

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

LETÍCIA PALOTA EID

Farmacoterapia e análise de mediadores gasosos em pacientes hipertensos

Ribeirão Preto
2014

LETÍCIA PALOTA EID

Farmacoterapia e análise de mediadores gasosos em pacientes hipertensos

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de doutora em Enfermagem
Fundamental

Área de concentração: Enfermagem Fundamental

Linha de Pesquisa: Processo de cuidar do adulto
com doenças agudas e crônicas degenerativas

Orientadora: Prof^a Dr^a Evelin Capelari Cárnio

Ribeirão Preto
2014

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

Eid, Letícia Palota

Farmacoterapia e análise de mediadores gasosos em pacientes hipertensos

105p.: Il; 30cm

Tese de Doutorado apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Enfermagem Fundamental.

Orientadora: Cárnio, Evelin Capellari.

1. Óxido nítrico. Ácido sulfídrico. Agentes anti-hipertensivos

Nome: Letícia Palota Eid

Título: Farmacoterapia e análise de mediadores gasosos em pacientes hipertensos

Tese apresentada à Escola de Enfermagem
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de doutora em
enfermagem.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu maior tesouro, meu presente de Deus, minha filha Ana Clara.

Aos meus pais, Carlos Roberto (in memorian) e Sônia, pelo exemplo de amor, por terem acreditado em mim, instruírem meu caminho, serem minha força de cada dia, minha luz em cada dúvida, por adiarem os seus sonhos para realização dos meus e por serem os autores do que hoje sou.

Ao meu marido, pela incansável compreensão e auxílio. Meu amor!

À minha mãe Sônia, pela sua dedicação, carinho, tempo e por outras mil coisas. Minha mamãe!

Ao meu irmão, Lucas Roberto, por estar tão presente em minha vida.

Aos meus familiares, pelo apoio, incentivo e admiração!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, por ser a fonte da minha existência e meu sustento a cada dia. Autor de todas as obras!

*À Prof^a Dr^a Evelin Cappelari Cárnio, pela orientação, paciência, sabedoria e inspiração. Uma pessoa especial, carinhosa e humana que tive a feliz oportunidade de ter como orientadora e amiga. Minha gratidão, admiração e carinho!
Obrigada por me proporcionar essa vitória!*

*À Prof^a Dr^a Maria Suely Nogueira pelo imenso carinho e valiosos ensinamentos. Uma professora, uma amiga, uma pessoa extremamente sensível e dócil.
Minha gratidão e admiração!*

*À Prof^a Dr^a Cláudia Bernardi Cesarino, que me inspirou os primeiros passos na pesquisa e me encaminhou pra alcançar essa vitória. Professora e amiga inesquecível!
Minha admiração e gratidão.*

À Prof^a Dr^a Maria Suely Nogueira e Prof^a Dr^a Eugênia Velludo Veiga pelas contribuições no exame de qualificação.

À minha prima e amiga Lais pela cumplicidade e presença em momentos muito difíceis!

Às minhas cunhadas e amigas Karla e Bruna pela colaboração técnica no final desse trabalho.

À Prefeitura Municipal de Novo Horizonte, em especial à Secretaria da Saúde, pelo incentivo, sem o qual não seria possível a concretização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia da EERP/USP pelo apoio na concretização deste trabalho.

RESUMO

EID, L. P. **Farmacoterapia e análise de mediadores gasosos em pacientes hipertensos**. 2014. 105f. Tese (Doutorado). Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

O presente estudo teve com objetivo avaliar o efeito do uso de anti-hipertensivos pertencentes às classes medicamentosas antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina nas concentrações plasmáticas de ácido sulfídrico e óxido nítrico em portadores de hipertensão arterial sistêmica. Trata-se de estudo transversal com abordagem quantitativa realizado com 36 hipertensos em uso de anti-hipertensivos das classes inibidores da enzima conversora de angiotensina ou antagonistas dos canais de cálcio, submetidos à coleta de uma amostra de sangue venoso para quantificação das concentrações de óxido nítrico e ácido sulfídrico. Verificou-se que a concentração de óxido nítrico plasmático foi significativamente maior em hipertensos que estavam em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina ($p < 0.03$) e que a concentração de ácido sulfídrico plasmático foi significativamente maior em hipertensos em uso de antagonistas dos canais de cálcio ($p < 0.002$). Não foi observada correlação entre esses dois mediadores gasosos durante o tratamento com inibidores da enzima conversora de angiotensina nem com antagonistas dos canais de cálcio. Esses achados sugerem que essas medicações possuem como mecanismo de ação adicional a melhora da disfunção endotelial por elevar os níveis plasmáticos de substâncias vasodilatadoras, o que colabora com seus efeitos anti-hipertensivos.

Palavras-chave: Óxido nítrico. Ácido sulfídrico. Agentes anti-hipertensivos.

ABSTRACT

EID, L. P. **Pharmacotherapy and analysis of gaseous mediators in hypertensive patients.** 2014. 104f. Thesis (Doctorate). Nursing School of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

The present study aimed to evaluate the effect of the use of antihypertensive belonging to blockers drugs orders of calcium and angiotensin-converting enzyme inhibitors in plasma hydrogen sulfide and nitric oxide in systemic arterial hypertension carriers. It is a transversal study with a quantitative approach conducted with 36 hypertensive patients in use of antihypertensive classes of inhibitors of angiotensin converting enzyme and calcium channel antagonists, underwent collection of a venous blood sample for quantification of nitric oxide concentrations and hydrogen sulfide. It was found that the plasma concentration of nitric oxide was significantly higher in hypertensive patients who were using inhibitors of angiotensin converting enzyme ($p < 0.03$) and that the plasma concentration of hydrogen sulfide was significantly greater in hypertensive on channel antagonists calcium ($p < 0.002$). No correlation between these two gaseous mediators was observed during treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors or antagonists of calcium channels. These findings suggest that these medications have such additional action mechanism improves endothelial dysfunction by elevating plasma levels of vasodilators, which collaborates with its antihypertensive effects.

Descriptors: Nitric oxide; Hydrogen sulphide; Antihypertensive agents.

RESUMEN

EID, L. P. **Farmacoterapia y el análisis de los mediadores de gaseosas en los pacientes hipertensos**. 2014. 104f. Tese (Doctorado). Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del uso de antihipertensivos pertenecientes a las clases medicamentosas bloqueadoras de los canales de calcio y inhibidores de la enzima convertidora angiotensina en las concentraciones plasmáticas de ácido sulfídrico y óxido nítrico en portadores de hipertensión arterial sistémica. Tratarse de estudio transversal con abordaje cuantitativa realizado con 36 hipertensos en uso de antihipertensivos de las clases inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o antagonista de los canales de calcio, sometidos a la recolección de una muestra de sangre negra para cuantificación de las concentraciones de óxido nítrico y ácido sulfídrico. Se encontró que la concentración de óxido nítrico plasmático fue significativamente mayor em hipertenso que estaban en uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina ($p < 0.03$) y que la concentración de ácido sulfídrico pláístico fue significativamente mayor en hipertensos en uso de antagonista de los canales de calcio ($p < 0.002$). No se observó correlación entre estos dos mediadores gaseosos durante el tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina ni con los antagonistas de los canales de calcio. Estos hallados sugieren que estos medicaciones tienen como mecanismo de acción adicional la mejora de la disfunción endotelial por elevar los niveles plasmáticos de las sustancias vasodilatadoras que colaboran con sus efectos antihipertensivos.

Descriptores: El óxido nítrico; El sulfuro de hidrógeno; Agentes antihipertensivos

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação da Hipertensão Arterial Sistêmica.....	20
Tabela 2- Distribuição dos hipertensos segundo as variáveis demográficas.....	48
Tabela 3- Concentração de nitrato no plasma humano, segundo a classe medicamentosa em uso de ACC (antagonistas de canais de cálcio) e IECA (inibidores da enzima conversora de angiotensina)	98
Tabela 4- Concentração de Ácido Sulfídrico (H ₂ S) no plasma humano, segundo a classe medicamentosa em uso de ACC (antagonista de canais de cálcio) e IECA (inibidores da enzima conversora da angiotensina).....	99
Tabela 5- Distribuição dos hipertensos de acordo com a média da concentração de ácido sulfídrico (H ₂ S) no plasma humano segundo a classe medicamentosa em uso.....	101

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Concentrações de nitrato plasmático em pacientes hipertensos em uso de antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina.....49
- Figura 2- Concentrações de H₂S plasmático em pacientes hipertensos em uso de antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina.....50
- Figura 3- Correlação entre as concentrações de nitrato e H₂S plasmático em pacientes hipertensos com terapia medicamentosa com antagonistas dos canais de cálcio (p<0,09).....51
- Figura 4- Correlação entre as concentrações de nitrato e H₂S plasmático em pacientes hipertensos com terapia medicamentosa com inibidores da enzima conversora da angiotensina (p<0,32)51

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANG I	Angiotensina I
ANG II	Angiotensina II
ACC	Antagonistas de Canais de Cálcio
ARP	Atividade da Renina Plasmática
AT-1	Receptores do tipo 1 da Angiotensina II
ATP	Trifosfato de Adenosina
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BAT	Terapia de Ativação do Barorreflexo
B1R	Receptor B1
B2R	Receptor B2
BK	Bradicinina
CAT	Aminotransferase cisteína
CO	Monóxido de Carbono
CBS	Cistationina Beta-sintase
cAMP	Monofosfato Cíclico de Adenosina
cGMP	Monofosfato Cíclico de Guanosina
CNV	Compressão Neurovascular
CSE	Cistationina δ -liase
DMII	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo II
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EDRF	Fator Relaxante Derivado do Endotélio
EDHF	Fator Hiperpolarizante Derivado do Endotélio
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial

GC	Guanilato Ciclase
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
H ₂ S	Ácido Sulfídrico
IECA	Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina
K _{ATP}	Trifosfato de Adenosina Canais de Potássio Sensíveis
L-NAME	NG-nitro-L-arginina metil Ester
L-NMMA	NG-monometil-L-arginina
3-MST	3-mercaptopiruvato sulfurtransferase
NaHS	Hidrossulfeto de Sódio
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido nítrico-sintase
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAG	Propargilglicina
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PK	Proteína Quinase
RNS	Espécies de Nitrogênio Reativos
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RVLM	Região Rostroventrolateral da Medula
SAOS	Síndrome da Apnéia Obstrutiva do Sono
SM	Síndrome Metabólica
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
SRA	Sistema Renina Angiotensina
TLR4	Toll-like receptor 4

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcento
\geq	Maior ou igual que
<	Menor que
2KCl	Glucosamina Sulfato
Ca ²⁺	Cálcio
mg/kg	Miligrama por quilograma
mmHg	Milímetros de mercúrio
μ M	Micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Classificação da hipertensão arterial sistêmica	13
1.2 Regulação da pressão arterial e fisiopatologia da hipertensão arterial sistêmica...	14
1.3 Óxido nítrico	18
1.4 Ácido sulfídrico	20
1.5 Tratamento medicamentoso da hipertensão arterial.....	25
2 OBJETIVOS	36
3 MATERIAL E MÉTODO	38
3.1 Local onde o estudo foi desenvolvido.....	38
3.2 Consentimento livre e esclarecido.....	38
3.3 População	38
3.4 Procedimento de coleta de sangue venoso.....	39
3.5 Dosagem de óxido nítrico e ácido sulfídrico.....	43
3.6 Tratamento estatístico.....	45
4 RESULTADOS	47
4.1 Caracterização dos pacientes segundo as variáveis demográficas.....	47
4.2 Quantificação das concentrações de nitrato plasmático.....	48
4.3 Quantificação das concentrações de ácido sulfídrico plasmático	49

4.4 Análise de correlação entre as concentrações de nitrato e H₂S plasmáticos nos indivíduos hipertensos sob terapia medicamentosa com antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora da angiotensina.	50
5 DISCUSSÃO	53
5.1 Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina.....	55
5.2 Antagonistas de Canais de Cálcio	61
6 CONCLUSÃO.....	66
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
REFERÊNCIAS	70
APÊNDICES	95
ANEXOS	102

1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença cardiovascular comum e o fator de risco principal para acidente vascular cerebral (AVC) ou doenças cardíacas. Nos Estados Unidos, por exemplo, há uma taxa de prevalência de aproximadamente 40% em adultos acima de 20 anos, sendo praticamente igual entre homens e mulheres. Entre os adultos portadores de hipertensão, 80% sabem da sua condição, 71% usam anti-hipertensivos e apenas 48% daqueles que tem consciência da sua doença possuem a pressão arterial controlada (ROGER et al., 2011).

Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2010a) inquéritos populacionais em cidades brasileiras nos últimos 20 anos apontaram uma prevalência de HAS acima de 30%. Considerando-se valores de pressão arterial (PA) $\geq 140/90$ mmHg, 22 estudos encontraram prevalências entre 22,3% e 43,9%, (média de 32,5%), com mais de 50% entre 60 e 69 anos e 75% acima de 70 anos (CESARINO et al., 2008; ROSARIO et al., 2009). Revisão sistemática quantitativa de 2003 a 2008, de 44 estudos em 35 países, revelou uma prevalência global de 37,8% em homens e 32,1% em mulheres (PEREIRA et al., 2009).

É sabido que a mortalidade por doenças cardiovasculares é diretamente proporcional à elevação dos níveis pressóricos, a partir dos valores de 115 e 75 mmHg para pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD), respectivamente (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010b). Aproximadamente, sete milhões de mortes em todo o mundo foram atribuídas ao aumento da PA, sendo a maioria das pessoas com mais de 45 anos de idade. Dois terços desses óbitos ocorreram em países subdesenvolvidos, como o Brasil, afetando, sobretudo, a população de baixo poder aquisitivo (FOLKOW, 1982).

O exame da situação demográfica do Brasil mostra que, prospectivamente, o perfil epidemiológico brasileiro será, cada vez mais, pressionado pelas doenças crônicas. A transição epidemiológica singular do país indica que, em 1930, nas capitais do país, as doenças infecciosas respondiam por 46% das mortes e que esse valor decresceu para um valor próximo a 5% em 2000; ao mesmo tempo, as doenças cardiovasculares que representavam em torno de 12% das mortes em 1930, responderam, em 2009, por quase 30% de todos os óbitos (MENDES, 2012). Vieira et al. (2012) encontraram que um percentual significativo de indivíduos hipertensos que faziam seguimento clínico em unidade pública e especializada de saúde de uma cidade do interior paulista (Brasil) teve como principal *causa mortis* o infarto agudo do miocárdio. Estudos demonstram a baixa taxa de adesão ao tratamento anti-

hipertensivo (CAVALARI et al, 2012; EID et al., 2013), o que contribui ainda mais com esse cenário.

Segundo Fields et al. (2004) a hipertensão arterial sistêmica é definida como PAS maior ou igual a 140 mmHg ou PAD maior ou igual a 90mmHg ou quem está tomando medicação anti-hipertensiva ou que tenha sido dito pelo menos duas vezes por um médico ou outro profissional da saúde que tem pressão arterial elevada.

Emprega-se a denominação hipertensão arterial essencial, primária ou idiopática quando não existe uma causa definida para a elevação da pressão, prevalecendo atualmente o conceito de que se trata de uma síndrome multicausal e multifatorial. Aproximadamente 95% dos portadores de hipertensão estão enquadrados como primário. Uma pequena parcela (5%) tem causa conhecida e eventualmente curável: são os chamados portadores de hipertensão secundária, quando decorrente de alguma patologia prévia como hiperaldosteronismo primário, feocromocitoma, acromegalia entre outras (JARDIM, 1998; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010b).

A origem da HAS primária não está totalmente elucidada e, provavelmente, não é devido a uma única causa. Dentre os possíveis fatores ambientais relacionados à HAS primária, podem ser citados: obesidade, consumo excessivo de sal (pelo menos em indivíduos sensíveis ao sal), estresse, idade, sedentarismo, baixo consumo de potássio entre outros (CARRETERO; OPARIL, 2000). Postula-se também que exista uma contribuição genética para a gênese da HAS (ARAÚJO, 2010; KIMURA, 2010a). Polimorfismos genéticos estão sendo identificados e associados com a HAS essencial, como o rs4705342 no gene miR-143, amplamente presente no músculo liso vascular (FU, 2014); o alelo C do polimorfismo A1166C no gene do receptor tipo 1 da angiotensina II (CHANDRA et al, 2014) e o polimorfismo C825T do gene GNB3, envolvido no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (ZHENG et al., 2013).

Acredita-se que diversos fatores, como os mecanismos hemodinâmicos, neurais, humorais e renais, interajam na produção de elevações prolongadas da PA. Tal como ocorre em outras condições mórbidas é improvável que exista uma causa individual responsável pelo desenvolvimento da hipertensão essencial ou que a condição seja uma doença isolada. Como a pressão arterial é o produto do débito cardíaco e da resistência vascular periférica, todas as formas de hipertensão envolvem mecanismos hemodinâmicos – aumento do débito cardíaco e da resistência vascular periférica, ou a combinação de ambos (GRIM; GRIM, 2004).

Outros fatores – como a atividade nervosa simpática, função renal em termos de retenção de sal e água, composição eletrolítica dos líquidos intracelular e extracelular,

mecanismos de transporte da membrana celular – e influências humorais – como o SRAA – participam, de forma ativa ou permissiva, na regulação dos mecanismos hemodinâmicos que controlam a pressão arterial (GRIM; GRIM, 2004).

1.1 Classificação da hipertensão arterial sistêmica

A HAS pode ser classificada conforme demonstrado nos dados da Tabela 1.

Tabela 1 – Classificação da Hipertensão Arterial Sistêmica

Classificação	Pressão sistólica (mmHg)	Pressão diastólica (mmHg)
Ótima	< 120	< 80
Normal	< 130	< 85
Limítrofe*	130 – 139	85 – 89
Hipertensão estágio 1	140 – 159	90 – 99
Hipertensão estágio 2	160 – 179	100 – 109
Hipertensão estágio 3	≥ 180	≥ 110
Hipertensão sistólica isolada	≥ 140	< 90

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia, 2010b.

1.2 Regulação da pressão arterial e fisiopatologia da hipertensão arterial sistêmica

Os mecanismos fisiopatológicos da HAS são complexos e ainda não são totalmente esclarecidos, pois, a cada década, novos elementos são acrescentados a esse cenário (CARRETERO; OPARIL, 2000; IRIGOYEN, et al., 2003).

Mecanismos neurais e hormonais operam na regulação a curto prazo da PA. Tais ajustes ocorrem em segundos, minutos, ou horas, e tem a intenção de corrigir os desequilíbrios temporários que ocorrem durante a realização das atividades diárias como os exercícios físicos e alterações na posição corporal. Esses mecanismos também são responsáveis pela manutenção da PA sob níveis de sobrevivência durante as situações de ameaça à vida (GRIM; GRIM, 2004).

O controle neural da PA é mediado pelo sistema nervoso autônomo (SNA) através dos mecanismos de controle que incluem os reflexos circulatórios intrínsecos, reflexos extrínsecos

e centros superiores de controle neural. Os reflexos intrínsecos, como o barorreflexo e o reflexo mediado por quimiorreceptor, localizam-se no sistema circulatório e são essenciais à regulação rápida e de curto prazo da PA. Já os reflexos extrínsecos são encontrados fora da circulação. Abrangem as respostas à PA associadas a fatores como dor, frio e exercício isométrico de agarrar com a mão. As vias neurais para essas reações são relativamente desconhecidas, sendo suas respostas menos consistentes do que as dos reflexos intrínsecos (GRIM; GRIM, 2004)

A ativação elétrica crônica do barorreflexo carotídeo, conhecido como terapia de ativação do barorreflexo (BAT), tem grande potencial de beneficiar pacientes com falência cardíaca, por reduzir a elevação da PA na hipertensão resistente (BAKRIS et al., 2012; HOPPE et al., 2012), via inibição da hiperatividade adrenérgica (WUSTMANN et al., 2009). Gronda et al. (2014) avaliou os efeitos da BAT na falência cardíaca clínica e concluiu que é uma terapia segura e que proporcionou uma melhora crônica na atividade nervosa simpática muscular e nas variáveis clínicas, concluindo que essa terapia pode melhorar o prognóstico em falência cardíaca, através da modulação do balanço autonômico.

Existe uma tendência de a HAS ocorrer em famílias, e se o SNA desempenha um papel importante na gênese da HAS, evidências de aumento da atividade simpática devem estar presentes em filhos normotensos de pais hipertensos. Infere-se também que esses mesmos filhos podem apresentar níveis de pressão arterial e catecolaminas maiores que os filhos de normotensos (CONSOLIM-COLOMBO; IRIGOYEN; KRIEGER, 2005).

Tem-se demonstrado repetitivamente, pelo menos em modelos animais, um excessivo “drive” hipotalâmico que favorece a origem “central” da simpato excitação. Em humanos, mais recentemente, foi descrita uma condição patológica – denominada compressão neurovascular (CNV) – na região rostroventrolateral da medula (RVLM), que pode estar associada à HAS. Há relação entre a presença de CNV (detectada por meio da ressonância nuclear magnética) na região RVLM e a maior atividade simpática periférica, avaliada por meio da microneurografia. Outra situação relacionada à HAS e hiperatividade simpática é a Síndrome da Apnéia Obstrutiva do Sono (SAOS) (CONSOLIM-COLOMBO; IRIGOYEN; KRIEGER, 2005). Souza (2011) encontrou que a presença de disfunção diastólica, em qualquer grau, está associada à maior atividade nervosa simpática muscular e modulação simpática periférica e a menor sensibilidade do barorreflexo, em pacientes hipertensos.

Em relação aos mecanismos humorais, muitos hormônios contribuem para regulação da PA, como o mecanismo do SRAA e a vasopressina. O SRAA envolve uma cascata de eventos responsáveis pela regulação PA. Quando os níveis pressóricos estão abaixo do

normal, a renina é liberada pelos rins e atua sobre o angiotensinogênio formando a angiotensina I (ANG I), a qual é convertida em angiotensina II (ANG II) pela enzima conversora de angiotensina (ECA). Ao se ligar a seus receptores, a ANG II leva à vasoconstrição, elevando assim os níveis pressóricos (FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008). A renina é uma enzima sintetizada e estocada nas células justaglomerulares dos rins, de onde é liberada, em resposta à diminuição da PA, estimulação simpática ou concentração extracelular de sódio diminuída (GRIM; GRIM, 2004).

A angiotensina II é um vasoconstritor potente, particularmente nas arteríolas e, em grau menor, nas veias, que atua na regulação a curto (eleva a resistência vascular periférica) e a longo prazo (estimulação da secreção da aldosterona) da PA. A vasopressina ou hormônio antidiurético é liberada da glândula pituitária posterior em respostas a diminuições da PA. Apresenta um efeito vasoconstritor direto sobre os vasos sanguíneos (GRIM; GRIM, 2004). Mecawi et al. (2013) concluíram que a angiotensina II também está envolvida no aumento do apetite por sódio (um instinto primordial de ingerir substâncias salgadas) após a exposição a uma dieta de baixo teor sódico.

Um estudo realizado recentemente demonstrou que a elevação da atividade do SRAA observada na hipertensão estimula a via TLR4 (Toll-like receptor 4), contribuindo para a ocorrência da HAS. Adicionalmente por induzir estresse oxidativo, TLR4 leva a disfunção endotelial que é característica desta patologia (DE BATISTA et al., 2014). TLRs pertencem a uma grande família de receptores de reconhecimento que desempenham papéis importantes em sistemas de defesa contra micro-organismos invasores em mamíferos. TLR4 é uma proteína expressa na superfície de vários tipos de células, incluindo células do músculo liso endotelial e vascular. Após sua ativação, o TLR4 pode ativar a imunidade inata e adaptativa, responsáveis por uma resposta inflamatória e também levar a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (DEVARAJ et al., 2008), o que contribui para o quadro inflamatório.

Harisson (2014) chama a atenção para o papel das células do sistema imune na fisiopatologia da hipertensão arterial. Ele explica que as ações centrais de estímulos hipertensivos, como angiotensina II ou sal, elevam a atividade simpática, que resulta em modificações proteicas e oxidativas. Esses novos antígenos são apresentados e processados por células dendríticas, levando a ativação de células T. As células T ativadas se infiltram nos rins e na vasculatura produzindo citocinas que promovem retenção de água e sódio, vasoconstrição e remodelação. Juntas, essas alterações resultam em hipertensão manifesta.

Devemos considerar também o controle local do fluxo sanguíneo, que é regulado numa base minuto a minuto em relação às necessidades tissulares e sob uma base prolongada

através do desenvolvimento de circulação colateral. Os mecanismos neurais regulam o débito cardíaco e PA necessários para apoiar esses mecanismos locais. O controle local do fluxo sanguíneo é governado em grande parte pelas necessidades nutricionais do tecido (GRIM; GRIM, 2004).

As substâncias vasodilatadoras, formadas nos tecidos em resposta à necessidade de fluxo sanguíneo aumentado, também ajudam o controle local do fluxo sanguíneo. As mais importantes são a histamina, a serotonina, 5- hidroxitriptanina, as cininas e as prostaglandinas. A maioria dos vasos sanguíneos contém histamina nos mastócitos e em estoques de células que não os mastócitos, liberada quando esses tecidos são lesionados (GRIM; GRIM, 2004).

A serotonina é liberada das plaquetas que se agregam durante o processo de coagulação; provoca vasoconstrição e participa de modo importante no controle da hemorragia. As cininas (calidinas e bradigininas) são liberadas das globulinas cininogênio, presente nos líquidos corporais. Provocam relaxamento da musculatura lisa arteriolar, aumentam a permeabilidade capilar e contraem as vênulas (GRIM; GRIM, 2004).

As prostaglandinas são sintetizadas de constituintes da membrana celular (o ácido graxo de cadeia longa denominado ácido araquidônico). A lesão tissular incita a liberação do ácido araquidônico da membrana celular, que inicia a síntese das prostaglandinas. Existem vários tipos de prostaglandinas (E2, F2, D2 ...), subagrupadas de acordo com a sua solubilidade: algumas produzem vasoconstrição e outras vasodilatação. Como regra prática as do grupo E são vasodilatadoras e nas no grupo F vasoconstritoras (GRIM; GRIM, 2004).

O endotélio, por sua vez, situado entre o sangue e a musculatura lisa vascular, também desempenha um papel ativo no controle da função vascular. Nos capilares que se compõe de uma única camada de células endoteliais é ativo o transporte dos nutrientes e excretas celulares. Além disso, remove agentes vasoativos, como a norepinefrina do sangue e produz enzimas que convertem moléculas precursoras de produtos ativos (por exemplo, angiotensina I em angiotensina II nos vasos pulmonares) (GRIM; GRIM, 2004).

Uma das funções importantes do endotélio normal é sintetizar e liberar os fatores que controlam a vasodilatação. Na modulação do tônus vascular, o estudo sobre o papel do endotélio teve início na década de 1980, quando Furchgott e Zawadski, observaram que o relaxamento induzido pela acetilcolina, em anéis de aorta de coelho, era totalmente dependente da presença e integridade da célula endotelial. Neste estudo, observou-se a existência de uma substância que ocasionava relaxamento vascular, que recebeu o nome sugestivo de fator relaxante derivado do endotélio (EDRF) (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980). Segundo Wang (2009) o primeiro fator relaxante derivado do endotélio identificado foi

o óxido nítrico (NO). Muitos outros tipos de células produzem o NO, onde tem outras funções, inclusive a modulação da atividade nervosa no sistema nervoso (GRIM; GRIM, 2004).

O endotélio normal mantém uma liberação contínua de óxido nítrico, formado a partir da L-arginina através da ação da enzima óxido nítrico-sintase (NOS). A produção do óxido nítrico pode ser estimulada por uma variedade de agonistas, como a acetilcolina, bradicinina, histamina e trombina. A força de cisalhamento sobre o endotélio, resultante de aumento no fluxo sanguíneo ou da PA também estimula sua produção e o relaxamento vascular. Também inibe a agregação plaquetária e a secreção do conteúdo plaquetário, grande parte do qual provoca vasoconstrição (GRIM; GRIM, 2004).

Os análogos da L-arginina, como o NG-monometil-L-arginina (L-NMMA) ou NG-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME), promovem elevada e sustentada hipertensão arterial e têm sido muito utilizados como modelo experimental de hipertensão primária. A hipertensão ocorre porque esses análogos competem com a L-arginina endotelial, impedindo a ação do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e resultando na diminuição substancial da produção do óxido nítrico (MONCADA; PALMER; HIGGS, 1999).

Entretanto, o aumento na pressão arterial não é somente consequência da retirada da ação vasodilatadora do NO, mas também derivada da retirada da sua influência sobre os sítios do controle autonômico cardiovascular, promovendo o aumento da atividade simpática. Essa afirmação é baseada em estudos com animais experimentais que mostraram o aumento na atividade simpática após o bloqueio da síntese do NO (SAKUMA et al., 1992; TOGASHI et al., 1992).

Além do óxido nítrico, o endotélio também produz outras substâncias vasodilatadoras, como a prostaglandina *prostaciclina*, que produz vasodilatação e inibe a agregação plaquetária. Além disso, produz substâncias vasoconstritoras, como a angiotensina II, prostaglandinas vasoconstritoras e endotelinas (PORTH, 2004).

Na maioria dos modelos experimentais de HAS a vasodilatação dependente de endotélio é severamente reduzida (CARVALHO et al., 1987; VANHOUTTE; BOULANGER, 1995). A disfunção endotelial caracteriza-se pela sobreposição dos fatores constritores em detrimento dos dilatadores derivados do endotélio. A disfunção endotelial é outro mecanismo associado à HAS. Além do seu aspecto fisiopatológico quanto a ser uma alteração primária ou secundária da doença, a disfunção endotelial é um fator importante para acelerar a instalação das complicações cardiovasculares (acidente vascular cerebral, infarto do

miocárdio, falência cardíaca e insuficiência vascular periférica) (LUSCHER; BARTON, 1997).

Os mecanismos que levam à disfunção endotelial diferem entre os modelos de HAS, mas existe uma linha de pensamento que coloca os fatores vasodilatadores, especialmente o NO, como mecanismos tônicos que se opõe ao tônus vasoconstritor mediado pela atividade simpática. De fato, considerando que o papel do endotélio como vasodilatador é basicamente mediado pelo NO, vários estudos foram direcionados, tentando definir a participação desta substância na HAS (VANHOUTTE, 1989).

A disfunção endotelial está presente em diversas doenças metabólicas e/ou cardiovasculares, como na obesidade, intolerância à glicose, hiperglicemia (diabetes *mellitus*), hipertensão arterial e dislipidemia. Em todas essas condições ocorre resistência insulínica, a qual se apresenta como um distúrbio metabólico que se manifesta por redução na utilização da glicose pelo músculo esquelético periférico (FERRANNINI et al., 1997), e tem sido fortemente associada à disfunção endotelial, que tem ocorrido precocemente (HSUEH; LYON; QUINONES, 2004).

Recentes estudos proporcionaram evidências para apoiar a premissa de que o ácido sulfídrico (H₂S), um outro gasotransmissor, seja um novo fator relaxante derivado do endotélio (MUSTAFA et al., 2011; WANG, 2009). De maneira geral, pode-se afirmar que o H₂S seja uma substância vasodilatadora (em curto prazo relaxa a musculatura lisa vascular) sendo capaz de induzir um efeito anti-hipertensivo (LIU et al., 2012). Rong-Na et al. (2011) investigaram a interação entre H₂S e NO na proteção cardíaca em ratos portadores de síndrome metabólica e encontraram que ambas as substâncias possuem um efeito mútuo de proteção ao miocárdio desses animais. Alguns estudos sugerem que os efeitos de NO e H₂S são mutuamente interdependentes (COLETTA et al, 2012; FILIPOVIC et al, 2012).

1.3 Óxido nítrico

O NO é uma molécula gasosa simples, habitualmente encontrada no ar atmosférico em pequenas quantidades, altamente tóxica devido à presença de radical livre (elétron extra) que a torna um agente químico altamente reativo. Quando diluído, o NO tem uma meia vida de menos de 10 segundos devido à sua rápida oxidação a nitrito e nitrato. O NO liga-se à hemoglobina e outras proteínas que contém o núcleo heme levando ao término de sua atividade biológica (SNYDER; BREDT, 1992).

A evidência inicial de óxidos de nitrogênio no metabolismo vieram de experimentos que demonstraram produção de nitratos em camundongos germ-free no início da década de 80 (GREEN; TANNENBAUM; GOLDMANN, 1981). Em 1985 demonstrou-se que macrófagos ativados por lipopossacárideos bacterianos eram capazes de levar à produção de nitritos e nitratos (STUEHR; MARLETTA, 1985). Na sequência evidenciou-se que a L-arginina era o substrato e a L-citrulina era formada como co-produto (HIBBS; TAINTOR; VAVRIN, 1987). Em 1988, Marletta identificou o óxido nítrico como o produto da reação de oxi-redução da L-arginina (MARLETTA et al., 1988).

Quase que simultaneamente, Furchgott investigava um fator relaxante derivado do endotélio vascular (FURCHGOTT et al, 1984) e poucos anos mais tarde concluiu-se ser o NO responsável pela atividade biológica do EDRF (IGNARRO et al., 1987). O NO é sintetizado em células endoteliais a partir da L-arginina, através de uma reação catalisada pela enzima NO sintase (NOS) (PALMER, ASHTON; MONCADA, 1988).

A primeira isoforma descoberta no endotélio vascular (eNOS ou NOS1) esta presente em um grande número de células além das células endoteliais e é a forma mais importante na participação do relaxamento vascular. As células endoteliais desempenham um papel fundamental na regulação do tônus vascular através da síntese e liberação de fatores de relaxamento e contração. Os fatores de vasodilatação mais importantes são NO, prostaglandinas e fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF). Dentre os mediadores produzidos pelas células endoteliais, o NO é considerado a molécula chave envolvida na homeostase cardiovascular (PEREIRA et al., 2011).

Whiting et al. (2013), em pesquisa realizada com camundongos, demonstraram um papel protetor do eNOS na doença inflamatória renal e na hipertensão induzidas por elevações crônicas de angiotensina II. Pesquisa sugere que o eNOS é um dos mais potentes determinantes metabólicos da pressão arterial em humanos, restringindo-a tonicamente em aproximadamente 30mmHg (GAMBOA et al., 2007). O NO antagoniza as contrações da musculatura lisa vascular e inibe a ativação plaquetária. Atuando nas integrinas, o NO modifica a adesividade leucocitária e a diapedese dos neutrófilos (FURCHGOTT, 1984). Uma outra pesquisa realizada recentemente com camundongos revela que a terapia com nitrito pode ser uma opção viável para aumento dos níveis de NO e pode ter uma utilização prática no tratamento de insuficiência cardíaca (BHUSHAN et al., 2014).

O NO é um importante mensageiro intercelular nos mamíferos superiores. O mecanismo de sinalização intercelular é, em geral, realizado através de receptores de membrana celular na célula alvo; estes receptores são, habitualmente, transmembranosos tendo contato com

citoplasma e desencadeando uma “cascata” de sinais intracelulares que finalizarão em uma mudança na célula. Pelas suas características químicas de alta difusibilidade, a sinalização do NO é exercida diretamente em nível intracelular, sem receptores transmembranosos. Devido à sua penetração intracelular sem intermediários membranosos, o organismo utiliza o NO em funções fisiológicas em que é necessária uma resposta rápida (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

O NO também faz parte do arsenal de primeira defesa do organismo com poder microbicida. Assim, está demonstrada sua ação antibactericida, antiparasítica e antiviral (DRAPIER; WEIZESBI; HIBBS, 1988). Nestes casos, o NO atua em concentrações maiores do que as de mensageiro, sendo tóxico aos micro-organismos invasores. Existe um tênue limite de concentração tissular entre a não-toxicidade às células do hospedeiro e a toxicidade necessária para ação antimicrobicida. No caso de doenças autoimunes e situações de sobrecarga exageradas do organismo, o NO encontra-se em concentrações tóxicas para as células do organismo. Portanto, o NO atua como toxina conforme a concentração e o tecido em questão, devendo ainda ser considerada a capacidade de depuração tecidual. A determinação destas concentrações tissulares relativas permanece um segredo da natureza (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

1.4 Ácido sulfídrico

O ácido sulfídrico tem sido longamente conhecido como um gás tóxico, e muitos relatos de intoxicação fatal por esse ácido têm sido documentados, além de ser famoso por seu cheiro de “ovo podre” (BURNETT et al., 1977; KABIL; BANERJEE, 2010; SMITH; GOSSELIN, 1979; WANG, 2002). Humanos podem ser submetidos a menos de 0.1 ppm de H₂S no ar. Acima de 50 ppm irritam os olhos e trato respiratório e acima de 500 ppm, pode causar inconsciência e morte (BLACKSTONE; MORRISON; ROTH, 2005). Seu efeito tóxico se manifesta, principalmente, como intoxicação aguda e perda do comando respiratório central (WANG, 2002).

A sua importância fisiológica tornou-se conhecida quando Abe e Kimura relataram em 1996 que o H₂S age como um neuromodulador (ABE; KIMURA, 1996). Agora é aceito como um “gasotransmissor” depois do óxido nítrico e do monóxido de carbono (CO) (WANG, 2002). Seu perfil químico é semelhante ao do NO. Ambas são moléculas pequenas de gás, geradas nas células de mamíferos por catalisação enzimática, e são livremente permeáveis à bicamada lipídica (WANG, 2002). Da mesma forma que o NO e CO, o H₂S é gerado

endogenamente por várias enzimas e tem sido demonstrada sua influência em uma série ampla de processos patológicos e fisiológicos, incluindo relaxamento de vasos sanguíneos (WEBB et al., 2008; YANG et al., 2008), contração arterial (ALI et al., 2006; KISS; DEITCH; SZABO, 2008), neurotransmissão (ABE; KIMURA, 1996), regulação da inflamação (HU, 2007; LI et al., 2008), cardioproteção (JOHANSEN, YTREHUS; BAXTER, 2006), neuroproteção e neurotoxicidade (KIDA et al., 2011) e liberação de insulina (ALI et al., 2007). Kwiatkoski et al. (2013) encontraram fortes evidências de que a produção de H₂S é estimulada pela hipóxia, e este mensageiro gasoso exerce uma modulação inibitória da resposta ventilatória hipóxica.

Em células de mamíferos, o H₂S é produzido a partir da L-cisteína, catalisada por uma de duas enzimas piridoxal fosfato-dependente, cistationina beta-sintase (CBS) e/ou cistationina δ -liase (CSE). Além disso, o catabolismo da L-cisteína também gera amônia e piruvato. A expressão de CBS e CSE é específica por tipo de tecidos. Foi relatado que CBS é uma enzima geradora de H₂S predominante nos sistemas nervoso e cerebral e CSE é predominante nas células β pancreáticas, em tecidos vasculares e no coração (WANG, 2002).

Recentemente, outros meios enzimáticos para produção do H₂S foram identificados. A 3-mercaptopiruvato sulfurtransferase (3MST) em conjunto com a aminotransferase cisteína (CAT) pode produzir H₂S a partir da cisteína na presença de alfa-cetoglutárico. A 3MST foi encontrada tanto em neurônios, como em células musculares lisas e endotélio vascular (KIMURA, 2010b). Entretanto, o significado fisiológico deste caminho não está completamente esclarecido (WANG, 2010).

Os mecanismos moleculares subjacentes às ações biológicas do H₂S permaneceram uma incógnita, mas um artigo recente publicado em Science Signaling mostrou que um dos mecanismos chave pode ser que proteínas S-sulfídricas do H₂S são produzidas através da conversão de grupos de cisteína-SH em -SSH. Essa “sulfidação” ocorre em proteínas diferentes devido à ação da produção endógena do H₂S, e isto resulta em modificações nas ações fisiológicas das proteínas. Assim, a transformação, pelo H₂S, tais como a “sulfidação”, pode ser um importante mecanismo de sinalização subjacente dos efeitos diversos no sistema cardiovascular (MUSTAFA et al., 2009).

Bioquimicamente falando, o H₂S é um gás incolor, inflamável e solúvel em água, onde se dissocia nas formas H⁺, HS⁻ e S²⁻. A concentração de sulfuretos livres (H₂S, HS⁻) na maioria dos tecidos e sangue de mamíferos é muito pequena (menos que 100 nM), entretanto refere-se ser maior na aorta (1 μ M) (LEVITT; ABDEL-REHIM; FURNE, 2011). A faixa

fisiológica de H₂S na circulação é de 10-100 mM em peixes, ratos e humanos. Níveis endógenos de H₂S no tecido cerebral é de aproximadamente 50 – 160 mM (WANG, 2009).

1.4.1 Regulação da produção e catabolismo do H₂S

Existem, no mínimo, três caminhos pelos quais a produção endógena de H₂S é regulada (ETO et al., 2002). O primeiro é uma excitação neuronal, que é responsável por uma regulação rápida de H₂S. Esta regulação rápida é mediada via Ca²⁺/Calmodulina. Na presença de Ca²⁺ e Calmodulina, as taxas de produção de H₂S por CBS é aumentada 3.5 vezes em relação quando está ausente. Além disso, a trifluoroperazina e W-13, dois inibidores da calmodulina, resulta na supressão da produção de H₂S (ETO et al., 2002). Foi encontrado que uma regulação mais lenta dos níveis de H₂S endógeno é controlada pela testosterona. A ideia de que hormônios sexuais poderiam desempenhar um papel na produção de H₂S surgiu depois dos achados de que níveis de H₂S endógeno em cérebros de ratos machos eram maiores quando comparados com o de fêmeas (ETO; KIMURA, 2002). Para testar a hipótese, Eto e Kimura (2002), conduziu uma série de experimentos. Após uma administração única de testosterona, os níveis de H₂S cerebral em ratos fêmeas quase alcançaram os níveis de ratos machos. O resultado se consolidou quando a castração de ratos machos resultou na diminuição dos níveis de testosterona acompanhado por diminuição dos níveis de H₂S cerebral. Em ambos os experimentos, não houve mudanças significativas nos níveis de CBS cerebral, sugerindo que a testosterona aumenta os níveis de H₂S no cérebro, por aumentar apenas a “atividade” da enzima CBS (ETO; KIMURA, 2002). Entretanto, observou-se que as diferenças nos níveis de H₂S cerebral não é tão grande quanto às diferenças de níveis de testosterona. Além disso, as mudanças relacionadas à idade, nos níveis de testosterona não correlaciona bem com os níveis de H₂S. Isso sugere que essa via regulatória é apenas um controle adicional para os níveis basais de H₂S (ETO; KIMURA, 2002).

O H₂S não fica acumulado no organismo e é rapidamente metabolizado. O sulfato é o maior produto final e é excretado na urina. O tiosulfato, outro produto resultante do metabolismo de H₂S, também é excretado na urina, e, embora apresente uma baixa concentração, serve como marcador biológico do seu metabolismo (BELARDINELLI et al., 2001).

1.4.2 Efeitos do ácido sulfídrico no sistema cardiovascular

O H₂S induz relaxamento de diferentes tecidos vasculares (por exemplo, artérias mesentéricas e aorta de ratos) e protege o coração contra danos de isquemia/reperfusão. O H₂S pode induzir ao vasorrelaxamento por agir diretamente na abertura de canais K_{ATP} nas células musculares lisas vasculares (BANNENBERG; VIEIRA, 2009; CALVERT; COETZEE; LEFER, 2010). Um bloqueador dos canais de K_{ATP}, glibenclamida, inibe a dilatação induzida por H₂S na aorta (ZHAO et al., 2001), artéria mesentérica (CHENG et al., 2004) ou microcirculação hepática (FIORUCCI et al., 2005), anula a diminuição da PA *in vivo*, induzida pelo H₂S (ZHAO et al., 2001) e também anula a ativação do barorreflexo no seio carotídeo, induzida pelo H₂S (XIAO et al., 2006).

É interessante que, o efeito hipotensor do alho e de outras substâncias naturais que contém enxofre, como a cebola e o cogumelo pode ser mediado via H₂S (JACOB; ANWAR; BURKHOUS, 2008). Também foi relatado que o H₂S possui efeitos cardioprotetores (BIAN et al., 2006; CALVERT; COETZEE; LEFER, 2010; JOHANSEN; YTREHUS; BAXTER, 2006). Pré-condicionamento isquêmico do coração (submetendo o tecido a múltiplos períodos breves de isquemia) protege contra danos miocárdicos causados pela isquemia atual. Foi observado que este efeito protetor foi abolido por tratamento com inibidores de CSE DL-propargilglicina ou β-ciano-L-alanina. A proteção é restaurada quando o hidrossulfeto de sódio (NaHS), doador de H₂S, é co administrado. Assim, parece que H₂S é responsável pela proteção alcançada pelo pré-condicionamento isquêmico. Isso foi fundamentado pelo fato da isquemia causar um declínio significativo nos níveis de H₂S em cultura de miócitos cardíacos, um efeito que é atenuado pelo pré-condicionamento isquêmico e pré-tratamento com NaHS (BIAN et al., 2006). Além disso, o NaHS mostrou oferecer proteção contra infarto do miocárdio em experimentos com animais. Recentemente, foi demonstrado que o efeito protetor do H₂S contra injúrias por isquemia/reperfusão regional, é devido aos efeitos anti-inflamatórios e anti-apoptótico deste gás (SIVARAJAH et al., 2009).

1.4.3 Efeitos do ácido sulfídrico na pressão sanguínea de animais normotensos e hipertensos

O bloqueio da produção endógena do H₂S pela cloridrato de hidroxilamina (HA 0,5, mg/kg i.p.), um inibidor não específico de ambos CSE e CBS, cuja falha com duração de menos de quatro semanas, influencia nas taxas de pressão sanguínea sistêmica em ratos (LU

et al., 2010). Em contraste, Yan, Du e Tang (2004) encontraram que a administração de PAG (propargilglicina) (37.5 mg/kg), um inibidor de CSE, elevava a pressão arterial significativamente em ratos em cinco semanas e aumentou a área de secção da parede da aorta torácica, indicando significativo remodelamento estrutural aórtico (YAN; DU; TANG, 2004). A discrepância pode surgir das diferentes drogas usadas nos dois estudos, bem como diferentes dosagens e duração do tratamento. Deve-se notar que inibidores das enzimas produtoras de H₂S têm especificidade e potencial baixo para a utilização pretendida e, portanto, os dados obtidos devem ser interpretados com cautela (LIU et al., 2012).

Vários grupos investigaram os efeitos do H₂S na hipertensão. O tratamento com H₂S pode abaixar significativamente a pressão sanguínea em animais hipertensos (LIU et al., 2012). A administração exógena de NaHS em ratos com hipertensão primária poderia aliviar a hipertensão e ajudar a recuperar a supressão dos níveis plasmáticos de H₂S e da atividade de CSE (YAN; DU; TANG, 2004). O efeito do H₂S na resistência vascular não está limitado a sua propriedade vasodilatadora. O H₂S também previne o desenvolvimento da hipertensão por suprimir a proliferação de células musculares lisas do sistema vascular e por acelerar sua apoptose via proteíno-quinases ativadas por mitógenos (DU et al, 2004; YANG; SUN; WANG, 2004). Esses achados sugerem que o H₂S pode ser um mediador da regulação da pressão sanguínea.

1.4.5 Ácido sulfídrico em ratos com hipertensão primária

Yan, Du e Tang (2004) encontraram que as concentrações plasmáticas de H₂S em ratos com hipertensão primária eram significativamente menor que aqueles do grupo controle. Também foi encontrado que a expressão do CSE mRNA era menor que no grupo controle. Esses achados sugerem que a hipertensão em ratos com hipertensão primária envolve a redução na produção e função do H₂S (YAN; DU; TANG, 2004). Isso é fundamentado pela observação de que a administração diária crônica de NaHS (56 µmol/kg/dia, i.p) durante cinco semanas reduziu significativamente a pressão arterial sanguínea em 25mmHg e inibiu o remodelamento estrutural da aorta em ratos com hipertensão primária (YAN; DU; TANG, 2004).

1.4.6 Mecanismos subjacentes aos efeitos anti-hipertensivos do ácido sulfídrico

A. Inibição do Sistema renina-angiotensina-aldosterona

O SRAA desempenha um importante papel na regulação do volume sanguíneo e da resistência vascular sistêmica, os quais influenciam a PA (LIU et al., 2012). Lu et al. (2010) encontraram que H₂S diminui a atividade da renina plasmática (ARP) em ratos renina-dependente 2K1C, mas não tem efeito significativo na ARP de ratos normotensos ou não renina-dependente 2K1C.

Zhao et al. (2008) também observou que o H₂S pode diminuir a afinidade de ligação dos receptores do tipo 1 da angiotensina II (AT1) e assim atenuar a ativação da AT1. Coletivamente, esses achados indicam que a inibição de vários componentes do SRAA inicia um papel substancial nos efeitos anti-hipertensivos induzidos pelo H₂S (LIU et al., 2012).

B. Inibição do remodelamento vascular

O remodelamento na estrutura vascular é um importante fator no desenvolvimento da hipertensão. Além disso, a própria pressão arterial elevada promove remodelamento dos vasos sanguíneos. Portanto remodelamento estrutural de arteríolas menores é um alvo do tratamento da hipertensão (SCHIFFRIN et al., 2000).

O H₂S também reverte os elevados níveis de hidroxiprolina e colágeno tipo I (ZHAO et al., 2008).

1.5 Tratamento medicamentoso da hipertensão arterial

No que se refere ao tratamento da HAS o objetivo primordial é a redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares (HEYDE; HEYDE, 2004; KANNEL, 1996; PADWAL; STRAUS; MCALISTER, 2001). Assim, os anti-hipertensivos devem não só reduzir a pressão arterial, mas também os eventos cardiovasculares fatais e não fatais, e, se possível, a taxa de mortalidade. As evidências provenientes de estudos de desfechos clinicamente relevantes, com duração relativamente curta, de três a quatro anos, demonstram redução de morbidade e mortalidade em estudos com diuréticos (PSATY, et al.; 1977; THE ALLHAT, 2002; WRIGHT; LEE; CHAMBER, 1999), com betabloqueadores (PSATY et al., 1977; WRIGHT; LEE; CHAMBER, 1999), inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) (HANSSON et al, 1999a; NEAL; MACMAHON; CHAPMAN, 2000; PROGRESS COLLABORATIVE GROUP, 2001; THE ALLHAT, 2002;), bloqueadores do receptor AT1

da angiotensina II (DAHLOF et al., 2002; LINDHOLM et al., 2002; OGIHARA et al., 2009) e com antagonistas dos canais de cálcio (ACC) (DAHLOF et al., 2005; NEAL; MACMAHON; CHAPMAN, 2000; PAHOR et al., 2000) embora a maioria dos estudos utilize, no final, associação de anti-hipertensivos. Esse benefício é observado com a redução da PA *per se* e, com base nos estudos disponíveis até o momento, parece não depender da classe de medicamentos utilizados (LAW; MORRIS; WALD, 2009). Metanálises recentes indicam que esse benefício é de menor monta com betabloqueadores, em especial com atenolol, quando comparado aos demais anti-hipertensivos (CALBERG; SAMUELSSON; LINDHOLM, 2004; BRADLEY et al., 2006).

Ensaio clínico controlado têm demonstrado que o tratamento medicamentoso da HAS reduz, substancialmente, o risco de desfechos cardiovasculares. Apesar da disponibilidade de tratamento efetivo, o controle da HAS em escala populacional encontra-se distante do considerado ideal, sendo que a falta de adesão ao tratamento medicamentoso é a maior razão para a baixa efetividade do tratamento da HAS (COELHO; NOBRE, 2006).

Em um relatório completo sobre a não-adesão às terapias de longo prazo, a Organização Mundial da Saúde declarou que o tratamento da hipertensão pode reduzir o risco de acidente vascular cerebral em 30% - 43% e infarto do miocárdio em 15%, além de reduzir o risco de um número de outras condições crônicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). Da mesma forma, em uma meta-análise de 147 estudos randomizados, os autores descobriram que em pacientes que receberam o tratamento com medicamentos anti-hipertensivos houve uma redução de 22% em doenças cardíacas coronárias e uma redução de 41% em AVC (LAW; MORRIS; WALD, 2009).

Os IECAs agem fundamentalmente pela inibição da enzima conversora da angiotensina, bloqueando a transformação da angiotensina I em II no sangue e nos tecidos, embora outros fatores possam estar envolvidos nesse mecanismo de ação. São eficazes no tratamento da HAS, reduzindo a morbidade e a mortalidade cardiovasculares nos hipertensos (HANSSON et al., 1999a; HANSSON et al., 1999b; WHITE, 2007), pacientes com insuficiência cardíaca (GARG; YUSSUF, 1995; PFEFFER, 1993; FLATCHER et al., 2000), com infarto agudo do miocárdio, em especial quando apresentam baixa fração de ejeção (FLATCHER et al., 2000; PALARDY; DUCHARME; O'MEARA, 2007), de alto risco para doença aterosclerótica (THE HEART OUTCOMES PREVENTION EVALUATION STUDY INVESTIGATORS, 2000), sendo também úteis na prevenção secundária do acidente vascular encefálico (PROGRESS COLLABORATIVE GROUP, 2001). Quando administrados a longo prazo, os

IECAs retardam o declínio da função renal em pacientes com nefropatia diabética ou de outras etiologias (GIATRA; LAU; LEVEY, 1997).

Em relação aos ACC a ação anti-hipertensiva decorre da redução da resistência vascular periférica por diminuição da concentração de cálcio nas células musculares lisas vasculares. Apesar do mecanismo final comum, esse grupo é dividido em três subgrupos, com características químicas e farmacológicas diferentes: fenilalquilaminas, benzotiazepinas e diidropiridinas (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2010c). São anti-hipertensivos eficazes e reduzem a morbidade e mortalidade cardiovasculares (HANSSON et al., 2009a; HANSSON et al., 2000; NEAL; MACMAHON; CHAPMAN, 2000; PAHOR et al., 2000). Deve-se dar preferência aos antagonistas dos canais de cálcio de longa duração, de ação intrínseca ou por formulação galênica que permita uma liberação controlada. Estudo de desfecho reafirmou a eficácia, tolerabilidade e segurança do uso dessa classe de medicamentos no tratamento da hipertensão arterial de pacientes com doença coronariana (LUBSEN et al., 2005).

2 OBJETIVOS

Avaliar o efeito do uso de anti-hipertensivos pertencentes às classes medicamentosas antagonistas de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina nas concentrações plasmáticas de ácido sulfídrico e óxido nítrico em portadores de hipertensão arterial sistêmica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local onde o estudo foi desenvolvido

Estudo transversal, com abordagem quantitativa, realizado no Centro de Saúde, situado na cidade de Novo Horizonte, interior do estado de São Paulo. O município possui área territorial de 931,668 Km² e uma população de 36.593 habitantes (IBGE, 2010). A Prefeitura Municipal de Novo Horizonte constitui-se de Pessoa Jurídica de Direito Público interno e tem vários prédios espalhados em diversas regiões da cidade.

O município oferece aos usuários atendimento de saúde em pontos estratégicos sendo: um Centro de Fisioterapia; um Centro Odontológico; um Centro de Atendimento Psicossocial (CAPS); um Hospital Filantrópico Santa Casa; um Ambulatório de Saúde da Mulher; um Centro de Saúde, com atendimento multidisciplinar; um Laboratório de Análises Clínicas; quatro Unidades Básicas de Saúde, localizadas respectivamente no Jardim São Vicente, Santa Clara, São Benedito e Alvorada, além de um posto de atendimento no Distrito do Vale Formoso.

A direção do Centro de Saúde é realizada pela Diretora Municipal de Saúde, que tem formação acadêmica em enfermagem e odontologia. Sua atribuição é planejar, coordenar, executar e controlar todas as atividades do departamento de saúde.

3.2 Consentimento livre e esclarecido

O presente estudo foi submetido à análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), que aprovou seu desenvolvimento, garantindo o cumprimento à Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Indivíduos adultos que aceitaram participar voluntariamente do trabalho, após conhecer e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A), foram agendados para o preenchimento do cadastro e coleta de sangue.

3.3 População

Neste estudo foram incluídos pacientes cadastrados no Centro de Saúde com o diagnóstico médico de hipertensão arterial sistêmica (HAS), em uso de medicações anti-

hipertensivas pertencentes às classes medicamentosas antagonistas de canais de cálcio ou inibidores da enzima conversora de angiotensina. O nome destes pacientes foi identificado por meio de relatório levantado em um programa informatizado da farmácia do Centro de Saúde, que gerou a relação dos pacientes em uso dos fármacos acima citados.

Ao comparecerem à Unidade de Saúde para consulta clínica, os pacientes foram convidados a participar como sujeitos da pesquisa, momento em que receberam orientação detalhada sobre os objetivos e procedimentos a serem realizados.

Os critérios adotados para exclusão foram idade abaixo de 18 anos, pacientes com doença em estágio terminal, como neoplasias ou AIDS e pacientes que estiverem recebendo outros anti-hipertensivos não pertencentes às classes medicamentosas antagonistas de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina.

Inicialmente o paciente compareceu a uma consulta de enfermagem, onde foi preenchido seu cadastro. Neste momento, coletaram-se dados de identificação e o nome das medicações em uso, para confirmação dos critérios de inclusão.

Os participantes da pesquisa foram orientados a comparecer na unidade de saúde em dia e hora marcados, após jejum de 12 horas, para coleta de amostra de sangue, realizada pela própria pesquisadora, para dosagem de H₂S e nitrato plasmáticos. A análise laboratorial dessas amostras dividiu-se em duas etapas, sendo a primeira de centrifugação realizada pelo laboratório credenciado pela Secretaria Municipal de Saúde – Sistema Único de Saúde (SUS) e a segunda realizada no Laboratório de Fisiologia da Escola Enfermagem de Ribeirão Preto (USP).

3.4 Procedimento de coleta de sangue venoso

A venopunção é um procedimento complexo, que exige conhecimento e habilidade. As recomendações adotadas no presente trabalho se basearam nas normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e estão descritas abaixo. O CLSI é uma organização internacional, interdisciplinar, sem fins lucrativos, reconhecida mundialmente por promover o desenvolvimento e a utilização de normas e diretrizes voluntárias no âmbito dos cuidados de saúde (Sociedade Brasileira de Patologia, 2010).

Generalidades sobre a venopunção

- O profissional deve apresentar-se ao paciente, estabelecendo comunicação e ganhando sua confiança;
- explicar ao paciente o procedimento ao qual o paciente será submetido, seguindo a política institucional com habilidade, para a obtenção de consentimento para o procedimento;
- fazer a assepsia das mãos entre o atendimento dos pacientes, conforme recomendação do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) no documento sobre “Diretriz para Higiene de Mãos” ;
- realizar a identificação de pacientes;
- verificar se as condições de preparo e o jejum do paciente estão adequados e indagar sobre eventual alergia ao látex (para o uso de luvas e do torniquete adequados para essa situação).

Locais de escolha para venopunção

O local de preferência para as venopunções é a fossa antecubital, na área anterior do braço em frente e abaixo do cotovelo, onde está localizado um grande número de veias, relativamente próximas à superfície da pele.

As veias desta localização variam de pessoa para pessoa, entretanto, há dois tipos comuns de regimes de distribuição venosa: um com formato de H e outro se assemelhando a um M. O padrão H foi assim denominado devido às veias que o compõem (cefálica, cubital mediana e basílica) distribuírem-se como se fosse um H, ele representa cerca de 70% dos casos. No padrão M, a distribuição das veias mais proeminentes (cefálica, cefálica mediana, basílica mediana e basílica) assemelha-se à letra M.

Quando as veias desta região não estão disponíveis ou são inacessíveis, as veias do dorso da mão também podem ser utilizadas para a venopunção.

Áreas a serem evitadas para a venopunção

- Preferencialmente amostras de sangue não devem ser coletadas nos membros onde estiverem instaladas terapias intravenosas.

- Evitar locais que contenham extensas áreas cicatriciais de queimadura.
- Um médico deve ser consultado antes da coleta de sangue ao lado da região onde ocorreu a mastectomia, em função das potenciais complicações decorrentes da linfostase.
- Áreas com hematomas podem gerar resultados errados de exames, qualquer que seja o tamanho do hematoma. Se outra veia, em outro local, não estiver disponível, a amostra deve ser colhida distalmente ao hematoma.
- Evite puncionar veias trombosadas. Essas veias são pouco elásticas, assemelham-se a um cordão e têm paredes endurecidas.

Técnicas para evidenciação da veia

- Observação de veias calibrosas.
- Movimentação: pedir para o paciente abaixar o braço e fazer movimentos de abrir e fechar a mão. Os movimentos de abertura das mãos reduzem a pressão venosa, com o relaxamento muscular.
- Massagens: massagear suavemente o braço do paciente (do punho para o cotovelo).
- Palpação: realizada com o dedo indicador do flebotomista. Não utilizar o dedo polegar devido à baixa sensibilidade da percepção da pulsação. Esse procedimento auxilia na distinção entre veias e artérias pela presença de pulsação, devido à maior elasticidade e à maior espessura das paredes dos vasos arteriais.
- Fixação das veias com os dedos, nos casos de flacidez.

Uso adequado do torniquete

- É muito importante fazer uso adequado do torniquete que é empregado para aumentar a pressão intravascular, o que facilita a palpação da veia e o preenchimento dos tubos de coleta ou da seringa.
- Quando a sua aplicação excede um minuto, pode ocorrer estase localizada, hemoconcentração e infiltração de sangue para os tecidos, gerando valores falsamente elevados para todos os analitos baseados em medidas de proteínas, alteração do volume celular e de outros elementos celulares.

Procedimentos

- Posicionar o braço do paciente, inclinándolo para baixo, a partir da altura do ombro.
- Posicionar o torniquete com o laço para cima, a fim de evitar a contaminação da área de punção.
- Não aplicar, no momento de seleção venosa, o procedimento de “bater na veia com dois dedos”. Esse tipo de procedimento provoca hemólise capilar e, portanto, altera o resultado de certos analitos.
- Se o torniquete for usado para seleção preliminar da veia, fazê-lo apenas por um breve momento, pedindo ao paciente para fechar a mão. Localizar a veia e, em seguida, afrouxar o torniquete. Esperar 2 minutos para usá-lo novamente.
- Aplicar o torniquete de 7,5 a 10,0 cm acima do local da punção, para evitar a contaminação do local.
- Não usar o torniquete continuamente por mais de 1 minuto.
- Ao garrotear, pedir ao paciente que feche a mão para evidenciar a veia.
- Não apertar intensamente o torniquete, pois o fluxo arterial não deve ser interrompido. O pulso deve permanecer palpável.
- Trocar o torniquete sempre que houver suspeita de contaminação.

Posição do paciente

- A posição do paciente também pode acarretar erros em resultados.
- O desconforto do paciente, agregado à ansiedade do mesmo, pode levar à liberação indevida de alguns analitos na corrente sanguínea.

Procedimentos em paciente sentado

- Pedir ao paciente que se sente confortavelmente em uma cadeira própria para coleta de sangue. Recomenda-se que a cadeira tenha apoio para os braços e previna quedas, caso o paciente venha a perder a consciência. Cadeiras sem braços não fornecem o apoio adequado para o braço, nem protegem pacientes em casos de desfalecimento.

- Recomenda-se que, no descanso da cadeira, a posição do braço do paciente seja inclinada levemente para baixo e estendida, formando uma linha direta do ombro para o pulso. O braço deve estar apoiado firmemente pelo descanso e o cotovelo não deve estar dobrado. Uma leve curva pode ser importante para evitar hiperextensão do braço.

Colocando as luvas

As luvas descartáveis são barreiras de proteção, e podem ser confeccionadas em látex, vinil, polietileno ou nitrila. Devem ser calçadas, com cuidado, para que não rasguem. Devem ficar bem aderidas à pele, para que o flebotomista não perca a sensibilidade no momento da punção.

Procedimentos para antissepsia e higienização em coleta de sangue venoso

- Recomenda-se usar uma gaze umedecida com solução de álcool isopropílico ou etílico 70%, comercialmente preparado.
- Limpar o local com um movimento circular do centro para fora.
- Permitir a secagem da área por 30 segundos para prevenir hemólise da amostra e reduzir a sensação de ardência na venopunção.
- Não assoprar, não abanar e não colocar nada no local.
- Não tocar novamente na região após a antissepsia.
- Se a venopunção for difícil de ser obtida e a veia precisar ser palpada novamente para efetuar a coleta, o local escolhido deve ser limpo novamente.

3.5 Dosagem de ácido sulfídrico e nitrato plasmáticos

Coleta de sangue

A coleta de uma amostra de sangue para realização dos ensaios laboratoriais foi realizada após consentimento e agendamento com os pacientes. Para cada indivíduo foi coletado 10ml de sangue em tubo contendo 0,5ml de heparina para determinação de ácido sulfídrico e nitrato plasmáticos.

Preparação do plasma

- Primeira etapa – Laboratório credenciado pela Secretaria Municipal de Saúde – Sistema Único de Saúde (SUS)

As amostras foram centrifugadas no Laboratório credenciado pela Secretaria Municipal de Saúde – Sistema Único de Saúde (SUS), pertencente à Prefeitura Municipal de Novo Horizonte, a 3000 rpm por 20 minutos, imediatamente após a coleta ter sido feita, para separação do plasma, que foi armazenado a -70°C . Segundo a Sociedade Brasileira de Patologia (2010) o tempo entre a coleta e centrifugação do sangue não deve exceder uma hora.

Essas amostras foram transportadas em caixas térmicas com gelo para o Laboratório de Fisiologia da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto (USP), em um período de uma hora e meia, onde foi realizada a próxima etapa de dosagem do ácido sulfídrico e nitrato plasmáticos.

- Segunda etapa – Laboratório de Fisiologia da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto (USP)

Dosagem de H_2S

A biossíntese de H_2S foi determinada conforme descrita por Siegel (1965). A cada amostra de $200\mu\text{L}$ de plasma foi adicionado $20\mu\text{L}$ de L-cisteína 10mM, $20\mu\text{L}$ de piridoxal 5 – fosfatase e $30\mu\text{L}$ de PBS, sendo incubado por duas horas a 37°C . Acetato de zinco (1% 100 μL) foi então adicionado seguido da adição de ácido tricloracético (10% (w/v)/ 100 μL) para precipitar a proteína e dessa forma parar a reação. Após nova centrifugação foi adicionado 50 μL de N-sulfato de dimetil-p-phenilenediamina 20mM seguido por 50 μL FeCl_3 30mM. Uma amostra do sobrenadante (50 μL) foi medida por espectofotometria com comprimento de onda de 670 nm. A concentração de H_2S de cada amostra foi calculada a partir de uma curva de calibração de 100-0.1 $\mu\text{g/ml}$ NaHS. Todos os reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA).

Determinação indireta de NO plasmático através de dosagem de nitrato

Para a medida do NO plasmático, foi utilizada a técnica de quimioluminescência NO/ozônio [132]. A concentração de nitrato no plasma foi medida utilizando 5µL da amostra que foi injetado num vaso de reação contendo um agente redutor (0,8% de cloreto de vanádio em 1N de HCl à 95°C) que converte o nitrato em NO, em quantidades equimolares. O NO é dragado, usando gás hélio, para a câmara de quimioluminescência do Sievers NOAnalyzer (Sievers® Nitric Oxide Analyzer 280 (GE Analytical Instruments, Boulder, CO. USA).

3.6 Tratamento estatístico

Os dados foram analisados utilizando-se a variância (ANOVA) para medidas repetidas e teste Tukey para comparações múltiplas das médias. Utilizamos o teste de correlação de Pearson para testar a correlação entre as concentrações plasmáticas de nitrato e H₂S em indivíduos tratados com antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora da angiotensina. Os resultados foram expressos como médias e erros padrões das médias (EPM). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

Participaram do estudo 36 sujeitos com hipertensão arterial sistêmica, em uso de anti-hipertensivos, sendo que 16 (44.47%) faziam uso apenas de anti-hipertensivos da classe dos antagonistas dos canais de cálcio e 20 (55.53%) faziam uso apenas de anti-hipertensivos da classe de inibidores da enzima conversora de angiotensina, todos submetidos à coleta de amostra de sangue venoso para análise plasmática das concentrações de nitrato e H₂S plasmáticos.

Os dados foram coletados no período de janeiro a agosto de 2013 e serão apresentados conforme a seguinte ordem: Caracterização dos pacientes incluídos na pesquisa segundo as variáveis demográficas; Quantificação de nitrato plasmático; Quantificação do Ácido Sulfídrico (H₂S) plasmático; Análise de correlação entre as concentrações de nitrato plasmático e H₂S nos indivíduos hipertensos sob terapia medicamentosa com antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora da angiotensina.

4.1 Caracterização dos pacientes segundo as variáveis demográficas

Neste item, serão apresentados dados referentes às características gerais do grupo estudado, tais como idade, sexo e etnia que se encontram na Tabela 2. Podemos observar que 69,4% dos pacientes eram maiores de 60 anos, 61,1% do sexo feminino e 94,5% se declararam branco.

Tabela 2- Distribuição dos hipertensos segundo as variáveis demográficas.

Variáveis demográficas	Quantidade
Idade	
30-40 anos	0 (0%)
41-50 anos	2 (5.5%)
51-60 anos	9 (25.0%)
Maior 60 anos	25 (69.4%)
Sexo	
Feminino	22 (61.1%)
Masculino	14 (38.8%)
Etnia	
Branco	34(94.5%)
Não branco	2 (5.5%)

4.2 Quantificação das concentrações de nitrato plasmático

A figura 1 mostra a quantificação das concentrações de nitrato plasmático em pacientes hipertensos em uso de antagonistas dos canais de cálcio e em hipertensos em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina. A concentração de nitrato plasmático foi significativamente maior em hipertensos que estavam em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina ($p < 0.03$) quando comparada à concentração de nitrato plasmático em hipertensos em uso de antagonistas dos canais de cálcio.

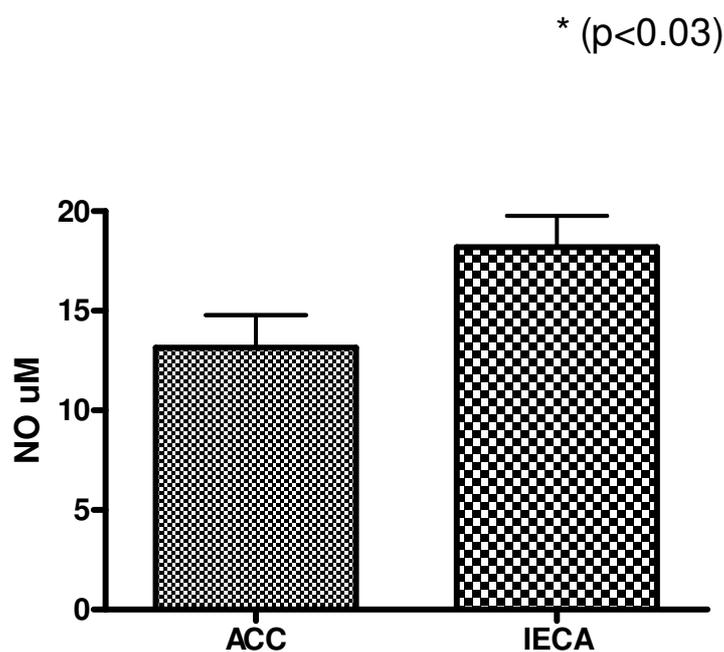


Figura 1- Concentrações de nitrato plasmático em pacientes hipertensos em uso de antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina.

4.3 Quantificação das concentrações de Ácido Sulfídrico plasmático

A figura 2 mostra a quantificação das concentrações de H_2S em pacientes hipertensos em uso de antagonistas dos canais de cálcio e em hipertensos em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina. A concentração de H_2S plasmático foi significativamente maior em hipertensos que estavam em uso de antagonistas dos canais de cálcio ($p < 0.002$) quando comparada à concentração de H_2S em hipertensos em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina.

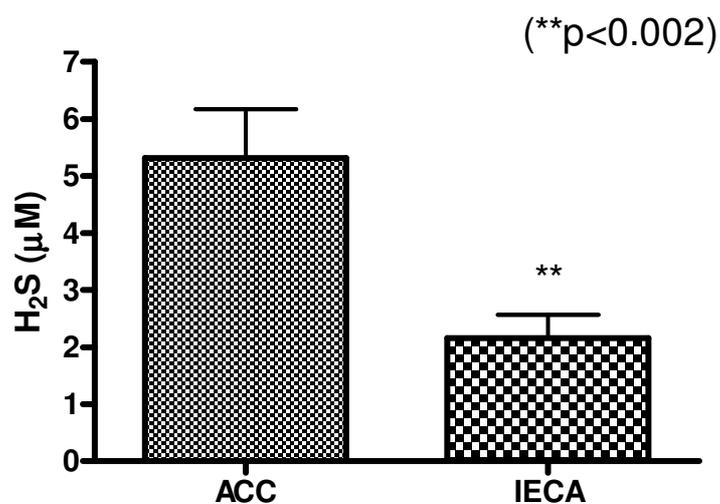


Figura 2- Concentrações de H₂S plasmático em pacientes hipertensos em uso de antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina.

4.4 Análise de correlação entre as concentrações de nitrato e H₂S plasmáticos nos indivíduos hipertensos sob terapia medicamentosa com antagonistas dos canais de cálcio e inibidores da enzima conversora da angiotensina.

Nas figuras 3 e 4 observamos que não houve uma relação de correlação significativa das concentrações plasmáticas de nitrato e H₂S nos indivíduos hipertensos tratados com antagonistas dos canais de cálcio ($p = 0,09$). Também não observamos significância no estudo de correlação dos indivíduos hipertensos tratados com inibidores da enzima conversora de angiotensina ($p = 0,32$).

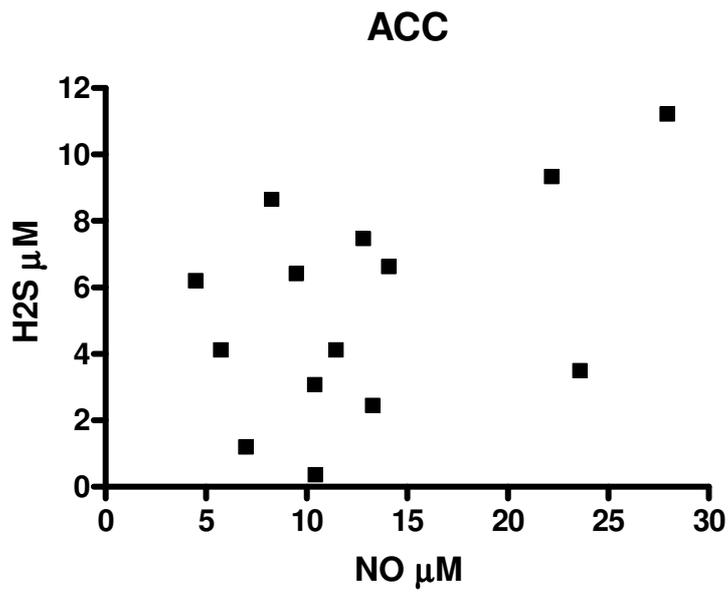


Figura 3- Correlação entre as concentrações de nitrato e H₂S plasmático em pacientes hipertensos com terapia medicamentosa com antagonistas dos canais de cálcio ($p < 0,09$).

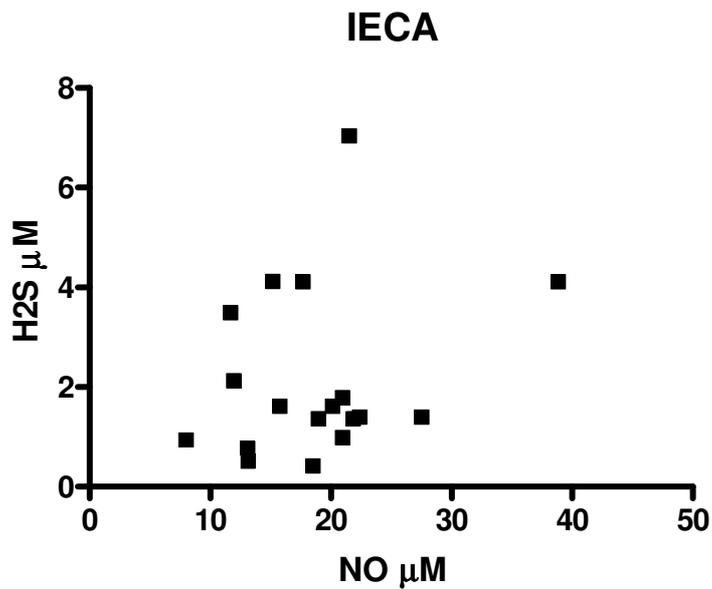


Figura 4- Correlação entre as concentrações de nitrato e H₂S plasmático em pacientes hipertensos com terapia medicamentosa com inibidores da enzima conversora da angiotensina ($p < 0,32$).

5. DISCUSSÃO

Um grande número de evidências indicam que pacientes com hipertensão arterial essencial possuem uma disfunção endotelial, com alterações detectadas por parâmetros da micro e macro circulação, incluindo resistência vascular periférica e coronária (VIRDIS et al., 2008). Revisão bibliográfica realizada na Itália, recentemente, assinalou que várias terapias não farmacológicas, incluindo exercícios físicos e intervenções alimentares podem melhorar a função endotelial em pacientes hipertensos. Além disso, algumas drogas anti-hipertensivas podem melhorar a disfunção endotelial, particularmente, antagonistas de canais de cálcio na microcirculação, inibidores da enzima conversora de angiotensina, e antagonistas de receptores AT-1, principalmente em vasos arteriais (GHIADONI; TADDEI; VIRDIS, 2012).

Em relação às terapias não medicamentosas, a influência da dieta na função endotelial foi reforçada por um estudo que avaliou o efeito do óleo de peixe e soja sobre o óxido nítrico e na pressão arterial em pacientes com síndrome metabólica. Os níveis séricos de metabólitos de NO foram significativamente superiores após 90 dias de intervenção com soja ou óleo de peixe. Somente o grupo que recebeu o óleo de peixe apresentou redução na pressão sistólica após 45 dias. Já a soja reduziu a pressão diastólica em 45 a 90 dias (SIMÃO et al., 2010).

A disfunção endotelial refere-se à perda da função moduladora do endotélio com um desequilíbrio entre vasodilatação e vasoconstrição, resultando em uma propensão para a vasoconstrição. É uma condição patológica caracterizada principalmente por um desequilíbrio entre as substâncias vasodilatadoras, anti-mitogênicas e as propriedades anti-trombogênicas (fatores relaxantes derivados do endotélio) (FLAMMER; LUSCHER, 2010) e substâncias vasoconstritoras, pró-trombóticas e com características proliferativas (fatores constritores derivados do endotélio) (VIRDIS; GHIADONI; TADDEI, 2010).

O comprometimento da vasodilatação dependente do endotélio está bem documentado no Diabetes Mellitus tipo II (DMII), que é causado principalmente pela redução da biodisponibilidade de óxido nítrico. Fatores adicionais que contribuem podem incluir: uma diminuição da produção de outros fatores relaxantes, um aumento da produção de agentes vasoconstritores ou uma sensibilidade reduzida do músculo liso vascular para fatores relaxantes (BALASUBRAMANYAM et al., 2001; LEVY; GAVIN; SOWERS, 1994; OKON et al., 2003). As alterações específicas devido a DMII são muitas vezes confundidas com outros fatores de risco cardiovasculares, como hipertensão e dislipidemia. Este é o caso da síndrome metabólica (SM), a qual é definida pela ocorrência simultânea de pelo menos três das seguintes características: obesidade abdominal, a dislipidemia, a hipertensão, resistência à

insulina \pm intolerância à glicose e estados pró-inflamatório e pró-trombóticos (GRUNDY et al., 2004).

Nas artérias coronárias, a insuficiência da função endotelial ocorre precocemente no curso da aterosclerose, em relação aos fatores de risco sistêmicos e tensões hemodinâmicas anormais (McLENACHAN et al., 1990). Existe uma extensa literatura documentando que a disfunção endotelial está associada a quase todas as condições de predisposição para aterosclerose e doença cardiovascular (BRUNNER et al., 2005). Há muitos estudos correlacionando disfunção endotelial com risco cardiovascular. Por exemplo, disfunção endotelial tem sido observada em pacientes com hipertensão arterial (LINDER et al., 1990; PANZA et al., 1990; TREASURE et al., 1992), em sujeitos normotensos com histórico familiar de hipertensão (TADDEI et al., 1996), em fumantes (CELERMAJER et al., 1993; ZEIHNER; SCHACHINGER; MINNERS, 1995), bem como em fumantes passivos (CELERMAJER et al., 1996; HEISS et al., 2008), na dislipidemia (CASINO et al., 1993; SPIEKER et al., 2002), em idosos (LINDER et al., 1990), no diabetes *mellitus* (CALVER; COLLIER; VALLANCE, 1992; COSENTINO et al., 2003; MAKIMATTILA et al., 1996; SMITS et al., 1993; STEINBERG et al., 1996), na obesidade (STEINBERG et al., 1996), na hiper-homocisteinemia (TAWAKOL et al., 2002; VIRDIS et al., 2001), em humanos com baixos níveis séricos de magnésio (SHECHTER et al., 2000) e em pacientes com doenças inflamatórias e infecciosas (FLAMMER et al., 2009; HURLIMANN et al., 2002). Mais importante, os efeitos de risco cardiovascular no endotélio pode ser visto em crianças tão novas quanto 8 anos de idade (SORENSEN et al., 1994; CHARAKIDA et al., 2005).

O fato da disfunção endotelial ser uma condição sistêmica pode explicar porque a função endotelial periférica (micro e macrovascular) se correlaciona com a função endotelial das artérias coronárias (ANDERSON; GERHARD et al., 1995; BONETTI et al., 2004). Tomados em conjunto, há boas evidências de que a disfunção endotelial é significativamente associada com a carga de risco cardiovascular e pode ser considerada como um barômetro da carga total de risco (o risco dos fatores de risco) (FLAMMER et al., 2012). No entanto, o comprometimento da função endotelial transitória, por exemplo, em doenças agudas intercorrentes (CHARAKIDA et al., 2005; CHARAKIDA et al., 2010; CLAPP et al., 2005), após exercícios extenuantes (DAWSON et al., 2008) ou por certos alimentos (PLOTNICK; CORRETTI; VOGEL, 1997), tem que ser levado em conta, o que representa uma limitação potencial de interpretação.

Consiste em um mediador importante da progressão da doença vascular (DE VRIESE et al., 2000). Conseqüentemente, sua prevenção e tratamento são indispensáveis na redução de

complicações cardiovasculares. Os IECAs reduzem de forma eficiente as complicações cardiovasculares, porque melhoram a função endotelial, reduzem o remodelamento cardiovascular e possuem efeitos anti-ateroscleróticos e anti-oxidativos (FIORDALISO et al., 2006; KEIDAR et al., 2000; BUIKEMA et al., 2000). De acordo com Nevelsteen et al. (2013), a terapia com IECA e dieta hipocalórica melhoram a resposta vasorrelaxante à acetilcolina.

5.1 Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina

A maioria dos estudos de intervenção farmacológica com efeito sobre fatores de risco cardiovascular melhoram a função endotelial. Por exemplo, terapia anti-hipertensiva em geral (LUSCHER; VANHOUTTE; RAIJ, 1987; TADDEI et al., 2002), tais como inibidores da enzima conversora de angiotensina (CREAGER et al., 1992; TADDEI et al., 1998), bloqueadores de receptores de angiotensina (FLAMMER et al., 2007), antagonistas de canais de cálcio (TADDEI et al., 1997), e certos beta bloqueadores como o Nebivolol (PRISANT, 2008), podem reverter a disfunção endotelial, entretanto, os IECAs parecem ser particularmente importantes (CHEN et al., 2002; MANCINI et al., 1996; TADDEI et al., 2002).

Os inibidores da ECA parecem melhorar a função endotelial no subcutâneo, epicárdio, região braquial e na circulação renal, ao passo que eles são ineficazes na potencialização da resposta embotada da acetilcolina no antebraço de pacientes com hipertensão essencial. O tratamento com um antagonista do receptor de AT-1 também pode melhorar a liberação basal de NO e diminuir o efeito vasoconstritor da endotelina-1 endógena (VIRDIS; GHIADONI; TADDEI, 2011).

Em nossa pesquisa, pacientes hipertensos que estavam em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina apresentaram níveis de nitrato plasmático maiores quando comparados com pacientes hipertensos em uso de antagonistas de canais de cálcio. Higashi et al. (2000) fez um comparativo entre inibidores da enzima conversora de angiotensina, antagonistas de canais de cálcio, betabloqueadores e diuréticos na hiperemia reativa em pacientes com hipertensão essencial e encontrou que a hiperemia reativa foi significativamente maior no grupo tratado com IECA, podendo ser devido a elevação de NO.

Várias medicações anti-hipertensivas contribuem para a elevação dos níveis plasmáticos de NO, como os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ENSELEIT; HURLIMANN; LUSCHER, 2001; HIGASHI et al., 2000), o Enalapril e o

Captopril (KIM et al., 2013), o zofenopril (NAPOLI et al., 2008), a nisoldipina (antagonista de canais de cálcio) e a olmersartana (bloqueador de receptor AT-1) (WEI; HE; LV, 2012).

O óxido nítrico, o monóxido de carbono e ácido sulfídrico pertencem aos transmissores gasosos que podem ser utilizados terapeuticamente (OSTROWSKI; PUCKO, 2013). A descoberta de óxido nítrico como uma molécula derivada do endotélio fundamental para o relaxamento vascular e o reconhecimento do endotélio como mais do que uma interface passiva entre sangue e da parede do vaso, levou a um progresso substancial no campo da investigação vascular (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980).

O NO é um radical livre produzido pela oxidação da L-arginina resultando em NO e L-citrulina e catalisado pela enzima óxido nítrico sintase (MONCADA; HIGGS, 1993). O NO é uma substância fundamental em muitos órgãos e seus efeitos podem ser observados nos vasos sanguíneos, coração, pulmão, rim, encéfalo, pâncreas, intestino e sistema imune (MURAD, 1998). Diferente de outras moléculas sinalizadoras, o NO parece não ter um receptor em seu sentido tradicional. Por ser lipofílico pode atravessar passivamente as membranas celulares. Sua disponibilidade biológica é, portanto, baseada na difusão transcelular para atingir alvos intracelulares, não sendo restrita a estruturas anatômicas ou ao trânsito circulatório. Além disso, possui uma meia vida curta, não maior que seis segundos (MURAD, 1998). Além de responder a estímulos farmacológicos, o NO mostrou-se ser liberado constantemente (BOYDEN, 1976).

Geralmente, a diminuição da biodisponibilidade de NO indica um fenótipo amplamente disfuncional em muitas propriedades do endotélio. Assim, a avaliação de suas propriedades vasodilatadoras, devido ao NO e outras moléculas, podem fornecer informações sobre a integridade e função do endotélio. Curiosamente a maioria, se não todos, os fatores de risco cardiovasculares estão associadas com a disfunção endotelial (BONETTI; LERMAN; LERMAN, 2003) e a modificação dos fatores de risco leva à melhora na função vascular. A disfunção endotelial foi detectada tanto em coronárias quanto em artérias periféricas, de modo que pode ser considerada como uma condição sistêmica (ANDERSON; UEHATA et al., 1995). O processo de aterosclerose começa cedo na vida, e a disfunção endotelial contribui para aterogênese e precede o desenvolvimento de mudanças morfológicas vasculares (JUONALA et al., 2004).

Uma das primeiras doenças associadas à redução da biodisponibilidade de fatores relaxantes derivados do endotélio e alteração da função vascular foi a hipertensão arterial. A importância da produção endógena de NO derivado do eNOS na regulação da função vascular sofreu crescente investigação com a aplicação de inibidores de NOS. Vários estudos relatam

elevação de PA após administração intravenosa de inibidores de NOS em coelhos (REES; PALMER; MONCADA, 1989), porcos da Índia (AISAKA et al., 1989), cachorros (CHU et al., 1991), macacos (WELDON; WINQUIST; MADWED, 1995) e ratos (VARGAS; IGNARRO; CHAUDHURI, 1990). O complexo mecanismo de elevação da PA na hipertensão pela deficiência de NO envolve acentuação do tônus do sistema simpático, do sistema renina-angiotensina-aldosterona e do estresse oxidativo (DILLENBURG et al., 2013; PECHANOVA et al., 1997; NAKMAREONG et al., 2012).

Em mamíferos o NO é produzido por uma das três isoenzimas óxido nítrico sintase, nNOS/NOS I (NOS neuronal), iNOS/NOS II (NOS induzível) e eNOS/NOS III (NOS endotelial). Estão envolvidos na modulação de vários estados fisiopatológicos ou doenças. O NOS endotelial é a forma mais expressa no endotélio. Está localizada na membrana plasmática celular e na membrana do Complexo de Golgi (ZHANG et al., 2006). Resumidamente, a regulação da produção de NO no endotélio depende da disponibilidade de vários co-fatores, da fosforilação do eNOS em sítios específicos, da modificação lipídica pós translação e de regulação por feedback negativo (FORSTERMANN; SESSA, 2012; KOPINCOVA; PUZSEROVA; BERNATOVA, 2008; KOPINCOVA; PUZSEROVA; BERNATOVA, 2012; RAFIKOV et al., 2011).

O NO pode difundir-se a partir das células endoteliais para células musculares lisas vasculares e a guanilato ciclase (GC) tem sido identificada como um receptor intracelular do NO. Sua ativação leva à liberação do segundo mensageiro monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) e ativação da proteína quinase (PK) G-dependente resultando na diminuição da concentração de cálcio intracelular, seguida por vasorrelaxamento. Além disso, há muitas outras funções do NO participando na regulação de transcrição de genes, tradução de mRNA e modificação proteica de várias enzimas envolvidas na respiração mitocondrial, mitogênese e crescimento (BERNATOVA; PECHANOVA; KRISTEK, 1999; FORSTERMANN; SESSA, 2012; GARG; HASSID, 1993).

O NO está entre as moléculas vasodilatadoras mais importantes, principalmente em artérias musculares. Ela inibe eventos-chave no desenvolvimento da aterosclerose, tais como a adesão e agregação plaquetária, migração e adesão de leucócitos, bem como a proliferação de células do músculo liso. Particularmente na microcirculação, a prostaciclina e derivados de fatores endoteliais hiperpolariantes (EDWARDS; FELETOU; WESTON, 2010) também desempenham um papel importante.

Vários outros benefícios do NO tem sido estudados como a cicatrização de úlcera (BRZOZOWSKI et al., 1999), pré-condicionamento gástrico por meio de oclusão da artéria

celíaca por 5 minutos (BRZOZOWSKI et al., 2002) e pré-condicionamento cardíaco (WEERATEERANGKUL; CHATTIPAKORN; CHATTIPAKORN, 2011). O óxido nítrico inalatório tem sido uma questão de investigação em cardiologia de adultos e crianças (ZURYNSKA, 2008). Pacientes com doenças da válvula mitral e hipertensão pulmonar que receberam inalação de NO (30 ppm) por 15 minutos antes de procedimentos cirúrgicos cardíacos demonstraram reação circulatória aguda favorável, especialmente a redução da resistência pulmonar (KNAPIK et al., 2001). Pereira, Batalhão e Cárnio (2014) encontraram que a síntese de óxido nítrico está aumentada em pacientes com choque séptico, e se correlaciona inversamente com os valores de temperatura do corpo concluindo que a medição da temperatura corporal e da observação das condições de hipotermia em pacientes sépticos pode ser importante para orientar a enfermagem em relação à evolução de indivíduos com sepse.

O sistema de sinalização óxido nítrico (NO)-monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) (NO-cGMP) é um modulador bem caracterizado da função cardiovascular, em geral, e da pressão arterial, em particular (AROOD et al., 2013). O SRAA também é um importante regulador da pressão arterial e da homeostase sódio-água. A enzima conversora de angiotensina (um dos membros do SRAA) cataliza a clivagem de angiotensina I (Ang I) em angiotensina II (PFEFFER et al., 1992) e participa no metabolismo de outros peptídeos como bradicinina (CORVOL et al., 1995).

Estudos prévios tem demonstrado que a angiotensina II eleva a produção de espécies de oxigênio reativas vascular e assim reduz a biodisponibilidade do NO e a dilatação dependente do endotélio (GARRIDO; GRIENGLING, 2009; JUNG et al., 2003; RAJAGOPALAN et al., 1996; TOUYZ; SCHIFFRIN, 2000). O relaxamento dependente do endotélio debilitado resulta da diminuição da biodisponibilidade de NO, em grande parte devido ao aumento do $O_2^{\cdot-}$. A ligação entre angiotensina II, ROS e disfunção endotelial tem sido demonstrada em animais hipertensos. Infusão de angiotensina II resulta em relaxamento pela acetilcolina, ionóforos de cálcio e nitroglicerina prejudicados (RAJAGOPALAN et al., 1996). Além disso, a angiotensina II, através da ativação da proteína Kinase C, induz a uma regulação positiva do eNOS elevando, assim, a produção de $O_2^{\cdot-}$. Esses efeitos são acompanhados pela diminuição da guanilato ciclase e ativação diminuída da proteína quinase G (MOLLNAU et al., 2002).

Múltiplos mecanismos sinalizadores regulam a pressão arterial. Tanto a sinalização e atividade do NO-cGMP quanto o SRAA desempenham um papel central no controle homeostático da pressão arterial sistêmica (RUILOPE, 2011; KOBORI et al., 2007).

Evidências sugerem que NO-cGMP regula a atividade de SRAA e vice e versa (HOFMANN et al., 2006). Estudo sugere que NO-cGMP inibe a secreção de renina em ratos (SHESELY et al., 1996). O NO também inibe a síntese de enzima conversora de angiotensina no endotélio (TAKEMOTO et al., 1997), bem como a expressão do receptor tipo 1 de angiotensina II em células musculares lisas vasculares atenuando a produção de Ang II e sua ação (ICHIKI et al., 1998; USUI et al., 1998).

A ACE é um dos principais alvos para o tratamento de doenças comuns e os inibidores da ACE representam uma das drogas mais comumente usadas. Isto é corroborado pelo fato de que havia 162,8 milhões de receitas de inibidores da ECA em 2009 nos Estados Unidos da América (BIAN et al., 2010) e que provavelmente aumentará nos próximos anos. Sua eficácia é comprovada por vários grandes ensaios clínicos: inibidores da ECA reduzem o risco de morte cardiovascular, infarto do miocárdio não fatal ou parada cardíaca na doença coronariana estável (FOX, 2003), melhora o prognóstico (GRUPPO ITALIANO PER LO STUDIO DELLA SOPRAVVIVENZA NELL'INFARTO MIOCARDIC, 1996) e reduz mortalidade em cinco semanas após um infarto do miocárdio (GROUP I-4 C, 1995), reduz mortalidade por falência cardíaca (COHN et al., 1991), inibe remodelamento ventricular esquerdo (GREENBERG et al., 1995), adia a manifestação da hipertensão (LUDERS et al., 2008) e reduz a massa ventricular esquerda devido a hipertrofia de ventrículo esquerdo (CUSPIDI et al., 2002), a incidência de microalbuminúria e o risco de nefropatia diabética no diabetes tipo 2 (RUGGENENTI et al., 2004).

Os IECAs bloqueiam o metabolismo de vários peptídeos, notavelmente a conversão da angiotensina I em Ang II (SKEGGS; KAHN; SHUMWAY, 1956) e a inativação da bradicinina (BK) (ERDOS; YANG, 1967; YANG; ERDOS; LEVIN, 1971; YANG; ERDOS, 1967). A ECA não só leva a hipertensão pela Ang II como também inativa a hipotensão mediada pela bradicinina. Grande parte do efeito terapêutico dos IECAs é devido ao bloqueio da formação de Ang II (LIU et al., 1997) ou ao prolongamento da meia vida curta da bradicinina e seu congênere Lys-BK (Calidina) esta sendo debatido (YANG; ERDOS; LEVIN, 1971). Isto é ainda mais complicado pela existência de dois tipos de receptores de cininas. O primeiro caracterizado, embora nomeado incongruentemente, é o receptor B2 (B2R), ativado pela bradicinina ou pela calidina (BHOOLA; FIGUEROA; WORTHY, 1992). O segundo, chamado receptor B1 (B1R), não se liga às cininas, seus ligantes são os metabólitos da bradicinina e da calidina (REGOLI; BARABE, 1980). Considerando que o B2R é amplamente expresso constitutivamente, a expressão B1R é normalmente induzida após estímulos nocivos ou por citocinas inflamatórias (BHOOLA; FIGUEROA; WORTHY,

1992; IGNJATOVIC et al., 2002; IGNJATOVIC et al., 2004; REGOLI; BARABE, 1980; STANISAVLJEVIC et al., 2006). Inibidores da enzima conversora de angiotensina podem realçar ambos B2R e B1R. Bloqueando a inativação das cininas pela ECA aumenta a concentração de agonistas de B2R intacta (ERDOS; TAN; SKIDGEL, 2010).

Os inibidores da ECA afetam os receptores de cininas de formas diferentes (IGNJATOVIC et al., 2002; IGNJATOVIC et al., 2004; STANISAVLJEVIC et al., 2006). O B1R humano é diretamente ativado por IECA (IGNJATOVIC et al., 2002; IGNJATOVIC et al., 2004; STANISAVLJEVIC et al., 2006). Os IECAs ativam B1R por liberar NO mais consistentemente em células endoteliais humanas cultivadas via iNOS (IGNJATOVIC et al., 2004; IGNJATOVIC et al., 2002; STANISAVLJEVIC et al., 2006), o que pode explicar o fato de hipertensos em uso dessas drogas terem níveis plasmáticos de NO mais elevados. A ativação do B1R pode aumentar a inflamação, dor e fibrose na cardiomiopatia diabética (BHOOLA; FIGUEROA; WORTHY, 1992; REGOLI; BARABE, 1980; WESTERMANN et al., 2009) mas é também benéfica após infarto do miocárdio em ratos ou camundongos (XU et al., 2009; XU et al., 2005). A síntese de NO elevada, devido a ativação de B1R (IGNJATOVIC et al., 2004), podem também contribuir com os efeitos terapêuticos dos inibidores de ECA após um infarto do miocárdio e proteção aos cardiomiócitos (McMURRAY, 2004). A liberação de NO, após ativação de B1R por IECA, inibe a proteína quinase C (PKC) (STANISAVLJEVIC et al., 2006) que pode beneficiar a falência cardíaca (INAGAKI et al., 2008).

Outras classes medicamentosas influenciam a função endotelial por elevar os níveis de NO, como é o caso da Atorvastatina (estatina). Essa ação ficou evidente em uma pesquisa que avaliou seus efeitos nas concentrações de nitrito vascular e na disfunção endotelial em ratos hipertensos. Esse fármaco significativamente baixou a pressão arterial sanguínea em aproximadamente 40 mmHG e aumentou os níveis de nitrito vascular em 70% (GUIMARÃES et al., 2013). O tratamento com estatinas tem efeito benéfico sobre a função endotelial coronária e periférica (RERIANI et al., 2011), provavelmente devido às suas propriedades anti-inflamatórias e anti-oxidantes, bem como, devido ao restabelecimento da biodisponibilidade do NO vascular (BONETTI et al., 2003). O tratamento combinado com fluvastatina (estatina) e diltiazem (antagonista de canais de cálcio) é mais eficaz sobre a função endotelial e da tolerância ao exercício do que o tratamento individual em pacientes com síndrome cardíaca X. Os benefícios desses medicamentos podem estar relacionados com a elevação do óxido nítrico e redução da endotelina-1 (ZHANG et al., 2014).

5.2 Antagonistas de Canais de Cálcio

Nosso estudo foi o primeiro a avaliar as concentrações plasmáticas de H₂S em pacientes hipertensos e mostrou que os níveis plasmáticos desse gasotransmissor estavam mais elevados nos sujeitos em uso de antagonistas de canais de cálcio quando relacionados com o grupo de pacientes hipertensos em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina.

Antagonistas de canais de cálcio reduzem a entrada de cálcio nos canais do tipo L dependentes de voltagem das células musculares vasculares dilatando artérias coronárias e outras. Além disso, alguns ACC ativam o NO sintase endotelial ou tem propriedades antioxidantes, aumentando assim a biodisponibilidade de NO. Particularmente, as di-hidropiridinas, podem reverter a vasodilatação endotélio-dependente prejudicada em diferentes sítios vasculares, incluindo subcutâneo, epicárdico, da circulação renal e do antebraço. Na circulação do antebraço, a nifedipina e a lacidipina podem melhorar a disfunção endotelial, restaurando a disponibilidade de NO através de um mecanismo provavelmente relacionado a um efeito antioxidante (TANG; VANHOUTTE, 2010).

No campo dos estudos de H₂S, Wilinski e colegas da Universidade Jagiellonian da Polônia têm demonstrado o imenso impacto de uma variedade de agentes farmacológicos sobre a produção de H₂S endógeno e postulou o papel farmacomodulatório de H₂S neste cenário (WILINSKI et al., 2010).

Antagonistas de canais de cálcio influenciam os níveis séricos de H₂S. Foi administrado anlodipino em ratos por via intraperitoneal na dose de 3 mg / kg de peso corporal por dia ou 10 mg / kg de peso corporal por dia. O grupo controle recebeu soro fisiológico. As medições das concentrações livres de H₂S nos tecidos foram realizadas. Houve uma queda significativa do nível de H₂S no cérebro e no fígado, em ambos os grupos. A dose mais baixa de anlodipino aumentou a concentração de H₂S no coração e rins, enquanto que a mais elevada levou a uma diminuição da acumulação de H₂S nesses órgãos. Este estudo mostrou que o anlodipino interfere na biologia do H₂S e afeta suas concentrações teciduais em diferentes tecidos de ratos (WILINSKI et al., 2011a).

Estudos realizados com o IECA Ramipril encontraram que esse fármaco eleva a geração de ácido sulfídrico em fígado e rins (WILINSKI et al., 2010) coração e cérebro (WILINSKI et al., 2008) de ratos. O mesmo foi encontrado por Bucci et al. (2014) que pesquisaram os efeitos sobre a função vascular do IECA Zofenopril e descobriram uma melhora na função vascular devido elevação dos níveis de H₂S em ratos com hipertensão

primária que receberam essa medicação. O Zofenopril também exerce um efeito protetor sobre o dano endotelial induzido pela Doxorubicina, sem afetar a sua eficácia antitumoral. Esse efeito protetor pode ser atribuído à disponibilidade da cistationina-gama-liase dependente de H₂S à partir do Zofenopril (MONTI et al., 2013).

Um outro estudo de Wilinski e seus colaboradores avaliou a influência da atorvastatina nas concentrações endógenas de H₂S em tecidos cerebral, renal, cardíaco e hepático de ratos. O estudo consistiu em injeções retroperitoneais do medicamento 0.1 mg (5 mg/kg de peso corporal por dia – grupo D1, n = 8) ou 0.4 mg (20 mg/kg de peso corporal por dia – grupo D2, n = 8) por cinco dias consecutivos. Houve um aumento significativo nas concentrações de H₂S nos tecidos renais, cerebral e cardíaco no grupo D1. Ambas as doses de atorvastatina diminuíram os níveis de H₂S no tecido hepático. Este estudo mostrou que a ação biológica da atorvastatina interfere nos níveis de H₂S em ratos (WILINSKI et al., 2011b).

Também foi demonstrado que o paracetamol (WILINSKI et al., 2011e), o carvedilol (WILINSKI et al., 2011c), a vitamina D3 (WILINSKI et al., 2012), a digoxina (WILINSKI et al., 2011d) e a metformina (WILINSKI et al., 2013) interferem nos níveis de H₂S de ratos.

Além do NO, o H₂S também foi identificado recentemente como um gasotransmissor. Por ação direta nos canais de K_{ATP} de células musculares lisas, possui propriedades vasorrelaxantes. Tem o potencial de reagir com íons metálicos (Cu, Fe, Zn) em metaloproteínas. A enzima conversora de angiotensina, responsável por vasoconstrição, é uma enzima que contém zinco. O H₂S exibe uma ação inibitória na atividade da ECA em células endoteliais humanas de superfície, por interferir com o zinco no centro ativo desta enzima. Assim, ao lado da influência conhecida de H₂S nos canais K_{ATP} de células musculares lisas, o efeito inibitório direto sobre a ECA pode contribuir para o efeito vasorrelaxante de H₂S na vasculatura, reduzindo a produção de angiotensina II e inibindo a degradação de bradicinina (LAGGNER et al., 2007b). A diminuição do H₂S sob condição hiperglicêmica leva a um desequilíbrio entre as espécies oxidativas e redutivas. O aumento das espécies oxidativas resulta na ativação do sistema renina angiotensina, o qual, por sua vez, contribui para a patogênese de disfunção renal (XUE et al., 2013).

O H₂S é produzido pela CSE, CBE (STIPANUK, BECK, 1982) e por uma enzima identificada recentemente mercaptopiruvato sulfurtransferase (SHIBUYA et al., 2009). A expressão dessas enzimas tem sido identificada em muitas células humanas e de outros mamíferos, incluindo hepáticas, renais, cerebrais e em linfócitos (WANG, 2002). O H₂S tem um importante papel em processos fisiológicos e patológicos tais como cardioproteção, neurotransmissão, processos inflamatórios, etc. (BIAN et al., 2006; HU et al., 2009; PAN et

al., 2006; WANG, 2002). Em vasos sanguíneos, o H₂S é um vasodilatador fisiológico (LEE et al., 2007; LIM et al., 2008; ZHAO, WANG, 2002). Recentemente foi relatado que inibidores da produção de H₂S endógeno pelo nocaute da CSE pode causar hipertensão em camundongos (YANG et al., 2008).

A PA é controlada pelo SRAA. A atividade excessiva do SRAA pode resultar em hipertensão e desordens na homeostasia hidroeletrolítica. O nocaute farmacológico do SRAA tem sido avaliado por quase 25 anos. A renina é predominantemente regulada pelo monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) intracelular nas células justaglomerulares. O H₂S pode diminuir a produção de cAMP via inibição da atividade da adenilil ciclase no coração e em células musculares lisas vasculares (LIM et al., 2008; YONG et al., 2008).

Lu et al. (2010) encontraram que o H₂S inibe a atividade da renina plasmática e diminui a produção de Ang II no plasma produzindo, assim, efeitos preventivos e terapêuticos na hipertensão renovascular em ratos. Estes dados sugerem que o H₂S exerce um papel anti-hipertensivo por suprimir a atividade do SRAA. Essas descobertas podem fornecer um potencial terapêutico para o tratamento de hipertensão renovascular, suprimindo a atividade excessiva do SRAA (LU et al., 2010).

Estudos tem revelado um papel biológico significativo do H₂S, que é lipofílico e permeia livremente as membranas plasmáticas. Esta ação engloba vários mecanismos intracelulares, incluindo a estimulação do trifosfato de adenosina (ATP)-canais de potássio sensíveis (K_{ATP}), a manutenção de grupos de proteínas tiol em seu estado reduzido, a reação com espécies de nitrogênio (RNS) e oxigênio reativos (ROS) proteção de proteínas e lipídios contra danos mediados por ROS / RNS, a estimulação de adenilato ciclase, transporte de cisteína para as células e a redução da síntese de glutathione, a influência sobre proteínas quinases reguladas por sinal extracelular, a inibição de canais de cálcio tipo L e a redução da ativação do complexo proteico fator nuclear kappa (JEONG et al., 2006; KIMURA; KIMURA, 2004; LI; MOORE, 2007; LOWICKA; BETOWSKI, 2007; PATACCHINI et al., 2005; SUN et al., 2008; WHITEMAN et al., 2005).

O H₂S participa no relaxamento de vasos através da abertura dos canais de potássio sensíveis ao ATP e a inibição metabólica de células musculares lisas vasculares. Ele inibe a proliferação dessas células via proteína quinase ativada por mitógenos e as induzem a apoptose (CHEN, XIN; ZHU, 2007; DU et al., 2004; GENG et al., 2004; KISS; DEITCH; SZABO, 2008; XIAO et al., 2007; YANG; SUN; WANG, 2004; YANG; WU; WANG, 2006; ZHAO, 2001).

Possui um papel favorável no envelhecimento e nas doenças associadas à idade (ZHANG et al., 2013). O envelhecimento é considerado o principal fator de risco na progressão da hipertensão (FUKUTOMI; KARIO, 2010). Por ser o H₂S o principal fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e um determinante primário do vasorrelaxamento em inúmeros leitos vasculares (YANG et al., 2008), drogas que alteram a atividade do CSE ou a sulfidação de canais mediada pelo H₂S podem ser agentes terapêuticos e efetivos no tratamento da hipertensão (ZHANG et al., 2013). Além disso, o H₂S tem um papel antiaterogênico por suprimir a formação de células de espuma de macrófagos em humanos, importantes para o desenvolvimento da aterosclerose (LAGGNER et al., 2007a; ZHAO et al., 2011), atenua doenças cardíacas coronárias (JIANG et al., 2005) e ajuda na reparação cardíaca após infarto agudo do miocárdio (XIE et al., 2012).

Além de seu papel benéfico nas doenças cardiovasculares, o H₂S também previne e atenua doenças do sistema nervoso central, como doença de Parkinson (ZHANG; JIANG; LIU, 2009) e Alzheimer (LIU; BIAN, 2010; KIMURA, 2010b), ajuda no controle do Diabetes (SZABO, 2012) e tem uma atividade potencial anticrescimento contra várias células cancerosas humanas (CHATTOPADHYAY et al., 2012).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo mostra, pela primeira vez, que indivíduos hipertensos tratados com antagonistas de canais de cálcio apresentam concentrações de H₂S plasmático maiores que aqueles tratados com inibidores da enzima conversora da angiotensina. Além disso, conforme já descrito na literatura, demonstramos que pacientes hipertensos em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina possuem níveis plasmáticos de nitrato significativamente maiores quando relacionados com pacientes hipertensos em uso de antagonistas de canais de cálcio.

Os tratamentos medicamentosos com antagonistas de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora da angiotensina podem favorecer a função vasodilatadora derivada do endotélio, entretanto mediando a síntese de mediadores gasosos diferentes, sem, entretanto apresentarem correlação na elevação dos mesmos.

Esses achados sugerem que essas medicações possuem como mecanismo de ação adicional a melhora da disfunção endotelial por elevar os níveis plasmáticos de substâncias vasodilatadoras, o que colabora com seus efeitos anti-hipertensivos. Entretanto, são necessários ensaios clínicos em grande escala que possam demonstrar que esses tratamentos da disfunção endotelial possam melhorar o prognóstico do paciente com hipertensão essencial.

5 CONCLUSÃO

Fizeram parte do estudo 36 sujeitos com hipertensão arterial sistêmica sendo que 16 faziam uso de anti-hipertensivos da classe dos antagonistas de canais de cálcio e 20 faziam uso de anti-hipertensivos da classe de inibidores da enzima conversora de angiotensina, todos submetidos a coleta de amostra de sangue venoso para análise plasmática quanto aos níveis de nitrato e H₂S.

A análise da quantificação de nitrato plasmático mostrou-se significativamente maior em hipertensos em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina. Já a análise da quantificação de H₂S plasmático mostrou-se significantemente maior em hipertensos em uso de antagonistas de canais de cálcio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ABE, K.; KIMURA, H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. **Journal of Neuroscience**, v. 16, p. 1066-1071, 1996.

ALI, M.Y. et al. Hydrogen sulphide reduces insulin secretion from HIT-T15 cells by a KATP channel-dependent pathway. **Journal of Endocrinology**, v. 195, p. 105-112, 2007.

ALI, M.Y. et al. Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide? **British Journal of Pharmacology**, v. 149, p. 625-634, 2006.

AISAKA, K. et al. N(G)-methylarginine, an inhibitor of endothelium-derived nitric oxide synthesis, is a potent pressor agent in the guinea pig: does nitric oxide regulate blood pressure in vivo? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 160, n. 2, p. 881-886, 1989.

ANDERSON, T.J.; GERHARD, M.D. et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. **The American journal of Cardiology**, v. 75, 1995.

ANDERSON, T.J.; UEHATA, A. et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulation. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 26, n. 5, p. 1235-1241, 1995.

ARAÚJO, L. J. **Estudos sobre aspectos genéticos da hipertensão arterial sistêmica em afro descendentes do sudoeste do Estado da Bahia**. 2010. Dissertação - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, 2010.

AROR, A.R et al. The Role of Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System in the Development of Endothelial Dysfunction and Arterial Stiffness. **Frontiers Endocrinology (Lausanne)**, v. 4, n. 161, 2013.

BAKRIS, G.L. et al. Baroreflex activation therapy provides durable benefit in patients with resistant hypertension: results of long-term follow-up in the Rheos Pivotal Trial. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 6, p. 152–158, 2012.

BALASUBRAMANYAM, M. et al. Evidence for mechanistic alterations of Ca²⁺ homeostasis in type 2 diabetes mellitus. **International Journal of Experimental Diabetes Research**, v. 1, n. 4, p. 275-287, 2001.

BANNEMBERG, G.L.; VIEIRA, H.L. Therapeutic applications of the gaseous mediators carbon monoxide and hydrogen sulfide. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 19, p. 663, 2009.

BELARDINELLI, M.C. et al. Urinary sulfur compounds in Down syndrome. **Clinical Chemistry**, v. 47, p. 1500, 2001.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

BERNATOVA, I.; PECHANOVA, O.; KRISTEK, F. Mechanism of structural remodelling of the rat aorta during long-term N(G)-nitro-L-arginine methyl ester treatment. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 81, n. 1, p. 99-106, 1999.

BHOOLA, K.D.; FIGUEROA, C.D.; WORTHY, K. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. **Pharmacological Reviews**, v. 44, p. 1-80, 1992.

BHUSHAN, S. et al. Nitrite Therapy Improves Left Ventricular Function During Heart Failure via Restoration of Nitric Oxide (NO) Mediated Cytoprotective Signaling. **Circulation Research**, v. 114, n. 8, p. 1281-1291, 2014.

BIAN, B. et al. ACE Inhibitor and ARB utilization and expenditures in the Medicaid fee-for-service program from 1991 to 2008. **Journal of Managed Care Pharmacy**, v. 16, p. 671-679, 2010.

BIAN, J.S. et al. Role of hydrogen sulfide in the cardioprotection caused by ischemic preconditioning in the rat heart and cardiac myocytes. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 316, p. 370, 2006.

BLACKSTONE, E.; MORRISON, M.; ROTH, M.B. H₂S induces a suspended animation-like state in mice. **Science**, v. 308, p. 518, 2005.

BONETTI, P.O.; LERMAN, L.O.; LERMAN, A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 23, n. 2, p. 168-175, 2003.

BONETTI, P.O. et al. Statin effects beyond lipid lowering--are they clinically relevant? **European Heart Journal**, v. 24, p. 225-248, 2003.

BONETTI, P.O. et al. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 44, p. 217-2141, 2004.

BOYDEN, E.A. The programming of canalization en fetal lungs of man and monkey. **American Journal of Anatomy**, v.145, n. 1, p. 125-131, 1976.

BRADLEY, H. et al. How strong is the evidence for the use of beta-blockers as first-line therapy for hypertension? Systematic review and metanalyses. **Journal of Hypertension**, v. 24, p. 2131-2141, 2006.

BRUNNER, H. et al. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 23, p. 233-246, 2005.

BRZOZOWSKI, T. et al. Acceleration of ulcer healing by cholecystokinin (CCK): role of CCK-A receptors, somatostatin, nitric oxide and sensory nerves. **Regulatory Peptides**, v.3, p. 19-33, 1999.

- BRZOZOWSKI, T. et al. Involvement of nitric oxide (NO) in the mechanism of gastric preconditioning induced by hortic ischemia. **Inflammopharmacology**, v. 3, p. 449-460, 2002.
- BUCCI, M. et al. Hydrogen sulfide accounts for the peripheral vascular effects of zofenopril independently of ACE inhibition. **Cardiovascular Research**, v. 102, n. 1, p. 138-147, 2014.
- BUIKEMA, H. et al. Comparison of zofenopril and lisinopril to study the role of the sulfhydryl-group in improvement of endothelial dysfunction with ACE-inhibitors in experimental heart failure. **British Journal of Pharmacology**, v. 130, p. 1999-2007, 2000.
- BURNETT, W.W. et al. Hydrogen sulfide poisoning: review of 5 years' experience. **Canadian Medical Association Journal**, v. 117, p. 1277-1280, 1977.
- CALBERG, B.; SAMUELSSON, O.; LINDHOLM, L.H. Atenolol in hypertension: is it a wise choice? **Lancet**, v. 364, p. 1684-1689, 2004.
- CALVER, A.; COLLIER, J.; VALLANCE, P. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 90, p. 2548-2554, 1992.
- CALVERT, J.W.; COETZEE, W.A.; LEFER, D.J. Novel insights into hydrogen sulfide-mediated cytoprotection. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 12, p. 1203, 2010.
- CARRETERO, O.A.; OPARIL, S. Essential Hypertension. Part I: Definition and etiology. **Circulation**, v. 101, p. 329-335, 2000.
- CARVALHO, M.H.C. et al. Reactivity of aorta and mesenteric microvessels to drugs in spontaneously hypertensive rats: role of the endothelium. **Journal of Hypertension**, v. 5, p. 377-382, 1987.
- CASINO, P.R. et al. The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. **Circulation**, v. 88, p. 2541-2547, 1993.
- CAVALARI, E. et al. Adesão ao tratamento: estudo entre portadores de Hipertensão arterial em seguimento ambulatorial. **Revista Enfermagem UERJ**, v. 20, p. 67-72, 2012.
- CELERMAJER, D.S. et al. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. **The New England Journal of Medicine**, v. 334, p. 150-154, 1996.
- CELERMAJER, D.S. et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. **Circulation**, v. 88, p. 2149-2155, 1993.
- CESARINO, C.B. et al. Prevalência e fatores sociodemográficos em hipertensos de São José do Rio Preto. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 91, n. 1, p. 31-35, 2008.

- CHANDRA, S. Association of angiotensin II type 1 receptor (A1166C) gene polymorphism and its increased expression in essential hypertension: a case-control study. **PLoS One**, v. 9, n. 7, p. e101502, 2014.
- CHARAKIDA, M. et al. Endothelial response to childhood infection: the role of mannose-binding lectin (MBL). **Atherosclerosis**, v. 208, p. 217-221, 2010.
- CHARAKIDA, M. et al. Endothelial dysfunction in childhood infection. **Circulation**, v. 111, p. 1660–1665, 2005.
- CHATTOPADHYAY, M. et al. Hydrogen sulfide-releasing NSAIDs inhibit the growth of human cancer cells: a general property and evidence of a tissue type-independent effect. **Biochemical Pharmacology**, v. 83, p. 715–722, 2012.
- CHEN, C.Q.; XIN, H.; ZHU, Y.Z. Hydrogen sulfide: third gaseous transmitter, but with great pharmacological potential. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 28, p. 1709–1716, 2007.
- CHEN, J.W. et al. Long-term angiotensin-converting enzyme inhibition reduces plasma asymmetric dimethylarginine and improves endothelial nitric oxide bioavailability and coronary microvascular function in patients with syndrome X. **The American Journal of Cardiology**, v. 90, p. 974–982, 2002.
- CHENG, Y. et al. Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. **American Journal of Physiology**, v. 287, n. 5, 2004.
- CHU, A. et al. Effects of inhibition of nitric oxide formation on basal vasomotion and endothelium-dependent responses of the coronary arteries in awake dogs. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 87, n. 6, p. 1964–1968, 1991.
- CLAPP, B.R. et al. Inflammation and endothelial function: direct vascular effects of human C-reactive protein on nitric oxide bioavailability. **Circulation**, v. 111, p. 1530–1536, 2005.
- COELHO, E.B.; NOBRE, F. Recomendações práticas para se evitar o abandono do tratamento anti-hipertensivo. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 13, n. 1, p. 51-54, 2006.
- COHN, J.N. et al. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. **New England Journal of Medicine**, v. 325, p. 303-310, 1991.
- COLETTA, C. et al. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 23, p. 9161-9166, 2012.
- CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, E. M. Sistema Nervoso Simpático e Hipertensão Arterial Sistêmica. **Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão**. v. 8. n. 1, 2005.

- CORVOL, P. et al. Recent advances in knowledge of the structure and function of the angiotensin I converting enzyme. **Journal of Hypertension Supplement**, v. 13, p. S3–S10 1995. Supplement.
- COSENTINO, F. et al. High glucose causes upregulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species. **Circulation**, v. 107, p. 1017–1023, 2003.
- CREAGER, M.A. et al. The effect of ACE inhibition on endothelium-dependent vasodilation in hypertension. **Journal of Vascular Research**, p. 29-97, 1992.
- CUSPIDI, C. et al. Comparative effects of candesartan and enalapril on left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension: the candesartan assessment in the treatment of cardiac hypertrophy (CATCH) study. **Journal of Hypertension**, v. 20, p. 2293-2300, 2002.
- DAHLOF, B. et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the losartan intervention or endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. **Lancet**, v. 359, p. 995-1003, 2002.
- DAHLOF, B. et al. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicentre randomised controlled trial. **Lancet**, v. 366, p. 895-906, 2005.
- DAWSON, E.A. et al. Changes in vascular and cardiac function after prolonged strenuous exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 105, p. 1562–1568, 2008.
- De BATISTA, P.R. et al. Toll-Like Receptor 4 Upregulation by Angiotensin II Contributes to Hypertension and Vascular Dysfunction through Reactive Oxygen Species Production. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. e104020, 2014.
- DEVARAJ, S. et al. Increased Toll-like Receptor (TLR) 2 and TLR4 expression in monocytes from patients with Type 1 Diabetes: further evidence of a proinflammatory state. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 93, p. 578–583, 2008.
- DE VRIESE, A.S. et al. Endothelial dysfunction in diabetes. **British Journal of Pharmacology**, v. 130, p. 963-974, 2000.
- DILLENBURG. et al. Resveratrol and grape juice differentially ameliorate cardiovascular autonomic modulation in L-NAME-treated rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 179, p. 9-13, 2013.
- DRAPIER, J.C.; WEIZESBIN, J.; HIBBS, J.B. Interferon gamma and tumor necrosis factor induce the L-arginine cytotoxic effects or mechanism in murine macrophages. **European J Immuno**, v. 18, p. 1587-1592, 1988.
- DU, J. et al. The possible role of hydrogen sulfide as a smooth muscle cell proliferation inhibitor in rat cultured cells. **Heart Vessels**, v. 19, p. 75-80, 2004.

EDWARDS, G.; FELETOU, M.; WESTON, A.H. Endothelium-derived hyperpolarising factors and associated pathways: a synopsis. **Pflugers Archiv**, v. 459, p. 863–879, 2010.

EID, L.P. et al. Adesão ao tratamento anti-hipertensivo: análise pelo Teste de Morisky-Green. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 15, n. 2, 2013.

ENSELEIT, F.; HURLIMANN, D.; LÜSCHER, T.F. Vascular protective effects of angiotensin converting enzyme inhibitors and their relation to clinical events. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 37, 2001.

ERDOS, E.G.; TAN, F.; SKIDGEL, R.A. Angiotensin I-converting enzyme inhibitors are allosteric enhancers of kinin B1 and B2 receptor function. **Hypertension**, v. 55, n. 2, p. 214–220, 2010.

ERDOS, E.G.; YANG, H.Y.T. An enzyme in microsomal fraction of kidney that inactivates bradykinin. **Life Sciences**, v. 6, p. 569–574, 1967.

ETO, K.; KIMURA, H. The production of hydrogen sulfide is regulated by testosterone and S-adenosyl-L-methionine in mouse brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 83, p. 80, 2002.

ETO, K. et al. Hydrogen sulfide is produced in response to neuronal excitation. **Journal of Neurochemistry**, v. 22, p. 3386, 2002.

FERRANNINI, E. et al. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and blood pressure: role of age and obesity. **Hypertension**, v. 30, p. 1144–1149, 1997.

FIELDS, L.E. et al. The burden of adult hypertension in the United States 1999 to 2000: a rising tide. **Hypertension**, v. 44, p. 398–404, 2004.

FILIPOVIC, M. R. et al. Chemical characterization of the smallest S-Nitrosothiol, HSNO; cellular cross-talk of H₂S and S-Nitrosothiols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 29, p. 12016–12027, 2012.

FIORDALISO, F. et al. Cardiovascular oxidative stress is reduced by an ACE inhibitor in a rat model of streptozotocin-induced diabetes. **Life Sciences**, v. 79, p. 121–129, 2006.

FIORUCCI, S. et al. The third gas: H₂S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis. **Hepatology**, v. 42, p. 539–548, 2005.

FLAMMER, A.J. et al. The Assessment of Endothelial Function – From Research into Clinical Practice. **Circulation**, v. 126, n. 6, p. 753–767, 2012.

FLAMMER, A.J. et al. Effect of losartan, compared with atenolol, on endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes and hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 25, p. 785–791, 2007.

FLAMMER, A.J.; LUSCHER, T.F. Human endothelial dysfunction: EDRFs. **Pflugers Archiv**, v. 459, p. 1005–1013, 2010.

- FLAMMER, A.J. et al. Effect of atazanavir versus other protease inhibitor-containing antiretroviral therapy on endothelial function in HIV-infected persons: randomised controlled trial. **Heart (British Cardiac Society)**, v. 95, p. 385–390, 2009.
- FLATCHER, M.D. et al. Long-term ACE-inhibitor therapy in patients with heart failure or left-ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients. ACE-Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group. **Lancet**, v. 355, n. 9215, 2000.
- FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.
- FOLKOW, B. Physiological aspects of primary hypertension. **Physiological Reviews**, v. 62, p. 347-504, 1982.
- FORSTERMANN, U.; SESSA, W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function. **European Heart Journal**, v. 33, n. 7, p. 829d–837d, 2012.
- FOX, K.M. Efficacy of perindopril in reduction of cardiovascular events among patients with stable coronary artery disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial (the EUROPA study). **Lancet**, v. 362, p. 782–788, 2003.
- FU, X. et al. An miR-143 promoter variant associated with essential hypertension. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 7, n. 7, p. 1813-1817, 2014.
- FUKUTOMI, M.; KARIO, K. Aging and hypertension. **Expert Review of Cardiovascular Therapy's**, v. 8, p. 1531–1539, 2010.
- FURCHGOTT, R.F. et al. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 53, p. 557-573, 1984.
- FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-376, 1980.
- FYHRQUIST, F.; SAIJONMAA, O. Renin-angiotensin system revisited. **Journal of Internal Medicine**, v. 264, n. 3, p. 224-236, 2008.
- GAMBOA, A. et al. Contribution of endothelial nitric oxide to blood pressure in humans. **Hypertension**, v. 49, n. 1, p. 170-177, 2007.
- GARG, R.; YUSSUF, S. Collaborative Group on ACE-inhibitor Trials. Overview of randomized trials of angiotensin converting enzyme inhibitors on mortality and morbidity in patients with heart failure. **JAMA**, v. 273, p. 1450-1456, 1995.
- GARG, U.C.; HASSID, A. Mechanisms of nitrosothio-induced antimitogenesis in aortic smooth muscle cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 237, p. 243-249, 1993.

- GARRIDO, A. M.; GRIENGLING, K. K. NADPH oxidases and angiotensin II receptor signaling. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 302, p. 148-158, 2009.
- GENG, B. et al. H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 313, p. 362–368, 2004.
- GHIADONI, L.; TADDEI, S.; VIRDIS, A. Hypertension and Endothelial Dysfunction: Therapeutic Approach. **Current Vascular Pharmacology**, v. 10, p. 42-60, 2012.
- GIATRA, I.; LAU, J.; LEVEY, A.S. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the progression of non-diabetic renal disease: a meta-analysis of randomized trials. **Annals of Internal Medicine**, v. 127, p. 337-345, 1997.
- GREEN, L.C.; TANNENBAUM, S.R.; GOLDMANN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, p. 56-58, 1981.
- GREENBERG, B. et al. Effects of long-term enalapril therapy on cardiac structure and function in patients with left ventricular dysfunction. Results of the SOLVD echocardiography substudy. **Circulation**, v. 91, p. 2573–2581, 1995.
- GRIM, C. E.; GRIM, C. M. Alterações na pressão arterial: hipertensão e hipotensão ortostática. In: PORTH, C. M. **Fisiopatologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004. 441 p.
- GRONDA, E. et al. Chronic baroreflex activation effects on sympathetic nerve traffic, baroreflex function, and cardiac haemodynamics in heart failure: a proof-of-concept study. **European Journal of Heart Failure**, 2014.
- GRUNDY, S.M. et al. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. **Circulation**, v. 109, p. 433-438, 2004.
- GRUPPO ITALIANO PER LO STUDIO DELLA SOPRAVVIVENZA NELL'INFARTO MIOCARDIC. Six-month effects of early treatment with lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together withdrawn six weeks after acute myocardial infarction: the GISSI-3 trial. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 27, p. 337–344, 1996.
- Group I-4 C (1995) ISIS-4: a randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58,050 patients with suspected acute myocardial infarction. ISIS-4 (Fourth International Study of Infarct Survival) Collaborative. **Lancet**, v. 345, p. 669–685, 1995.
- GUIMARÃES, D.A. et al. Atorvastatin and sildenafil lower blood pressure and improve endothelial dysfunction, but only atorvastatin increases vascular stores of nitric oxide in hypertension. **Redox Biology**, v. 1, n. 1, p. 578-585, 2013.
- HANSSON, L. et al. Randomized trial of effects of calcium antagonists compared with diuretics and alpha-blockers on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Nordic Diltiazem (NORDIL) study. **Lancet**, v. 356, p. 359–365, 2000.

HANSSON, L. et al. Randomized trial of old and new antihypertensive drugs in elderly patients: cardiovascular mortality and morbidity. The Swedish Trial in Old Patients with Hypertension-2 study. **Lancet**, v.34, p. 1129–1133, 1999a.

HANSSON, L. et al. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality on hypertension: the Captopril Prevention Project (CAPPP) randomized trial. **Lancet**, v. 353, p. 611-616, 1999b.

HARRISON, D.G. The immune system in hypertension. **Transactions of the American Clinical and Climatological Association**, v. 125, p. 130-140, 2014.

HEISS, C. et al. Brief secondhand smoke exposure depresses endothelial progenitor cells activity and endothelial function: sustained vascular injury and blunted nitric oxide production. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 51, p. 1760–1771, 2008.

HEYDE, R. V.; HEYDE, M. E. D. V. Implementando modificações no estilo de vida. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 11, n. 2, p. 102-104, 2004.

HIBBS, J.B.; TAINTOR, R.R.; VAVRIN, Z. Macrophage cytotoxicity: Role of L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. **Science**, v. 235, p. 473-476, 1987.

HIGASHI, Y. et al. A comparison of angiotensin-converting enzyme inhibitors, calcium antagonists, beta-blockers and diuretic agents on reactive hyperemia in patients with essential hypertension: a multicenter study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 35, n. 2, p. 284-291, 2000.

HOFMANN, F. et al. Function of cGMP-dependent protein kinases as revealed by gene deletion. **Physiological Reviews**, v. 86, n. 1, p. 1-23, 2006.

HOPPE, U.C. Minimally invasive system for baroreflex activation therapy chronically lowers blood pressure with pacemaker-like safety profile: results from the Barostim neo trial. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 6, p. 270–276, 2012.

HSUEH, W.A.; LYON, C.J.; QUINONES, M.J. Insulin resistance and the endothelium. **Am J Med**, v. 117, p. 109-117, 2004.

HU, L.F. et al. Hydrogen sulfide inhibits rotenone-induced apoptosis via preservation of mitochondrial function. **Molecular Pharmacology**, v. 75, p. 27–34, 2009.

HU, L.F. et al. Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase in microglia. **Journal of Neurochemistry**, v. 100, p. 1121-1128, 2007.

HURLIMANN, D. et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha treatment improves endothelial function in patients with rheumatoid arthritis. **Circulation**, v. 106, p. 2184–2187, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010.

- ICHIKI, T. et al. Downregulation of angiotensin II type 1 receptor gene transcription by nitric oxide. **Hypertension**, v. 31, p. 342–348, 1998.
- IGNARRO, L.J. et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 84, p. 9265-9269, 1987.
- IGNJATOVIC, T. et al. B1 receptors stimulate nitric oxide production in endothelial cells: signaling pathways activated by angiotensin I-converting enzyme inhibitors and peptide ligands. **Molecular Pharmacology**, v. 66, p.1310–1316, 2004.
- IGNJATOVIC, T. et al. Novel mode of action of angiotensin I converting enzyme inhibitors. Direct activation of bradykinin B1 receptor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, p. 16847–16852, 2002.
- INAGAKI, K. et al. Pharmacological inhibition of epsilon-protein kinase C attenuates cardiac fibrosis and dysfunction in hypertension-induced heart failure. **Hypertension**, v. 51, p.1565–1569, 2008.
- IRIGOYEN, M.C. et al. Fisiopatologia da Hipertensão: o que avançamos? **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de SP**, v. 13, p. 20-36, 2003.
- JACOB, C.; ANWAR, A.; BURKHOUS, T. Perspective on recent developments on sulfur-containing agents and hydrogen sulfide signaling. **Planta Medica**, v. 73, p. 1580, 2008.
- JARDIM, P. C. B. V.; SOUZA, A. L. L.; MONEGO, E.T. Hipertensão arterial. In: PORTO, C.C. **Doenças do coração: prevenção e tratamento**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1998. 453.
- JEONG, S.O. et al. Hydrogen sulfide potentiates interleukin-1-induced nitric oxide production via enhancement of extracellular signal-regulated kinase activation in rat vascular smooth muscle cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 345, n. 3, p. 938–944, 2006.
- JIANG, H.L. et al. Changes of the new gaseous transmitter H₂S in patients with coronary heart disease. **Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao**, v. 25, n. 8, p. 951–954, 2005.
- JOHANSEN, D.; YTREHUS, K.; BAXTER, G.F. Exogenous hydrogen sulfide (H₂S) protects against regional myocardial ischemia-reperfusion injury--Evidence for a role of K_{ATP} channels. **Basic Research in Cardiology**, v. 101, p. 53-60, 2006.
- JUNG, O. et al. Extracellular superoxide dismutase is a major determinant of nitric oxide bioavailability: in vivo and ex vivo evidence from ecSOD-deficient mice. **Circulation Research**, v. 93, p. 622-629, 2003.
- JUONALA, M. et al. Interrelations between brachial endothelial function and carotid intima-media thickness in young adults: the cardiovascular risk in young Finns study. **Circulation**, v. 110, p. 2918–2923, 2004.

KABIL, O.; BANERJEE, R. Redox biochemistry of hydrogen sulfide. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, p. 21903-21907, 2010.

KANNEL, W.B. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. **JAMA**, v. 273, p. 1571-1576, 1996.

KEIDAR, S. et al. Attenuation of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by ramipril is dissociated from its antihypertensive effect and from potentiation of bradykinin. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 35, p. 64-72, 2000.

KIDA, K. et al. Inhaled hydrogen sulfide prevents neurodegeneration and movement disorder in a mouse model of Parkinson's disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 2, p. 343-352, 2011.

KISS, L.; DEITCH, E.A.; SZABO, C. Hydrogen sulfide decreases adenosine triphosphate levels in aortic rings and leads to vasorelaxation via metabolic inhibition. **Life Sciences**, v. 83, p. 589-594, 2008.

KIM, J.H. et al. Antioxidant effect of captopril and enalapril on reactive oxygen species-induced endothelial dysfunction in the rabbit abdominal aorta. **Korean Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 46, n. 1, p. 14-21, 2013.

KIMURA, L. **Fatores genéticos associados à hipertensão essencial em populações remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira – São Paulo**. 2010. Tese - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010a.

KIMURA, H. Hydrogen sulfide: from brain to gut. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.12, p. 1111, 2010b.

KIMURA, Y.; KIMURA, H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. **FASEB Journal**, v. 18, p. 1165-1167, 2004.

KISS, L.; DEITCH, E.A.; SZABO, C. Hydrogen sulfide decreases adenosine triphosphate levels in aortic rings and leads to vasorelaxation via metabolic inhibition. **Life Sciences**, v. 83, p. 589-594, 2008.

KNAPIK, P. et al. Effects of inhaled nitric oxide on the cardiovascular system in patients with mitral valve disease and pulmonary hypertension. **Kardiologia polska's**, v. 3, p. 297-300, 2001.

KOBORI, H. et al. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. **Pharmacological Reviews**, v. 59, n. 3, p. 251-287, 2007.

KOPINCOVA, J.; PUZSEROVA, A.; BERNATOVA, I. Chronic low-dose L-NAME treatment effect on cardiovascular system of borderline hypertensive rats: feedback regulation? **Neuroendocrinology Letters**, v. 29, n. 5, p. 784-789, 2008.

- KOPINCOVA, J.; PUZSEROVA, A.; BERNATOVA, I. L-NAME in the cardiovascular system—nitric oxide synthase activator? **Pharmacological Reports**, v. 64, p. 511–520, 2012.
- KWIATKOSKI, et al. Hydrogen sulfide inhibits preoptic prostaglandin E₂ production during endotoxemia. **Experimental Neurology**, v. 240, p. 88-95, 2013.
- LAGGNER, H. et al. Hydrogen sulphide: a novel physiological inhibitor of LDL atherogenic modification by HOCl. **Free Radical Research**, v. 41, p. 741–747, 2007a.
- LAGGNER, H. et al. The novel gaseous vasorelaxant hydrogen sulfide inhibits angiotensin-converting enzyme activity of endothelial cells. **Journal of Hypertension**, v. 25, n. 10, p. 2100-2104, 2007b.
- LAW, M.R.; MORRIS, J.K.; WALD, N.J. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. **BMJ**, v. 338, p. b1665, 2009.
- LEE, S.W. et al. Hydrogen sulphide regulates intracellular pH in vascular smooth muscle cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 358, p. 1142–1147, 2007.
- LEVITT, M.D.; ABDEL-REHIM, M.S.; FURNE, J. Free and Acid-labile hydrogen sulfide concentrations in mouse tissues: anomalously high free hydrogen sulfide in aortic tissue. **Antioxid Redox Signal**, v. 15, p. 373-378, 2011.
- LEVY, J.; GAVIN, J.R.; SOWERS, J.R. Diabetes mellitus: a disease of abnormal cellular calcium metabolism? **American Journal of Medicine**, v. 96, p. 260-273, 1994.
- LI, L.; MOORE, P.K. An overview of the biological significance of endogenous gases: new roles for old molecules. **Biochemical Society Transactions**, v. 35, p. 1138–1141, 2007.
- LI, J. et al. Effect of inhaled hydrogen sulfide on metabolic responses in anesthetized, paralyzed, and mechanically ventilated piglets. **Pediatric Critical Care Medicine**, v. 9, p. 110-112, 2008.
- LIM, J.J. et al. Vasoconstrictive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of cAMP in vascular smooth muscle cells. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 295, p. C1261–C1270, 2008.
- LINDER, L. et al. Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Blunted response in essential hypertension. **Circulation**, v. 81, p. 1762-1767, 1990.
- LINDHOLM, L.H. et al. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with diabetes in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. **Lancet**, v. 359, p. 1004-1010, 2002.

- LIU, Y.H. et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor antagonists in rats with heart failure. Role of kinins and angiotensin II type 2 receptors. **Journal of Clinical Investigation**, v. 99, p. 1926–1935, 1997.
- LIU, Y.H. et al. Hydrogen sulfide in the mammalian cardiovascular system. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 17, n. 1, 2012.
- LIU, Y.Y.; BIAN, J.S. Hydrogen sulfide protects amyloid-beta induced cell toxicity in microglia. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 22, p. 1189–1200, 2010.
- LOWICKA, E.; BETOWSKI, J. Hydrogen sulfide (H₂S) - the third gas of interest for pharmacologists. **Pharmacological Reports**, v. 59, p. 4–24, 2007.
- LU, M. et al. Hydrogen sulfide inhibits plasma renin activity. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 21, p. 993-1002, 2010.
- LUBSEN, J. et al. Effect of long-acting nifedipine on mortality and cardiovascular morbidity in patients with symptomatic stable angina and hypertension: the ACTION trial. **Journal of Hypertension**, v. 23, n. 3, p. 641–648, 2005.
- LUDERS, S. et al. The PHARAO study: prevention of hypertension with the angiotensin-converting enzyme inhibitor ramipril in patients with high-normal blood pressure: a prospective, randomized, controlled prevention trial of the German Hypertension League. **Journal of Hypertension**, v. 26, p. 1487–1496, 2008.
- LUSCHER, T.F.; BARTON, M. Biology of the endothelium. **Clinical Cardiology**, v. 20, p. 3-10, 1997.
- LUSCHER, T.F.; VANHOUTTE, P.M.; RAIJ, L. Antihypertensive treatment normalizes decreased endothelium-dependent relaxations in rats with salt-induced hypertension. **Hypertension**, v. 9, p. 193–197, 1987. Supplement III.
- MAKIMATTILA, S. et al. Chronic hyperglycemia impairs endothelial function and insulin sensitivity via different mechanisms in insulin-dependent diabetes mellitus. **Circulation**, v. 94, p. 1276–1282, 1996.
- MANCINI, G.B. et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing ENdothelial Dysfunction) Study. **Circulation**, v. 94, p. 258–265, 1996.
- MARLETTA, M.A. et al. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: Nitric oxide is an intermediate. **Biochemistry**, v. 27, p. 8706- 8711, 1988.
- McLENACHAN, J.M. et al. Early evidence of endothelial vasodilator dysfunction at coronary branch points. **Circulation**, v. 82, p. 1169–1173, 1990.
- McMURRAY, J.J.V. et al. Which inhibitor of the renin-angiotensin system should be used in chronic heart failure and acute myocardial infarction? **Circulation**, v. 110, p. 3281–3288, 2004.

MECAWI, A.S. et al. The Role of Angiotensin II on Sodium Appetite After a Low-Sodium Diet. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 25, n. 3, p. 281-291, 2013.

MENDES, E.V. O cuidado das condições crônicas na atenção primária à saúde: o imperativo da consolidação da estratégia da saúde da família. / Eugênio Vilaça Mendes. Brasília, DF: Organização Pan-Americana da Saúde, 2012.

MOLLNAU, H. et al. Effects of angiotensin II infusion on the expression and function of NAD(P)H oxidase and components of nitric oxide/cGMP signaling. **Circulation Research**, v. 90, p. E58-65, 2002.

MONCADA, S.; HIGGS, E.A. The L-arginine-nitric pathway. **New England Journal of Medicine**, v. 329, p. 2002-2012, 1993.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacological Reviews**, v. 43, p. 109-142, 1999.

MONTI, M. et al. The sulphhydryl containing ACE inhibitor Zofenoprilat protects coronary endothelium from Doxorubicin-induced apoptosis. **Pharmacological Reviews**, v. 76, p. 171-181, 2013.

MURAD, F. Nitric oxide signaling: would you believe that a simple free radical could be a second messenger, autacoid, paracrine substance, neurotransmitter, as hormone? **Recent Progress Hormone Research**, v. 53, p. 43-59, 1998.

MUSTAFA, A.K. et al. H₂S signals through protein S-sulfhydration. **Science Signaling**, v. 2, n. 96, 2009.

MUSTAFA, A. K. et al. Hydrogen sulfide as endothelium-derived hyperpolarizing factor sulfhydrates potassium channels. **Circulation Research**, v. 109, p. 1259-U1169, 2011.

NAKMAREONG, S. et al. Tetrahydrocurcumin alleviates hypertension, aortic stiffening and oxidative stress in rats with nitric oxide deficiency. **Hypertension Research**, v. 35, n. 4, p. 418-425, 2012.

NAPOLI, C. et al. Long-term treatment with sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibition reduces carotid intima-media thickening and improves the nitric oxide/oxidative stress pathways in newly diagnosed patients with mild to moderate primary hypertension. **American Heart Journal**, v. 156, n. 6, p. 1154, 2008.

NEAL, B.; MACMAHON, S.; CHAPMAN, N. Blood Pressure Lowering Trialist's Collaboration. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomized trials. **Lancet**, v. 356, p. 1955-1964, 2000.

NEVELSTEEN, I. et al. NO-Dependent Endothelial Dysfunction in Type II Diabetes Is Aggravated by Dyslipidemia and Hypertension, but Can Be Restored by Angiotensin-

Converting Enzyme Inhibition and Weight Loss. **Journal of Vascular Research**, v. 50, n. 6, 2013.

OGIHARA, T. et al. On behalf of The Japanese Society of Hypertension Committee. The Japanese Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension (JSH 2009). **Hypertension Research**, v. 32, n. 1, p. 11-23, 2009.

OKON, E.B. et al. Augmented contractile response of vascular smooth muscle in a diabetic mouse model. **Journal of Vascular Research**, v. 40, p. 520-530, 2003.

OSTROWSKI, R.P.; PUCKO, E.B. Research of medical gases in Poland. **Medical Gas Research**, v. 3, n. 1, 2013.

PADWAL, R.; STRAUS, S.E.; MCALISTER, F.A. Cardiovascular risk factors and their impact on decision to treat hypertension: an evidence-based review. **BMJ**, v. 322, p. 977-80, 2001.

PAHOR, M. et al. Health outcomes associated with calcium antagonists compared with other first-line antihypertensive therapies: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Lancet**, v. 356, p. 1949-1954, 2000.

PALARDY, M.; DUCHARME, A.; O'MEARA, E. Inhibiting the renin-angiotensin system with ACE inhibitors or ARBs after MI. **Current Heart Failure Reports**, v. 4, n. 4, p. 190-197, 2007.

PALMER, R.M.; ASHTON, D.S.; MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, v. 333, n. 6174, p. 664-666, 1988.

PAN, T.T. et al. Endogenous hydrogen sulfide contributes to the cardioprotection by metabolic inhibition preconditioning in the rat ventricular myocytes. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 40, p. 119-130, 2006.

PANZA, J.A. et al. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **The New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 22-27, 1990.

PATACCHINI, R. et al. Pharmacological investigation of hydrogen sulfide (H₂S) contractile activity in rat detrusor muscle. **European Journal of Pharmacology**, v. 509, p. 171-177, 2005.

PECHANOVA, O. et al. Protein remodelling of the heart in NO-deficient hypertension: the effect of captopril. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 29, n. 12, p. 3365-3374, 1997.

PEREIRA, A.C. et al. Nitric oxide synthesis and biological functions of nitric oxide released from ruthenium compounds. **Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, p. 947-957, 2011.

PEREIRA, F.H.; BATALHÃO, M.E.; CÁRNIO, E.C. Correlation between body temperature, blood pressure and plasmatic nitric oxide in septic patients. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v. 22, n. 1, p. 123-128, 2014.

PEREIRA, M. et al. Differences in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. **Journal of Hypertension**, v. 27, p. 5, 2009.

PFEFFER, M.A. Angiotensin-converting enzyme inhibition in congestive heart failure: benefit and perspective. **American Heart Journal**, v. 126, p. 789–793, 1993.

PFEFFER, M.A. et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. **New England Journal of Medicine**, v. 327, p. 669–677, 1992.

PLOTNICK, G.D.; CORRETTI, M.C.; VOGEL, R.A. Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal. **JAMA**, v. 278, p. 1682–1686, 1997.

PORTH, A. M. Controle da circulação. In: _____. *Fisiopatologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004. 383.

PRISANT, L.M. Nebivolol: pharmacologic profile of an ultraselective, vasodilatory beta1-blocker. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 48, p. 225–239, 2008.

PROGRESS COLLABORATIVE GROUP. Randomized trial of a perindopril-based blood pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. **Lancet**, v. 35, p. 1033–1041, 2001.

PSATY, B.M. et al. Health outcomes associated with antihypertensive therapies used as firstline agents. A systematic review and meta-analysis. **JAMA**, v. 277, p. 739-45, 1977.

RAFIKOV, R. et al. eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the posttranslational control of endothelial nitric oxide synthase activity. *Journal of Endocrinology*, v. 210, n. 3, p. 271–284, 2011.

RAJAGOPALAN, S. et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. **Journal of Clinical Investigation**, v. 97, p. 1916–23, 1996.

REES, D.D.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, n. 9, p. 3375–3378, 1989.

REGOLI, D.; BARABE, J. Pharmacology of bradykinin and related kinins. **Pharmacological Reviews**, v. 32, n. 1–46, 1980.

RERIANI, M.K. et al. Effects of statins on coronary and peripheral endothelial function in humans: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation**, v. 18, n. 5, p. 704-716, 2011.

ROGER, V.L. et al. Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 123: e18e209, 2011.

RONG-NA, L. et al. Interaction between hydrogen sulfide and nitric oxide on cardiac protection in rats with metabolic syndrome. **Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao**, v. 33, n. 1, p. 25-32, 2011.

ROSÁRIO, T.M. et al. Prevalência, controle e tratamento da hipertensão arterial sistêmica em Nobres, MT. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, n. 6, p. 672-678, 2009.

RUGGENENTI, P. et al. Preventing microalbuminuria in type 2 diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 351, p. 1941-1951, 2004.

RUILOPE, L.M. Hypertension in 2010: Blood pressure and the kidney. **Nature Reviews Nephrology**, v. 7, n. 2, p. 73-74, 2011.

SAKUMA, I. et al. N^G-Methyl-L-arginine, an inhibitor of L-arginine-derived nitric oxide synthesis, stimulates renal sympathetic nerve activity in vivo: a role for nitric oxide in the central regulation of sympathetic tone? **Circulation Research**, v. 70, p. 607-611, 1992.

SCHIFFRIN, E.L. et al. Correction of arterial structure and endothelial dysfunction in human essential hypertension by the angiotensin receptor antagonist losartan. **Circulation**, v. 101, p. 1653-1659, 2000.

SHECHTER, M. et al. Oral magnesium therapy improves endothelial function in patients with coronary artery disease. **Circulation**, v. 102, p. 2353-2358, 2000.

SHESELY, E.G. et al. Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 23, p. 13176-13181, 1996.

SHIBUYA, N. et al. 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 11, p. 703-714, 2009.

SIMÃO, A.N.C. et al. Aumento de óxido nítrico e diminuição da pressão sanguínea em pacientes com síndrome metabólica em uso de proteína de soja ou óleo de peixe. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabólica**, v. 54, n. 6, 2010.

SIVARAJAH, A. et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R. **Shock**, v. 31, p. 267, 2009.

SKEGGS JR, L.T.; KAHN, J.R.; SHUMWAY, N.P. The preparation and function of the hypertensin-converting enzyme. **Journal of Experimental Medicine**, v. 103, p. 295–299, 1956.

SMITH, R.P.; GOSSELIN, R.E. Hydrogen sulfide poisoning. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 21, p. 93-97, 1979.

SMITS, P. et al. Endothelium-dependent vascular relaxation in patients with type I diabetes. **Diabetes**, v. 42, p. 148–153, 1993.

SNYDER, S.H.; BREDT, D.S. Biological role of nitric oxide. **Scientific American**, v. 266, p. 68-77, 1992.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA / SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO / SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95 (1 supl.1), p. 1-51, 2010a.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA: VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial: Diagnóstico e classificação. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 17, n. 1, jan./mar. 2010b.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA: VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial: Tratamento medicamentoso. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 17, n. 1, jan./mar. 2010c.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso – 2. ed. Barueri, SP : Minha Editora, 2010.

SORENSEN, K.E. et al. Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. **Journal of Clinical Investigation**, v. 93, p. 50–55, 1994.

SOUZA, SILVA BEATRIZA PAULINO CAVASIN. 2011. **Associação da disfunção diastólica de origem hipertensiva com a atividade simpática cardíaca e periférica**. Tese - Programa de cardiologia, Faculdade de medicina da USP, São Paulo, 2011.

SPIEKER, L.E. et al. High-density lipoprotein restores endothelial function in hypercholesterolemic men. **Circulation**, v. 105, p. 1399–1402, 2002.

STANISAVLJEVIC, S. et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitors block protein kinase C epsilon by activating bradykinin B1 receptors in human endothelial cells. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 316, p. 1153–1158, 2006.

STEINBERG, H.O. et al. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v. 97, p. 2601–2610, 1996.

STIPANUK, M.H.; BECK, P.W. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. **Biochemical Journal**, v. 206, p. 267–277, 1982.

STUEHR, D.J.; MARLETTA, M.A. Mammalian nitrate biosynthesis: Mouse macrophages produce nitrite in response to *Escherichia coli* lipopolysaccharide. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 82, p. 7738–7742, 1985.

SUN, Y.G. Et al. Hydrogen sulphide is an inhibitor of L-type calcium channels and mechanical contraction in rat cardiomyocytes. **Cardiovascular Research**, v. 79, p. 632–641, 2008.

SZABO, C. Roles of hydrogen sulfide in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 17, p. 68–80, 2012.

TADDEI, S. et al. Defective L-arginine-nitric oxide pathway in offspring of essential hypertensive patients. **Circulation**, v. 94, p. 1298–1303, 1996.

TADDEI, S. et al. Effects of angiotensin converting enzyme inhibition on endothelium-dependent vasodilatation in essential hypertensive patients. **Journal of Hypertension**, v. 16, p. 447–456, 1998.

TADDEI, S. et al. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction: clinical implications. **Drugs**, v. 62, p. 265–284, 2002.

TADDEI, S. et al. Lacidipine restores endothelium-dependent vasodilation in essential hypertensive patients. **Hypertension**, v. 30, p. 1606–1612, 1997.

TAKEMOTO, M. et al. Important role of tissue angiotensin-converting enzyme activity in the pathogenesis of coronary vascular and myocardial structural changes induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. **Journal of Clinical Investigation**, v. 99, n. 2, p. 278–287, 1997.

TANG, E.H.; VANHOUTTE, P.M. Endothelial dysfunction: a strategic target in the treatment of hypertension? **Pflugers Archiv**, v. 459, p. 995–1004, 2010.

TAWAKOL, A. et al. Homocysteine impairs coronary microvascular dilator function in humans. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 40, p. 1051–1058, 2002.

The ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcome in high-risk hypertensive patients to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic. The Anti hypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). **JAMA**, v. 228, p. 2981–97, 2002.

THE HEART OUTCOMES PREVENTION EVALUATION STUDY INVESTIGATORS. Effects of an angiotensin converting enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. **The New England Journal of Medicine**, v. 342, p. 145–153, 2000.

TOGASHI, H. et al. A central nervous system action of nitric oxide in blood pressure regulation. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 262, p. 343-347, 1992.

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

TREASURE, C.B. et al. Epicardial coronary artery responses to acetylcholine are impaired in hypertensive patients. **Circulation research**, v. 71, p. 776–781, 1992.

USUI, M. et al. Regulation of angiotensin II receptor expression by nitric oxide in rat adrenal gland. **Hypertension**, v. 32, n. 3, p. 527–533, 1998.

VANHOUTTE, P.M.; BOULANGER, C.M. Endothelium-dependent responses in hypertension. **Hypertension Research**, v. 18, p. 87-89, 1995.

VANHOUTTE, P.M. Endothelium and control of vascular function. State of the art lecture. **Hypertension**, v. 13, p. 658-667, 1989.

VARGAS, H.M.; IGNARRO, L.J.; CHAUDHURI, G. Physiological release of nitric oxide is dependent on the level of vascular tone. **European Journal of Pharmacology**, v. 190, n. 3, p. 393–397, 1990.

VIEIRA, C.P. et al. Análise da Mortalidade de Pacientes Hipertensos de Unidade Pública e Especializada na Cidade de Ribeirão Preto (SP). **Revista Brasileira de Cardiologia**, v. 25, n. 4, p. 276 -281, 2012.

VIRDIS A. et al. Mechanisms responsible for endothelial dysfunction induced by fasting hyperhomocystinemia in normotensive subjects and patients with essential hypertension. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 38, p. 1106–1115, 2001.

VIRDIS, A.; GHIADONI, L.; TADDEI, S. Human endothelial dysfunction: EDCFs. **Pflugers Archiv**, v. 459, p. 1015–1023, 2010.

VIRDIS, A. et al. Endothelial function assessment in complicated hypertension. **Current Pharmaceutical Design**, v. 14, p. 1761-70, 2008.

VIRDIS, A.; GHIADONI, L.; TADDEI, S. Effects of Antihypertensive Treatment on Endothelial Function. **Current Hypertension Reports**, v. 13, n. 4, p. 276-281, 2011.

WANG, R. Hydrogen sulfide: a new EDRF. **Kidney International**, v. 76, p. 700-704, 2009.

WANG, R. Hydrogen sulfide: the third gasotransmitter in biology and medicine. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 12, n. 9, p. 1061, 2010.

WANG, R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? **FASEB Journal**, v. 16, p. 1792-1798, 2002.

WEBB, G.D. et al.. Contractile and vasorelaxant effects of hydrogen sulfide and its biosynthesis in the human internal mammary artery. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 324, p. 876-82, 2008.

WEERATEERANGKUL, P.; CHATTIPAKORN, S.; CHATTIPAKORN, N. Roles of the nitric oxide signaling pathway in cardiac ischemic preconditioning against myocardial ischemia-reperfusion injury. **Medical Science Monitor**, v. 17, n. 2, 2011.

WEI, D; HE, WY; LV, QZ. Effect of Nisoldipine and Olmesartan on Endothelium-Dependent Vasodilation in Essential Hypertensive Patients. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 18, n. 5, p. 400–405, 2012.

WELDON, S.M.; WINQUIST, R.J.; MADWED, J.B. Differential effects of L-NAME on blood pressure and heart rate responses to acetylcholine and bradykinin in cynomolgus primates. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 272, n. 1, p. 126–133, 1995.

WESTERMANN, D. et al. Gene deletion of the kinin receptor B1 attenuates cardiac inflammation and fibrosis during the development of experimental diabetic cardiomyopathy. **Diabetes**, v. 58, p. 1373–1381, 2009.

WHITE, W.B. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in the treatment of hypertension: an update. **Journal of Clinical Hypertension**, v. 9, n. 11, p. 876-882, 2007.

WHITEMAN, M. et al. Hydrogen sulphide: a novel inhibitor of hypochlorous acid-mediated oxidative damage in the brain? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 326, p. 794–798, 2005.

WHITING, C. et al. **American Journal of Physiology – Renal**, v. 305, n. F1031-F1041, 2013.

WILINSKI, B. et al. Ramipril affects hydrogen sulfide generation in mouse liver and kidney. **Folia Biological (Krakow)**, v. 58, n. 3-4, p. 177-80, 2010.

WILINSKI, B. et al. Amlodipine affects endogenous hydrogen sulfide tissue concentrations in different mouse organs. **Folia Medica Cracoviensia**, v. 51, n. 1-4, p. 29-35, 2011a.

WILINSKI, B. et al. Atorvastatin affects the tissue concentration of hydrogen sulfide in mouse kidneys and other organs. **Pharmacological reports**, v. 63, p.184-188, 2011b.

WILINSKI, B. et al. Carvedilol induces endogenous hydrogen sulfide tissue concentration changes in various mouse organs. **Folia Biological (Krakow)**, v. 59, n. 3-4, p. 151-155, 2011c.

- WILINSKI, B. et al. Digoxin increases hydrogen sulfide concentrations in brain, heart and kidney tissues in mice. **Pharmacological Reports**, v. 63, n. 5, p. 1243-1247, 2011d.
- WILINSKI, B. et al. Paracetamol (acetaminophen) decreases hydrogen sulfide tissue concentration in brain but increases it in the heart, liver and kidney in mice. **Folia Biological (Krakow)**, v. 59, n. 1-2, p. 41-44, 2011e.
- WILINSKI, B. et al. Vitamin D3 (cholecalciferol) boosts hydrogen sulfide tissue concentrations in heart and other mouse organs. **Folia Biological (Krakow)**, v. 60, n. 3-4, p. 243-247, 2012.
- WILINSKI, B. et al. Metformin raises hydrogen sulfide tissue concentrations in various mouse organs. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 3, p. 737-42, 2013.
- WILINSKI, J. et al. Ramipril enhances the endogenous hydrogen sulfide tissue concentration in mouse heart and brain. **Folia Medica Cracoviensia**, v. 49, n. 3-4, p. 123-30, 2008.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Adherence to Long-Term Therapies: Evidence for Action**. Geneva, 2003.
- WUSTMANN, K. et al. Effects of chronic baroreceptor stimulation on the autonomic cardiovascular regulation in patients with drug-resistant arterial hypertension. **Hypertension**, v. 54, p. 530–536, 2009.
- WRIGHT, J.M.; LEE, C.H.; CHAMBER, G.K. Systematic review of antihypertensive therapies: does the evidence assist in choosing a first-line drug. **CMAJ**, v. 161, p. 25-32, 1999.
- XIAO L. et al. Hydrogen sulfide facilitates carotid sinus baroreceptor activity in anesthetized male rats. **Chinese Medical Journal**, v. 120, p. 1343–1347, 2007.
- XIAO, L. et al. Hydrogen sulfide facilitates carotid sinus baroreflex in anesthetized rats. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 27, p. 294–298, 2006.
- XIE, X. et al. Transplantation of mesenchymal stem cells preconditioned with hydrogen sulfide enhances repair of myocardial infarction in rats. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 226, p. 29–36, 2012.
- XU, J. et al. Role of the B1 kinin receptor in the regulation of cardiac function and remodeling after myocardial infarction. **Hypertension**, v. 45, p. 747–753, 2005.
- XU, J. et al. The kinin B1 receptor contributes to the cardioprotective effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in mice. **Experimental Physiology**, v. 94, p. 322–329, 2009.
- XUE, H. et al. H₂S inhibits hyperglycemia-induced intrarenal renin-angiotensin system activation via attenuation of reactive oxygen species generation. **PLOS ONE**, v. 8, n. 9, 2013.

- YAN, H.; DU, J.; TANG, C. The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 313, p. 22-27, 2004.
- YANG, G. et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. **Science**, v. 322, p. 587-590, 2008.
- YANG, G.; SUN, X.; WANG, R. Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of mitogen-activated protein kinases and caspase-3. **FASEB Journal**, v. 18, p. 1782, 2004.
- YANG, G.; WU, L.; WANG, R. Pro-apoptotic effect of endogenous H₂S on human aorta smooth muscle cells. **FASEB Journal**, v. 20, n. 3, p. 553–555, 2006.
- YANG, H.Y.; ERDOS, E.G.; LEVIN, Y. Characterization of a dipeptide hydrolase (kininase II: angiotensin I converting enzyme). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 177, n. 1, p. 291–300, 1971.
- YANG, H.Y.; ERDOS, E.G. Second kininase in human blood plasma. **Nature**, v. 215, p. 1402–1403, 1967.
- YONG, Q.C. et al. Negative regulation of beta-adrenergic function by hydrogen sulphide in the rat hearts. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 44, p. 701–710, 2008.
- ZEIHER, A.M.; SCHACHINGER, V.; MINNERS, J. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary arterial vasodilator function. **Circulation**, v. 92. P. 1094–1100, 1995.
- ZHANG, L.M.; JIANG, C.X.; LIU, D.W. Hydrogen sulfide attenuates neuronal injury induced by vascular dementia via inhibiting apoptosis in rats. **Neurochemical Research**, v. 34, p. 1984–1992, 2009.
- ZHANG, Q. et al. Functional relevance of Golgi- and plasma membrane-localized endothelial NO synthase in reconstituted endothelial cells. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, n. 5, p. 1015–1021, 2006.
- ZHANG, X. et al. Effects of combination of statin and calcium channel blocker in patients with cardiac syndrome X. **Coronary Artery Disease**, v. 25, n. 1, p. 40-44, 2014.
- ZHANG, Y. et al. Hydrogen sulfide, the next potent preventive and therapeutic agent in aging and age-associated diseases. **Molecular and Cellular Biology**, v. 33, n. 6, p. 1104–1113, 2013.
- ZHAO, W. et al. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K_{ATP} channel opener. **EMBO J**, v. 20, p. 6008–6016, 2001.
- ZHAO, W.; WANG, R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 283, p. H474–H480, 2002.

ZHAO, X. et al. Regulatory effect of hydrogen sulfide on vascular collagen content in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension Research**, v. 31, p. 1619-1630, 2008.

ZHAO, Z.Z. et al. Hydrogen sulfide inhibits macrophage-derived foam cell formation. **Experimental Biology and Medicine**, v. 236, p. 169–176, 2011.

ZHENG, H et al. Association between polymorphism of the G-protein $\beta 3$ subunit C825T and essential hypertension: an updated meta-analysis involving 36,802 subjects. **Biological Research**, v. 46, n. 3, p. 265-273, 2013.

ZURYNSKA, M. Nitric oxide therapy as professional life saving activity. **Prz Chir Dziec**, v. 3, p. 269–272, 2008.

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido

Estamos realizando um estudo com objetivo de avaliar as concentrações de óxido nítrico e ácido sulfídrico (H₂S) no sangue, correlacionando-as às medicações utilizadas para o tratamento de hipertensão arterial pertencentes às classes medicamentosas antagonistas de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina, em pacientes com hipertensão arterial, e pedimos a você que colabore com a nossa pesquisa. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar as pessoas responsáveis por este trabalho (Enfermeira Letícia ou Professora Evelin), pelo telefone 17 996041904 ou 17 35424254.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: Farmacoterapia e análise de mediadores gasosos em pacientes hipertensos.

Pesquisadores Responsáveis : Enfermeira Letícia Palota Eid

Profa. Dra. Evelin Capellari Cárnio

O objetivo deste estudo será avaliar as concentrações plasmáticas de óxido nítrico e ácido sulfídrico, correlacionando-as às medicações utilizadas para o tratamento de hipertensão arterial pertencentes às classes medicamentosas antagonistas de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina, em pacientes com hipertensão arterial.

Sendo assim, solicitamos que você assine este termo autorizando a utilização dos dados. Durante a realização do estudo, será coletado sangue (aproximadamente 10 mL) em uma única coleta de sangue, que será realizada pela enfermeira que está realizando a pesquisa, com técnica correta, toda a segurança e cuidados necessários para diminuir a dor e evitar qualquer dano.

A dosagem de óxido nítrico e ácido sulfídrico será feita no Laboratório de Fisiologia aplicada à Enfermagem da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Garantimos o sigilo (segredo) dos dados do paciente e esclarecemos que você poderá, a qualquer momento, retirar o consentimento caso se arrependa de participar da pesquisa. Qualquer decisão tomada por você não trará nenhum prejuízo.

Informamos que a sua participação não envolve nenhum tipo de despesa, e você não receberá pagamento ou gratificação por sua participação. Os resultados deste estudo serão explicitados em revistas científicas.

Eu, _____
_____, RG/CPF _____, abaixo assinado, autorizo a utilização dos meus dados na pesquisa “Farmacoterapia e análise de mediadores gasosos em pacientes hipertensos.”. Fui devidamente informado e esclarecido pela pesquisadora Letícia Palota Eid sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data _____

Nome e Assinatura do responsável legal: _____

Nome e assinatura do paciente: _____

Nome e Assinatura dos pesquisadores

Letícia Palota Eid

Profa. Dra. Evelin Capellari Carnio

APÊNDICE B - Instrumento de coleta de dados

Nome:

Data de nascimento:

Cor declarada:

Endereço:

Telefone:

Medicações em uso:

Tempo de uso de cada medicação:

APÊNDICE C - Resultados individuais da quantificação de nitrato plasmático e h_2s em hipertensos sob terapia medicamentosa de antagonistas de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina.

Tabela 3 - Concentração de nitrato no plasma humano, segundo a classe medicamentosa em uso ACC (antagonista de canais de cálcio) e IECA (inibidores da enzima conversora da angiotensina).

Paciente	Concentração de nitrato em μM	Classe Medicamentosa
1	8,30	ACC
2	7,03	ACC
3	12,86	ACC
4	23,63	ACC
5	9,53	ACC
6	14,12	ACC
7	11,51	ACC
8	22,22	ACC
9	13,33	ACC
10	4,53	ACC
11	27,98	ACC
12	10,48	ACC
13	5,77	ACC
14	10,45	ACC
15	15,45	ACC
16	13,01	ACC
17	20,22	IECA
18	17,77	IECA
19	21,60	IECA
20	19,05	IECA
21	21,04	IECA
22	38,90	IECA
23	13,21	IECA
24	15,86	IECA
25	21,04	IECA

Paciente	Concentração de nitrato em μM	Classe Medicamentosa
26	22,45	IECA
27	12,01	IECA
28	21,92	IECA
29	11,77	IECA
30	27,60	IECA
31	8,06	IECA
32	13,18	IECA
33	18,60	IECA
34	15,27	IECA
35	16,60	IECA
36	7,53	IECA

Tabela 4 - Concentração de Ácido Sulfídrico (H₂S) no plasma humano, segundo a classe medicamentosa em uso ACC (antagonista de canais de cálcio) e IECA (inibidores da enzima conversora da angiotensina).

Paciente	Concentração de H₂S em μM	Classe Medicamentosa
1	8,628	ACC
2	1,176	ACC
3	7,44	ACC
4	3,473	ACC
5	6,396	ACC
6	6,605	ACC
7	4,099	ACC
8	9,319	ACC
9	2,429	ACC
10	6,187	ACC
11	11,2	ACC
12	0,341	ACC

Paciente	Concentração de H₂S em μM	Classe Medicamentosa
13	4,099	ACC
14	3,056	ACC
15	3,056	ACC
16	6,187	ACC
17	1,594	IECA
18	4,099	IECA
19	7,022	IECA
20	1,348	IECA
21	0,968	IECA
22	4,099	IECA
23	0,498	IECA
24	1,594	IECA
25	1,773	IECA
26	1,385	IECA
27	2,107	IECA
28	1,348	IECA
29	3,474	IECA
30	1,385	IECA
31	0,923	IECA
32	0,759	IECA
33	0,4	IECA
34	4,104	IECA
35	1,176	IECA

Tabela 5– Distribuição dos hipertensos de acordo com a média da concentração de Ácido Sulfídrico (H₂S) no plasma humano segundo a classe medicamentosa em uso.

Antagonistas de Canais de Cálcio	Inibidores da ECA
8,628	6,187
1,176	1,594
7,44	4,099
3,473	7,022
6,396	1,348
6,605	0,968
4,099	4,099
9,319	0,498
2,429	1,594
6,187	1,773
11,2	1,385
0,341	2,1073
4,099	1,348
3,056	3,474
3,056	1,385
	0,923
	0,759
	0,4002
	4,1039
	1,176
5.167 ± 0.8052 N=15	2.312 ± 0.4214 N=20

ANEXO A



FACULDADE DE MEDICINA DE
SÃO JOSÉ DO RIO PRETO-
FAMERP - SP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo da correlação entre medicações anti-hipertensivas e dosagem de ácido sulfídrico plasmático em pacientes com hipertensão arterial.

Pesquisador: Leticia Palota Eid

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 07105612.3.0000.5415

Instituição Proponente: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 189.871

Data da Relatoria: 11/12/2012

Apresentação do Projeto:

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença cardiovascular comum e o fator de risco principal para acidente vascular encefálico (AVC) ou doenças cardíacas. Nos Estados Unidos, por exemplo, há uma taxa de prevalência de aproximadamente 40% em adultos acima de 20 anos, sendo praticamente igual entre homens e mulheres. Vários grupos investigaram os efeitos do H2S na hipertensão. O tratamento com H2S pode abaixar significativamente a pressão sanguínea em animais hipertensos. O objetivo deste estudo é avaliar concentrações plasmáticas de ácido sulfídrico em portadores de HAS em uso de anti-hipertensivos pertencentes às classes medicamentosas bloqueadores de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina. O desenho de pesquisa é observacional. A pesquisa será realizada em um município do interior de São Paulo, em um Centro de Saúde, com 40 portadores de hipertensão arterial que fazem uso de anti hipertensivos das

Endereço: BRIGADEIRO FARIA LIMA, 5416
Bairro: VILA SAO JOAO **CEP:** 15.090-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DO RIO PRETO
Telefone: (17)3201-5813 **Fax:** (17)3201-5813 **E-mail:** cepfamerp@famerp.br



FACULDADE DE MEDICINA DE
SÃO JOSÉ DO RIO PRETO-
FAMERP - SP



classes medicamentosas bloqueadores de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina. Será realizada a coleta de uma amostra de sangue (10ml) após jejum de 12 horas e após o sangue será centrifugado no Laboratório de Análises Clínicas do Anexo I, pertencente a Prefeitura Municipal de Novo Horizonte, a 2500 rpm por 15 minutos, para separação do plasma, que será armazenado a -70°C . A biossíntese de H₂S será determinada conforme descrita por Siegel (1965). O sangue será coletado e após centrifugação por 20 minutos a 3000 rpm, o plasma será coletado para posterior determinação das concentrações de H₂S. A cada amostra de 200 μL de plasma será adicionado 20 μL de L-cisteína 10 mM, 20 μL de piridoxal 5 α -fosfatase e 30 μL de PBS e será incubado por 2 horas a 37°C . Acetato de zinco (1% 100 μL) será então adicionado seguido da adição de ácido tricloroacético (10% (w/v); 100 μL) para precipitar a proteína e dessa forma parar a reação. Após nova centrifugação será adicionado 50 μL de N,N-sulfato de dimetil-pphenilenediamina 20 mM seguido por 50 μL FeCl₃ 30 mM. Uma amostra do sobrenadante (50 μL) será medido por espectrofotometria com comprimento de onda de 670 nm. A concentração de H₂S de cada amostra sera calculada à partir de uma curva de calibração de 100-0.1 $\mu\text{g/mL}$ NaHS. Todos os reagentes utilizados deverão ser adquiridos da Sigma.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar concentrações plasmáticas de ácido sulfídrico em portadores de HAS em uso de anti-hipertensivos pertencentes às classes medicamentosas bloqueadores de canais de cálcio e inibidores da enzima conversora de angiotensina.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Recomendável citar, especificamente, quais serão os "acessos venosos".

Endereço: BRIGADEIRO FARIA LIMA, 5416
Bairro: VILA SAO JOAO CEP: 15.090-000
UF: SP Município: SAO JOSE DO RIO PRETO
Telefone: (17)3201-5813 Fax: (17)3201-5813 E-mail: cepfamerp@famerp.br

