to electrical stimulation of the aortic depressor nerve in awake rats. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 277: R31-R38, 1999.
8. DiBona GF, Jones SY, Sawin LL. Reflex effects on renal nerve activity characteristics in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 30: 1089-1096, 1997.
9. Faber JF, Brody MJ. Reflex hemodynamic response to superior laryngeal nerve stimulation in the rat. *J Auton Nerv Syst* 9: 607-622, 1983.
10. Fazan VPS, Fazan Jr R, Salgado HC, Barreira AA. Morphology of aortic depressor nerve myelinated fibers in normotensive Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *J Auton Nerv Syst* 77: 133-139, 1999.

11. Gonzalez ER, Krieger AJ, Sapru HN. Central resetting of baroreflex in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 5: 346-352, 1983.
12. Harada S, Imaizumi T, Ando S, Hirooka Y, Sunagawa K, Takeshita A. Arterial baroreflex dynamics in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 263: R524-R528, 1992.
13. Hayward LF, Riley AP, Felder RB.  $\alpha_2$ -Adrenergic receptors in NTS facilitate baroreflex function in adult spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H2336-H2345, 2002.
14. Haywood JR, Shaffer RA, Fastenow C, Fink GD, Brody MJ. Regional blood flow measurement with pulsed Doppler flowmeter in conscious rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 241: H273-H278, 1981.
15. Head GA, Adams MA. Time course of changes in baroreceptor reflex control of heart rate in conscious SHR and WKY: contribution of the cardiac vagus and sympathetic nerves. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 15: 289-292, 1988.
16. Iriuchijima J. Sympathetic discharge rate in spontaneously hypertensive rats. *Jpn Heart J* 14: 350-356, 1973.
17. Iriuchijima J. Regional distribution of vasoconstrictor tone in conscious spontaneously hypertensive rats. *Jpn J Physiol* 36: 1101-1111, 1986.
18. Krieger EM, Salgado HC, Michelini LC. Resetting of the baroreceptors. In: *Cardiovascular Physiology IV, International Review of Physiology* 26, edited by Guyton AC and Hall JE. Baltimore, MD: University Park Press; p.119-146, 1982.
19. Lohmeier TE, Irwin ED, Rossing MA, Serdar DJ, Kieval RS. Prolonged activation of baroreflex produces sustained hypotension. *Hypertension* 43: 306-311, 2004.

20. Lohmeier TE, Dwyer TM, Hildebrandt DA, Irwin ED, Rossing MA, Serdar DJ, Kieval RS. Influence of prolonged baroreflex activation on arterial pressure in angiotensin hypertension. *Hypertension* 46: 1194-1200, 2005.
21. Lundin S, Ricksten SE, Thoren P. Interaction between "mental stress" and baroreceptor reflexes concerning effects on heart rate, mean arterial pressure and renal sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 120: 273-281, 1984.
22. Machado BH, Bonagamba LGH, Castania JA, Menani JV. Aortic baroreceptors play a predominant role in the regulation of hindlimb vascular resistance in rats. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 267: R476-R480, 1994.
23. Machado BH, Castania JA, Bonagamba LGH, Salgado HC. Neurotransmission of autonomic components of aortic baroreceptors afferents in the NTS of awake rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279: H67-H75, 2000.
24. Minami N, Head GA. Relationship between cardiovascular hypertrophy and cardiac baroreflex function in spontaneously hypertensive and stroke-prone rats. *J Hypertens* 11: 523-533, 1993.
25. Morrison SF, Whitehorn D. Baroreceptor reflex gain is not diminished in spontaneous hypertension. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 243: R500-R505, 1982.
26. Ohta H, Talman WT. Alteration of baroreceptor and chemoreceptor reflexes in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 22: S60-S61, 1995.
27. Sapru HN, Wang SC. Modification of aortic baroreceptor resetting in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol* 230: 664-74, 1976.
28. Sica D, Lohmeier T, Schimidli J, Mohaupt M. Baroreflex therapy in resistant hypertension. *Hypertension* 46: 825-826, 2005 (Abstract).

29. Stornetta RL, Guyenet PG, and McCarty RC. Autonomic nervous system control of heart rate during baroreceptor activation in conscious and anesthetized rats. *J Auton Nerv Syst* 20:121-127, 1987.
30. Thoren P. Efferent renal nerve traffic in spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens* 9: 259-279, 1987.
31. Yin M, Sved AF. Role of  $\gamma$ -aminobutyric acid B receptors in baroreceptor reflexes in hypertensive rats. *Hypertension* 27: 1291-1298, 1996.

## FIGURE LEGENDS

**Figure 1.** Typical tracings from a normotensive control rat (NCR) and a spontaneously hypertensive rat (SHR) showing pulsatile and mean arterial pressure (top), heart rate (middle) and hindquarter vascular resistance (bottom) before, during, and after 5 seconds of electrical stimulation (ES) of the aortic depressor nerve (1mA pulses, 2ms duration, 30Hz).

**Figure 2.** Typical tracings from a normotensive control rat (NCR) and a spontaneously hypertensive rat (SHR) showing pulsatile and mean arterial pressure (top), heart rate (middle) and mesenteric vascular resistance (bottom) before, during, and after 5 seconds of electrical stimulation (ES) of the aortic depressor nerve (1mA pulses, 2ms duration, 30Hz).

**Figure 3.** Frequency-dependent changes in mean arterial pressure ( $\Delta$ MAP) and heart rate ( $\Delta$ HR) in response to electrical stimulation of the aortic depressor nerve (1mA pulses, 2ms duration), in normotensive control rats (NCR) and spontaneously hypertensive rats (SHR). Data are presented as mean $\pm$ SEM. \* Significant difference SHR vs. NCR, ANOVA and Tukey's test,  $P < 0.05$ .

**Figure 4.** Frequency-dependent changes in hindquarter and mesenteric vascular resistances, in response to electrical stimulation of the aortic depressor nerve (1mA pulses, 2ms duration) in normotensive control rats (NCR, Upper Panel) and spontaneously hypertensive rats (SHR, Lower Panel). Data are presented as mean $\pm$ SEM. \* Significant difference hindquarter vs. mesenteric vascular resistance, ANOVA and Tukey's test,  $P < 0.05$ .

**Figure 5.** Frequency-dependent changes in mean arterial pressure ( $\Delta$ MAP) and heart rate ( $\Delta$ HR) in response to electrical stimulation of the aortic depressor nerve (1mA pulses, 2ms duration) before (basal) and after atenolol in

normotensive control rats (NCR, Left Panel) and spontaneously hypertensive rats (SHR, Right Panel). Data are presented as mean $\pm$ SEM. \* Significant difference before (basal) vs. after atenolol,  $P < 0.05$ .



Figure 1

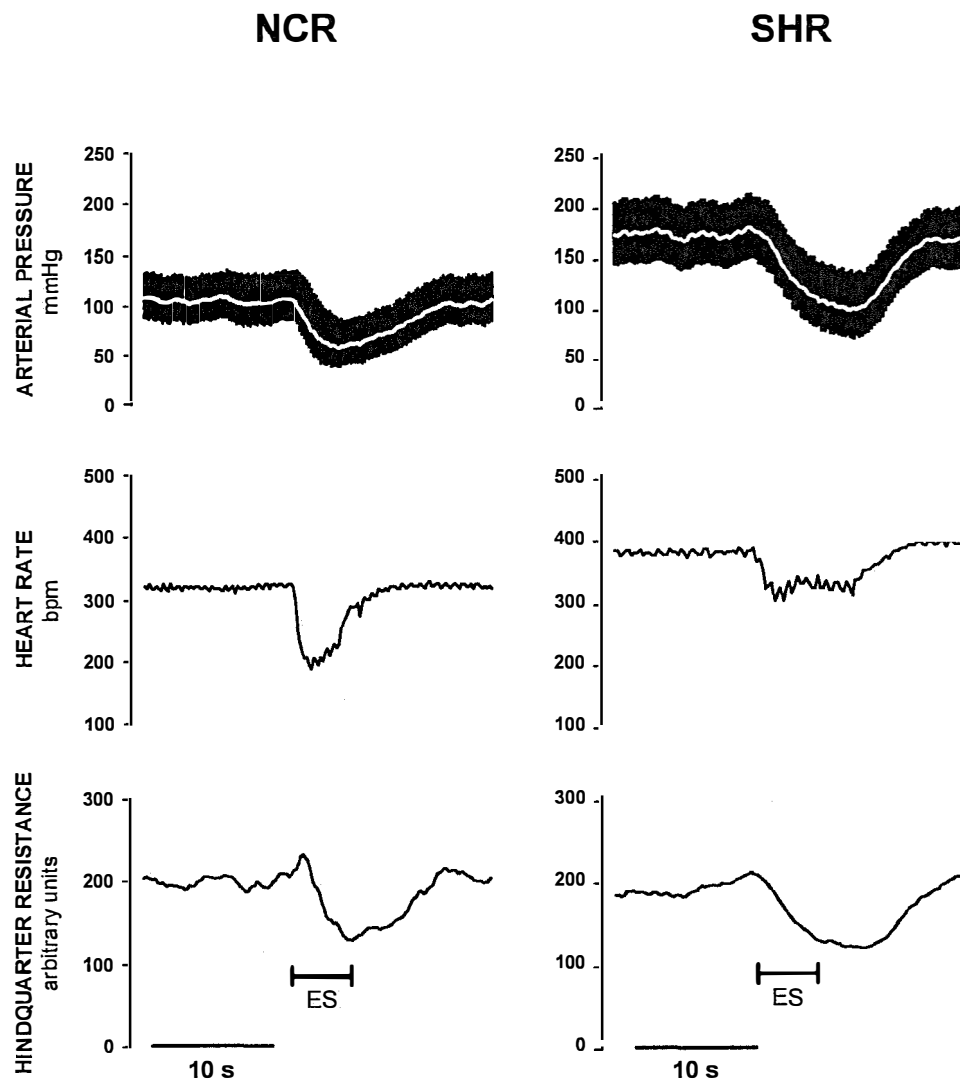


Figure 2

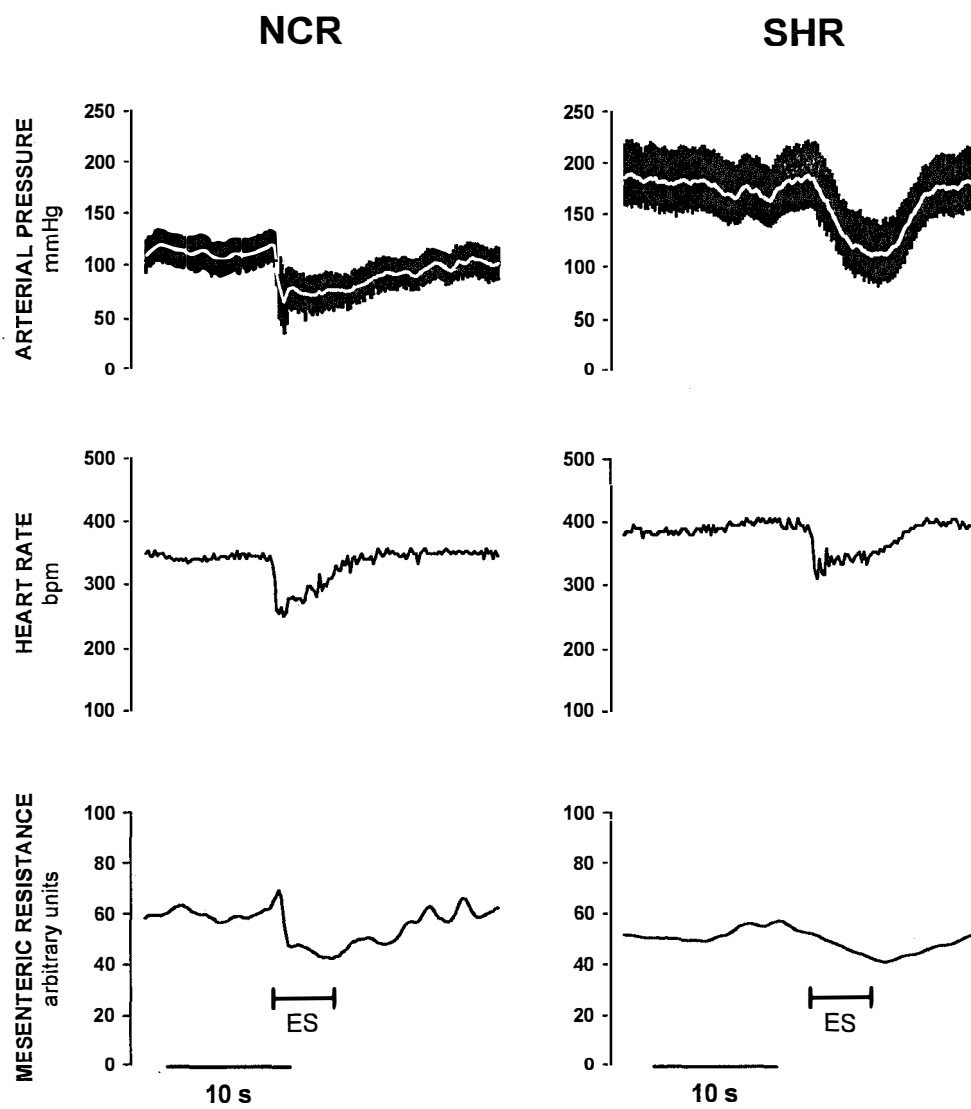


Figure 3

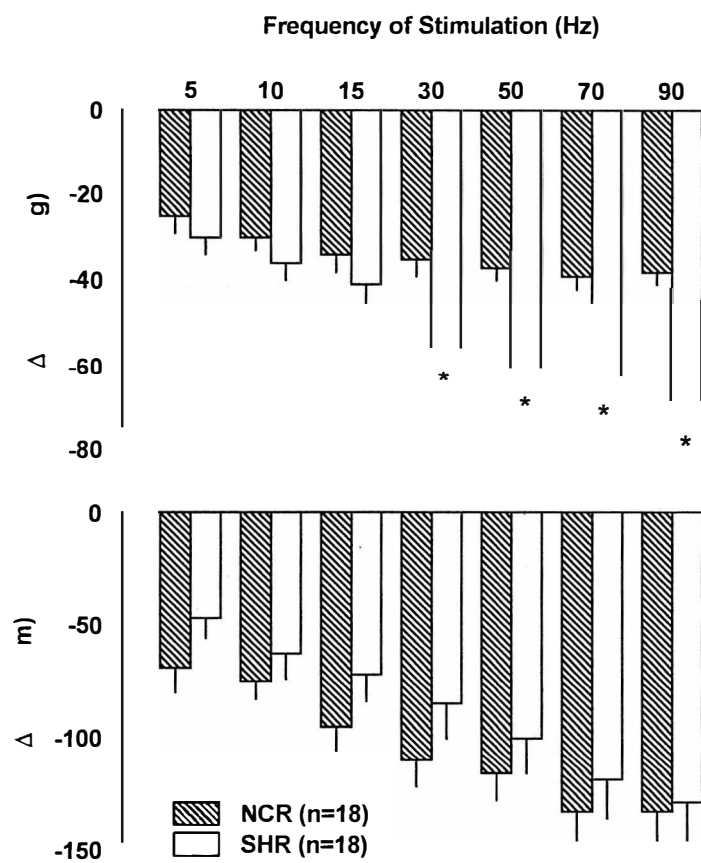


Figure 4

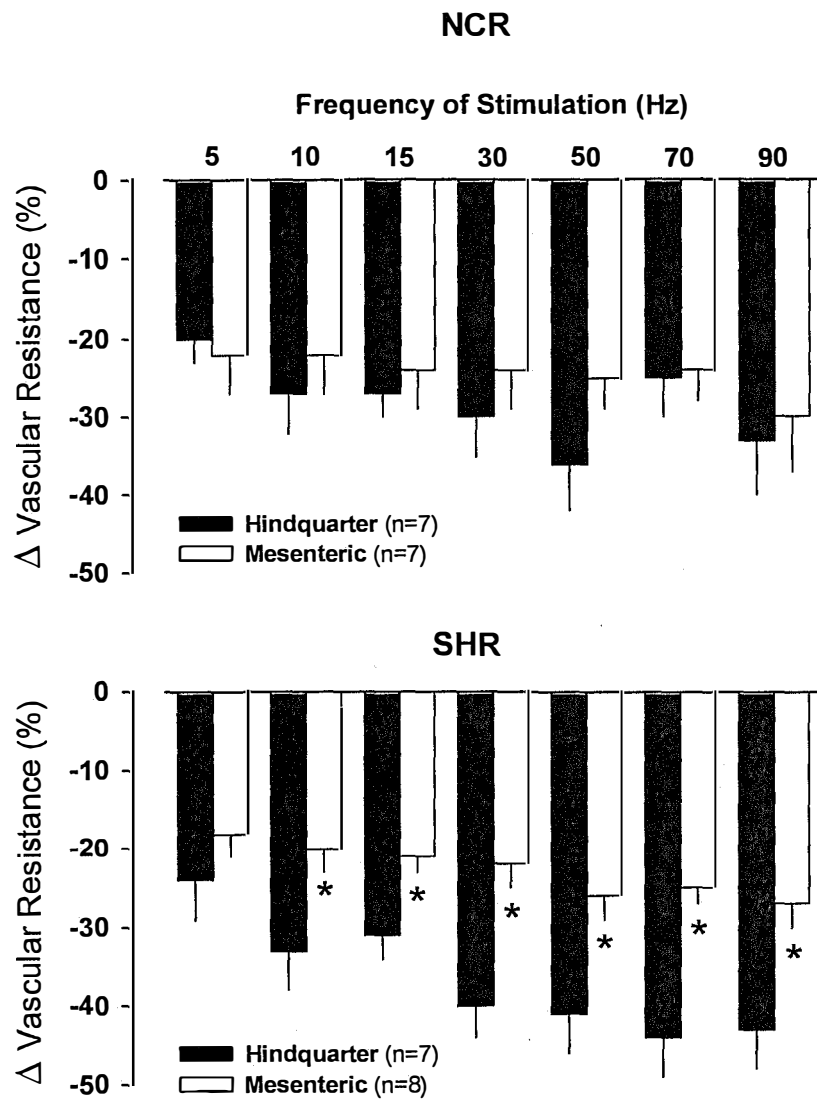


Figure 5

