CLAUDIA MOREIRA DOS SANTOS

**INTERAÇÕES ENTRE ANGIOTENSINA II, ATIVIDADE DO NERVO DEPRESSOR
AÓRTICO E ATIVIDADE SIMPÁTICA ESPLÂNCNICA DURANTE O
DESENVOLVIMENTO DA HIPERTENSÃO POR COARCTAÇÃO**

Tese apresentada ao Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências (Fisiologia).

São Paulo

1999

Candidato(a): Claudia Moreira dos Santos.

Título da Tese: Interações entre angiotensina II, atividade do nervo depressor aórtico e atividade simpática esplâncnica durante o desenvolvimento da hipertensão por coarctação.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a 25/11/99, considerou o(a) candidato(a):

(☒) **Aprovado(a)**

(☐) **Reprovado(a)**

1) Examinador(a)

2) Examinador(a)

3) Examinador(a)

4) Examinador(a)

5) Presidente

CLAUDIA MOREIRA DOS SANTOS

**INTERAÇÕES ENTRE ANGIOTENSINA II, ATIVIDADE DO NERVO DEPRESSOR
AÓRTICO E ATIVIDADE SIMPÁTICA ESPLÂNCNICA DURANTE O
DESENVOLVIMENTO DA HIPERTENSÃO POR COARCTAÇÃO**

Tese apresentada ao Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências (Fisiologia).

Área de concentração:
Fisiologia Humana

Orientador:
Prof. Dra. Lisete Compagno Michelin

São Paulo

1999

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Santos, Claudia Moreira dos.

Interações entre angiotensina II, atividade do nervo depressor aórtico e atividade simpática esplâncnica durante o desenvolvimento da hipertensão por coarctação / Claudia Moreira dos santos. -- São Paulo, 1999.

Tese (Doutorado)—Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Departamento de Fisiologia e Biofísica.

Área de concentração: Fisiologia Humana.

Linha de pesquisa: Mecanismos de regulação da pressão na hipertensão.

Orientador: Michelini, Lisete Compagno.

Versão do título para o inglês: Interactions between angiotensin II, aortic and sympathetic nerve during development of coarctation hypertension.

Descritores: 1. Hipertensão 2. Pressorreceptores 3. Angiotensina II 4. Atividade simpática esplâncnica 5. Nervo depressor aórtico 6. Receptores AT₁

À Lecabel,

À minha família, pela
confiança, apoio e sobretudo
pelo incentivo.

Ao João pela paciência,
carinho, dedicação e
compreensão nos momentos
mais críticos.

Agradecimentos:

À Profa. Dra. Lisete Compagno Michelini, pela confiança, dedicação e a grande contribuição tanto à minha formação científica como à orientação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Moacyr Krieger pelo apoio no desenvolvimento deste projeto.

À Dra. Maria Cláudia Costa Irigoyen, pela agradável interação e sugestões nas análises simpáticas.

Ao Prof. Dr. Marcus Vinícius C. Baldo, pela gentil colaboração no esclarecimento das questões estatísticas.

A toda a equipe do laboratório de Hipertensão do Instituto do Coração, especialmente ao Edson Dias Moreira, pelo precioso auxílio nos experimentos e ao Fumio Ida, pelas sugestões para a análise de dados.

À Vera Pontieri, pelos importantes ensinamentos, dedicação, presteza e sobretudo pela amizade.

Aos amigos da pós-graduação e do laboratório de fisiologia cardiovascular, Daniel Luís Dufloth, Douglas da C. Braga, Marcos Santos, Sandra Lia do Amaral, Eliana Mori, Keila T. Higa, Leandro U. Taniguchi, Alexandre Seco, Neide Paula da Silveira, Luciana Santos, Tania R. de França, Simone M. M. B. da Silva, Silvia Elena Martuchi, Gerson Luiz Cleto Dal-Cól, Ana Rosa Beltran, Walter, Maria Kelly Venezuela, Rosemeire Coimbra, Anderson Alves Silva, Giuliana Patriaca, Elizabeth Ng Koo e Márcio da Silva Lima pelo carinho, amizade e incentivo.

A toda a equipe da secretaria e biblioteca do ICB - I, pela atenção, eficiência e presteza.

Ao Itamar Klemps Filho, pela atenção e assessoria informática.

Ao Vagner Maringolo, pelo significativo auxílio na revisão deste trabalho.

Aos amigos Leonardo Paiva e Rogério Santos Silva, pelo carinho e apoio.

Às amigas Márcia C. Poppe, Kátia H. Takiuti, Sandra Regina F. Gauto e Zuleika M. Rizzo Assumpção, pelo incentivo, disponibilidade e ajuda nos momentos mais importantes.

A todos os amigos e familiares que, direta ou indiretamente, colaboraram ajudando, incentivando e apoiando-me ao longo desta caminhada.

ÍNDICE

Resumo	i
Abstract	iii
1. Introdução	1
1.1. O controle da pressão arterial	1
1.2. Regulação da pressão arterial na hipertensão crônica.....	2
1.3. Participação do sistema renina-angiotensina na modulação cardiovascular.....	4
2. Materiais e Métodos	10
2.1. Animais experimentais	10
2.2. Pressão de cauda	10
2.3. Anestésicos e recuperação cirúrgica	11
2.4. Tratamento crônico com losartan ou veículo.....	11
2.5. Produção da hipertensão arterial aguda através da coarctação subdiafragmática da aorta (CH).....	12
2.6. Registro direto da pressão arterial	13
2.7. Atividade aferente do nervo depressor aórtico	14
2.8. Atividade simpática renal	15
2.9. Determinação da faixa completa de ativação do nervo depressor aórtico	16
2.10. Determinação da faixa funcional de ativação do nervo depressor aórtico	16
2.11. Determinação da ASE durante alterações transitórias da pressão arterial	17
2.12. Análise estatística	18
3. Seqüência/Protocolo Experimentais	19
4. Resultados	21
4.1. Estudos com o nervo depressor aórtico (NDA).....	21
4.1.1. Efeitos da CH e do losartan na pressão arterial	21
4.1.2. Atividade espontânea do nervo depressor aórtico durante oscilações fisiológicas da pressão (situação basal).....	22

4.1.3. Atividade do nervo depressor aórtico durante variações da pressão do limiar à saturação	29
4.1.4. Ganho da atividade aferente na faixa fisiológica de funcionamento	31
4.2. Estudos com o nervo simpático esplâncnico (ASE)	33
4.2.1. Efeitos da CH e do losartan na pressão arterial média (PAM) de ratos.....	33
4.2.2. Análise da atividade simpática espontânea do esplâncnico (ASE) na situação basal	34
4.2.3. Atividade simpática esplâncnica (ASE) durante variações induzidas da pressão arterial.....	40
4.2.4. Participação relativa do nível da PAM e da Angiotensina II na alteração da ASE	42
5. Discussão	47
5.1. Losartan x sinalização aferente na hipertensão.....	48
5.2. Losartan x tônus simpático na hipertensão	51
5.3. Dissociação entre os efeitos pressóricos e os efeitos modulatórios da Ang II	55
6. Bibliografia	60
Apêndice	72

Resumo

Demonstramos na fase crônica da hipertensão por coarctação, depressão acentuada do controle reflexo da frequência cardíaca (Micheline et al, Hypertension, 1992; 19:II159-II163) e que o tratamento crônico com losartan, embora não reverta os elevados níveis de pressão, normaliza o controle reflexo da frequência cardíaca (Santos et al, Am. J. Physiol, 1995; 269:H812-H818). No presente estudo investigamos em ratos hipertensos e seus controles normotensos os efeitos do bloqueio crônico dos receptores AT_1 sobre a atividade aferente do nervo depressor aórtico (NDA, protocolo I) e sobre a atividade simpática esplâncnica (ASE, protocolo II) na situação basal e após estimulação por hipotensões e hipertensões transitórias.

Ratos Wistar adultos machos (180-300g) foram tratados cronicamente com veículo (VEH=água destilada, 0,1ml/100g/dia, *po.*) ou losartan (LOS= 10mg/kg/dia, *po.*) por 8 dias. No 4º dia após a determinação da pressão de cauda, foram submetidos à coarctação subdiafragmática da aorta (CH) ou à cirurgia fictícia (SHAM) e ao final do 7º dia, instrumentados com cânula arterial para registro direto da pressão arterial, realizada no 8º dia, com os animais acordados. Foram a seguir anestesiados para isolamento do nervo depressor aórtico ou do simpático esplâncnico, que foram registrados simultaneamente à pressão arterial em duas situações distintas: a) durante a situação basal (registro da atividade espontânea por 10-15 minutos), b) durante estimulação dos pressorreceptores por variações transitórias da pressão arterial (infusões/retiradas de sangue e injeções/infusões de fenilefrina e nitroprussiato de sódio *iv.*). Os registros da atividade neural foram retificados, integrados e aquisitados simultaneamente aos registros de pressão arterial em computador (programa de aquisição de dados Codas - Windaq DI-200, Ohio, USA).

Tratamento com LOS determinou queda significativa da pressão de cauda (104 ± 3 vs. 117 ± 3 mmHg nos grupos VEH). Em ambos os grupos VEH e LOS, CH determinou aumento significativo e similar da pressão arterial (em média 29%) que foi acompanhada, nos grupos tratados com VEH, por significativo aumento da variabilidade associada à depressão no ganho da

correlação da atividade do NDA com a pressão arterial ($CH_{VEH}=1,04\pm0,11$ vs. $SHAM_{VEH}=1,63\pm0,14$ %/ciclo/mmHg, $p<0,05$, protocolo I) e por facilitação da resposta da ASE ($CH_{VEH}=-10,36\pm1,05$ vs. $SHAM_{VEH}=-5,81\pm0,60$ %/ciclo/mmHg, $p<0,05$, protocolo II). Nos grupos tratados com LOS, o estabelecimento da hipertensão foi acompanhado por redução da variabilidade e significativa melhora no ganho do NDA, uma vez que na faixa fisiológica de variações da pressão a depressão da atividade do NDA foi significativamente menor ($CH_{LOS}=3,30\pm0,33$ vs. $CH_{VEH}=2,18\pm0,37$ %/ciclo/mmHg, $p<0,05$, uma recuperação de 40% quando comparado aos respectivos controles $\sim 5,01\pm0,33$ %/ciclo/mmHg). Houve ainda nos CH_{LOS} normalização do ganho de resposta de ASE ($CH_{LOS}=-6,58\pm0,62$ %/ciclo/mmHg que não diferia dos $SHAM_{LOS}$ e $SHAM_{VEH}$). O tratamento crônico com LOS determinou ainda correção parcial da atividade basal do NDA, mas não alterou a descarga espontânea da ASE. As alterações de atividade do NDA e ASE observadas nos CH_{LOS} ocorreram simultaneamente, mas foram independentes da redução da pressão arterial pelo LOS.

Nossos dados sugerem que a Ang II, ativada durante o desenvolvimento da CH, deprime a sinalização aferente pelo NDA, sendo responsável pela facilitação da resposta simpática durante alterações transitórias da pressão arterial. Nossos dados permitem ainda discriminar entre o efeito pressor e o efeito modulatório da Ang II, indicando restauração parcial do ganho da NDA e normalização da resposta simpática após o bloqueio crônico dos receptores AT_1 , mesmo na presença da hipertensão.

ABSTRACT

In the chronic phase of coarctation hypertension (CH) we have shown both marked depression of baroreceptor reflex control of heart rate (Michelini et al, Hypertension, 1992, 19: II159-II163) and normalization of the depressed reflex control even with the persistence of hypertension in losartan-treated animals (Santos et al, Am. J. Physiol, 1995, 269: H812-H818). In the present study we analyzed the effects of chronic AT₁ receptors blockade on the both the afferent aortic nerve activity (AON, protocol I) and splanchnic sympathetic nerve activity (SSNA, protocol II) of CH and sham operated controls in two conditions: spontaneous activity (basal condition) and stimulated discharge during transient increases/decreases in arterial pressure.

Male Wistar rats (180-300g aged 2-3 months) were chronically treated with vehicle (VEH=distilled water, 1ml/kg/day, *po.*) or losartan (LOS=10mg/kg/day, *po.*) during 8 days. Tail pressure was measured at the beginning and on the 4th day, before subdiaphragmatic aortic coarctation (CH) or sham surgery (SHAM). On day 7 the rats were instrumented with a catheter to record arterial pressure in conscious freely moving rats on day 8. Rats were then anesthetized to record AON or SSNA simultaneously with pressure during 10-15 min (basal or spontaneous activity) and during baroreceptor loading/unloading (infusion/withdrawal of blood or injections/infusions of phenylephrine and sodium nitroprusside *iv.*). Nerve activity was rectified and integrated and acquired simultaneously with pressure in a computer (Windaq DI-200, Ohio, USA).

Losartan-treatment caused a significant decrease in tail pressure (104 ± 3 vs. 117 ± 3 mmHg in VEH groups). In both LOS- and VEH-treated groups, CH caused significant and similar increases in arterial pressure (mean of 29%) that was accompanied in the VEH groups by both significant increase in variability and depression of the AON/activity/pressure relationship ($CH_{VEH} = 1,04 \pm 0,11$ vs. $SHAM_{VEH} = 1,63 \pm 0,14$ %/cycle/mmHg, $p < 0,05$, protocol I) and by potentiation of SSNA responses ($CH_{VEH} = -10,36 \pm 1,05$ vs. $SHAM_{VEH} = -5,81 \pm 0,60$ %/cycle/mmHg, $p < 0,05$, protocol II). In the LOS-

treated groups, establishment of CH was accompanied by smaller variability and marked improvement in AON gain: in the physiological range of pressure changes, depression of AON activity was significantly smaller ($CH_{LOS}=3,30\pm0,33$ vs. $CH_{VEH}=2,18\pm0,37$ %/cycle/mmHg, $p<0,05$, a recovery of 40% when compared to respective controls of $\sim 5,01\pm0,33$ %/cycle/mmHg). CH_{LOS} showed also normalization of SSNA responses: gain in the $CH_{LOS}=-6,58\pm0,62$ %/cycle/mmHg, that was not different from $SHAM_{LOS}$ and $SHAM_{VEH}$ groups. In addition chronic treatment with LOS caused partial correction of spontaneous AON activity but did not change spontaneous SSNA discharge. Both AON and SSNA responses observed in CH_{LOS} occurred simultaneously but were independent from pressure reductions observed in these groups.

The data suggested that Ang II, activated during development of hypertension, depresses the afferent signaling by aortic receptors and is factor responsible for the facilitation of SSNA during pressure changes. The data permits to discriminate between pressor and a modulatory effects of Ang II and indicates that after chronic AT_1 receptors blockade hypertension persists, but there is a partial restoration of AON gain accompanied by normalization of the sympathetic response.

1. Introdução

Assim como os sistemas endócrino e nervoso, o sistema cardiovascular participa de forma importante na homeostase do organismo. Para cumprir tal tarefa, este sistema participa de diversas funções como regulação da temperatura corporal, comunicação humoral, fornecimento de nutrientes e oxigênio para as células. Garantir fornecimento constante dos substratos que a célula necessita, é a condição básica para se manter uma célula viva. No homem, garantir este fornecimento de substratos significa garantir perfusão tecidual adequada, através da manutenção dos níveis de pressão arterial. A pressão arterial mantida pelo ajuste contínuo do débito cardíaco e da resistência periférica, oscila dentro de uma faixa relativamente estreita nos indivíduos normais.

1.1. O controle da pressão arterial

Os ajustes no débito cardíaco e resistência periférica são possibilitados através da ação de mecanismos reflexos envolvendo sensores que, através de vias aferentes, levam informações da periferia aos centros de integração. Os centros de integração, por sua vez, elaboram a resposta final que, via eferente, é enviada para os órgãos efetores: coração, vasos de resistência e vasos de capacitância.

Variações da pressão arterial acionam reflexamente mecanismos envolvidos na sua própria regulação. Dentre os mecanismos, destaca-se o comandado pelos pressorreceptores arteriais - os principais responsáveis pela regulação neuro-humoral, momento-a-momento, da pressão arterial. Estes receptores, na realidade mecanorreceptores, localizados na crossa da aorta e bifurcação das carótidas, são sensíveis à distensão da parede vascular e codificam variações instantâneas da pressão arterial aos núcleos do trato solitário (NTS) no bulbo, onde ocorre a primeira sinapse dos aferentes periféricos. Quando, por exemplo, ocorre elevação da pressão arterial há aumento da frequência de disparos dos pressorreceptores, os quais, por sua vez sinalizam (através do IX e X pares cranianos) para as estruturas centrais a

variação da pressão havida. Os NTS, que recebem e processam estas informações, sinalizam à região caudal do bulbo ventro lateral (CVLM), cuja função é inibir a região rostral a RVLM, determinando diminuição do tônus simpático; os NTS também sinalizam ao núcleo dorsal motor do vago e núcleo ambiguus, determinando aumento do tônus vagal. Há, portanto, durante elevação da pressão arterial, diminuição da frequência e da contratilidade cardíaca, diminuição da resistência periférica total e aumento da capacitância venosa. Por outro lado, se houver redução da pressão arterial, reduz-se também a frequência de disparos dos pressorreceptores, os quais, sinalizam, da mesma forma, através do IX e X pares cranianos, a variação da pressão para estruturas centrais. Os NTS deixam de sinalizar à região caudal do bulbo ventro lateral, e esta por sua vez não inibe a região rostral, o que determina maior liberação do tônus simpático. Também na ausência de sinalização aferente, o núcleo dorsal motor do vago e núcleo ambiguus tem sua atividade reduzida, diminuindo o tônus vagal. Há, portanto, durante quedas da pressão arterial, aumento da frequência cardíaca, aumento do volume sistólico e da resistência periférica bem como redução da capacitância venosa. Todas estas respostas se fazem no sentido de levar a pressão arterial para os valores basais, mantendo-a dentro de uma faixa relativamente estreita de variação (Kirchheim, 1976; Michelini & Krieger, 1992; Michelini, 1999).

E como estaria a regulação da pressão arterial em indivíduos hipertensos?

1.2. Regulação da pressão arterial na hipertensão crônica

Também em indivíduos hipertensos crônicos, a perfusão tecidual e o suprimento celular estão mantidos dentro de limites relativamente constantes. Mesmo na presença de níveis pressóricos elevados, a regulação momento-a-momento da pressão arterial é preservada graças à adaptação dos pressorreceptores. No entanto, a eficiência destes mecanismos pode estar comprometida.

A adaptação dos pressorreceptores garante o mesmo padrão de descarga dos aferentes, intermitente e sincrônico com a pressão sistólica uma vez que durante o processo de adaptação ocorre o deslocamento da faixa de funcionamento dos receptores para níveis mais elevados de pressão, passando a interpretar o novo patamar pressórico como “normal” (McCubbin et al, 1956; Krieger, 1970; Michelini & Krieger, 1986). Porém, a sensibilidade destes receptores (quantificada como a variação da descarga aferente por variação de pressão arterial) encontra-se reduzida (Abboud, 1984; Moreira et al, 1989; Chapleau et al, 1989; Moreira et al, 1992). Além da disfunção dos aferentes periféricos, mecanismos envolvidos na regulação da pressão arterial também podem estar alterados, contribuindo para um controle da pressão arterial menos eficiente nestes indivíduos.

No modelo de hipertensão arterial aguda, induzida por coarctação subdiafragmática da aorta (hipertensão por coarctação ou CH), constatou-se haver deslocamento da faixa de funcionamento dos pressorreceptores (Krieger, 1970; Krieger et al, 1982), e que a seqüência de deslocamento era simultânea ao curso temporal de dilatação do calibre da aorta torácica que se completava no 2º dia de CH, mantendo-se estável a partir de então (Michelini & Krieger, 1986; Krieger, 1989). Nas primeiras horas de hipertensão por coarctação (3-6 horas) o reflexo pressorreceptor mostrava-se fortemente ativado, determinando intensa bradicardia reflexa (Soato & Krieger, 1974; Michelini et al, 1992) que desaparecia após 2 dias, quando o processo periférico de adaptação se completava (Krieger, 1970). Observou-se, no entanto, que a partir do 2º dia, ocorria intenso aumento da frequência cardíaca basal, com pico máximo no 5º dia, normalizando-se no 10º dia de CH (Michelini et al, 1992). Michelini et al (1992) demonstraram ainda que esta fase era acompanhada por ativação do sistema renina-angiotensina (SRA) e marcante depressão do funcionamento do reflexo pressorreceptor com redução acentuada da bradicardia e taquicardia reflexas.

A depressão do ganho do reflexo pressorreceptor cardíaco tem sido um achado constante em hipertensões crônicas (Korner, 1975; Berecek et al,

1983; Guo & Abboud, 1984; Floras et al, 1988; Moreira et al, 1988; Korner, 1989; Irigoyen et al, 1991). Como na hipertensão crônica a descarga dos aferentes encontra-se adaptada aos elevados níveis de pressão, é provável que fatores adicionais à sinalização das variações pressoras pelos receptores periféricos estejam envolvidos na depressão do controle reflexo da frequência cardíaca. Inúmeras evidências experimentais têm sugerido que o sistema renina-angiotensina, ou, mais especificamente, a Angiotensina II poderia ser um desses fatores (Johnston, 1992; Steckelings, 1992).

1.3. Participação do sistema renina-angiotensina na modulação cardiovascular

Alterações do sistema renina-angiotensina constituem mecanismo fisiopatogênico importante em diferentes modelos de hipertensão renovascular (Korner, 1975; Machado et al, 1983; Suzuki et al, 1983; Guo & Abboud, 1984; Moreira et al, 1988; Irigoyen et al, 1991). Na hipertensão por coarctação subdiafragmática da aorta, tem sido demonstrado que o sistema renina-angiotensina participa tanto agudamente (minutos a 48 horas) (Whitlow & Katholi, 1983; Salgado & Krieger, 1986; Salgado & Salgado, 1989; Michelini et al, 1992; Salgado et al, 1992) quanto cronicamente (dias a meses) (Yagi et al, 1968; Bagby & Fuchs, 1989a e 1989b) na fisiopatogenia deste modelo de hipertensão.

A Angiotensina II (Ang II), além das conhecidas propriedades de retenção hídrica, de potenciar a vasoconstrição e a atividade simpática, também parece estar envolvida na depressão da regulação reflexa da frequência cardíaca e da resistência periférica observadas na hipertensão renal crônica e em outros modelos de hipertensão com renina alta (Jones & Floras, 1980; Machado et al, 1983; Suzuki et al, 1983; Guo & Abboud, 1984b; Moreira et al, 1988, Moreira et al, 1990). Vários modelos de hipertensão apresentam ativação do sistema renina-angiotensina com aumento da Ang II plasmática e tecidual (Campbell, 1987; Faria & Salgado, 1992). Hipertensos crônicos apresentam, quando comparados aos normotensos, menores variações

reflexas de frequência cardíaca e de resistência periférica para iguais variações absolutas de pressão arterial, revelando a menor eficiência no controle reflexo e na manutenção dos níveis basais da pressão arterial.

Foi ainda demonstrado que a Ang II modula centralmente a bradicardia reflexa tanto de ratos hipertensos espontâneos (Berecek et al, 1983; Casto & Phillips, 1986; Berecek et al, 1991) como de ratos normotensos (Casto & Phillips, 1986; Michelini & Bonagamba, 1990). Demonstramos que em doses subpressoras (e, portanto sem alterar a pressão arterial basal) a Ang II, administrada endovenosamente (hormônio circulante) no líquido cefalorraquidiano do 4º ventrículo (neurohormônio) ou no complexo solitário-vagal (neurotransmissor/neuromodulador) deprimiu igualmente a bradicardia reflexa durante elevações transitórias da pressão (Michelini & Bonagamba, 1990). Por outro lado, o pré-tratamento dos NTS com saralasina determinou significativo aumento na sensibilidade da bradicardia reflexa (Michelini & Bonagamba, 1990). Demonstramos também em ratos com coarctação subdiafragmática da aorta, que a marcante depressão da bradicardia reflexa era completamente normalizada pelo tratamento crônico com losartan (um bloqueador específico para receptores tipo I da Ang II), mesmo na persistência da hipertensão (Santos et al, 1995). Em conjunto, estes dados indicam um efeito específico da Ang II sobre o controle reflexo da FC, além de seus efeitos sobre os níveis de pressão arterial, sugerindo que a Ang II poderia ser um dos fatores envolvidos na modulação funcional dos pressorreceptores na hipertensão. Sugerem ainda que os efeitos da Ang II sobre o controle reflexo da FC seriam mediados por receptores AT₁.

Diferentes receptores de Ang II responsáveis por desencadear efeitos cardiovasculares foram caracterizados e localizados tanto periférica quanto centralmente (Simon et al, 1989; Wamsley et al, 1990; Sechi et al, 1991; Sleckelings et al, 1992). No sistema nervoso central os receptores estão presentes em praticamente todas as estruturas envolvidas no controle cardiovascular (Gehlert et al, 1990; Rowe et al, 1990; Song et al, 1991; Tsutsumi & Saavedra, 1991; Sleckelings, 1992). Dentre os diferentes

receptores caracterizados (AT_1 , AT_2 , AT_3 e AT_4) (Chaki & Inagami, 1992; Swanson et al, 1992) o AT_1 é o tipo de receptor predominante em estruturas centrais importantes no controle cardiovascular tais como órgão vascular da lâmina terminal, órgão subfornical, núcleo pré-óptico médio, área postrema, núcleos do trato solitário, entre outros (Printz et al, 1982; Dzau et al, 1986; Bunnemann et al, 1992; Rowe et al, 1992; Song et al, 1992; Bottari et al, 1993; MacGregor et al, 1995).

Como os receptores AT_1 estão amplamente distribuídos, a estimulação dos mesmos desencadeia ajustes extensos envolvendo a descarga autonômica e respostas endócrinas e comportamentais que determinam aumentos na pressão arterial com depressão do controle reflexo e ação dipsogênica, além de influenciar a liberação de hormônios hipofisários (Ferrario et al, 1986; Steckelings et al, 1992; Reid, 1992; Saxena, 1992). Sabe-se que os NTS (Casto & Phillips, 1986, Campagnole et al, 1988, Michelini & Bonagamba, 1990) e o RVLM (Sasaki & Dampney, 1990) são sítios importantes nos quais a Ang II poderia agir para deprimir a sensibilidade do reflexo pressorreceptor. Não se sabe no entanto, se a Ang II agiria também em outras áreas/vias para modular o controle reflexo da FC. Uma observação importante, sugestiva desta possibilidade, foi a de que nos ratos coarctados tratados com losartan o bloqueio central dos receptores AT_1 determinava não só o desaparecimento da taquicardia, que caracteriza a fase crônica da hipertensão, mas revertia a resposta para bradicardia basal, a qual persistia do 3° ao 5° dia de hipertensão (Santos et al, 1995). Esta resposta era em tudo semelhante ao funcionamento pré-adaptativo dos aferentes pressorreceptores, observado até o 2° dia nos animais tratados com VEH e indicava que na ausência da Ang II a seqüência temporal de adaptação dos pressorreceptores era muito mais lenta do que na sua presença. Esta observação somada à descrição de que os sítios ligantes da Ang II estão presentes em todos elementos do sistema aferente vagal (processos centrais e periféricos, gânglio nodoso e projeções terminais para os núcleos bulbares (Diz et al, 1988; Diz & Ferrario, 1988) e com a demonstração de que a deservação sino-aórtica resulta em significativa diminuição dos

sítios ligantes de Ang II nos NTS (Healy et al, 1989) sugeriam que a Ang II poderia modular a sinalização aferente pelos pressorreceptores, um efeito ainda não caracterizado.

Além de todas as ações centrais, tem sido também demonstrado que a Ang II pode alterar as respostas cardiovasculares, modulando a alça eferente do reflexo para outros órgãos efetores. Descreveu-se na fase inicial do desenvolvimento da hipertensão aumento da atividade simpática, que se normalizava na fase crônica (Julius, 1996; Mancia et al, 1998; Noll et al, 1998) e maior ativação simpática nos hipertensos em situações de estresse (Lundin & Thorén, 1982). Estas respostas foram atenuadas, ou até mesmo bloqueadas pelo tratamento crônico ou agudo com inibidores da enzima de conversão ou ainda com a utilização de antagonistas dos receptores AT₁ (Moan et al, 1995; Foucart, 1996; Noll et al, 1998; Sleight, 1998).

A interação entre Ang II e o simpático periférico no desenvolvimento e manutenção da hipertensão, tem sido bastante investigada (Korner & Argus, 1989; Abraham & Simon, 1994). Foi observado que as alterações estruturais dos vasos, promovidas pela ação trófica da Ang II, podem ocorrer de forma independente da ativação simpática (Csiky & Simon, 1997), porém no desenvolvimento da hipertensão ambos os fatores atuam. Nos ratos espontaneamente hipertensos (SHR), o aumento do tônus simpático observado tem sido explicado pela ação da Ang II potenciando o simpático tanto periférico (vasos) quanto central, o que excitaria núcleos responsáveis pela gênese do tônus simpático como, por exemplo, o RVLM (Tsuchihashi et al, 1994; Yin & Sved, 1996; Fink, 1997; Blaine et al, 1998). Também em vários modelos de hipertensão renal (2 rins-1 clip ou 1 rim-1 clip), LeLorier et al (1976), Tanaka et al (1977), Faber & Brody (1992) demonstraram aumento da atividade simpática periférica nos primeiros estágios do processo hipertensivo que era em grande parte, devido à ação da Ang II. A atividade simpática basal é regulada reflexamente em função dos desvios, para mais ou para menos, da pressão arterial que estimulando ou não os pressorreceptores determinam aumento ou redução da atividade simpática

(Guo & Abboud, 1984; Reid, 1992; Bishop & Hay, 1993). Há também padrões de atividade que diferem do padrão de modulação reflexa e que são observados quando os animais se encontram excitados, alimentando-se, em atividades exploratórias, etc, situações nas quais há aumentos paralelos da atividade simpática e da pressão arterial (Ledoux et al, 1980). Por outro lado, durante o sono observa-se queda tanto do tônus simpático quanto da pressão arterial (Ninomiya et al, 1988). Independente do padrão reflexo ou não, a atividade simpática tem se mostrado significativamente aumentada na presença de níveis endógenos elevados de Ang II (Lee et al, 1980; Guo & Abboud, 1984; Unger et al, 1985; Saxena, 1992; Reid, 1992; Wong et al, 1993).

Portanto, a Ang II, além da modulação da atividade simpática basal está também envolvida na modulação das respostas simpáticas reflexas. Não se sabe no entanto, no modelo de hipertensão por coarctação, o quanto o simpático contribui para as alterações das respostas cardiovasculares observadas na fase crônica e se estes efeitos podem também ser revertidos pelo bloqueio crônico dos receptores AT_1 .

Com relação à quantificação do tônus simpático, várias são as abordagens que têm sido utilizadas para se avaliar indiretamente a atividade simpática periférica: dosagem de catecolaminas plasmáticas, bloqueios farmacológicos crônicos ou agudos, lesões eletrolíticas ou químicas em determinadas áreas do sistema nervoso central envolvidas na gênese do tônus simpático. Porém, os resultados obtidos através destas técnicas indiretas têm se mostrado conflitantes. Outra abordagem que tem sido utilizada é o registro eletroneurográfico. Preparações multifibra das eferências simpáticas renal, esplâncnica, lombar têm sido utilizadas em diferentes espécies (Judy et al, 1976; Ninomiya et al, 1976; Dorward et al, 1985; DiCarlo & Bishop, 1990; Heesch et al, 1996). Apesar da dificuldade técnica e da complexidade de análise, a maioria dos pesquisadores concordam que o registro eletroneurográfico direto talvez seja a melhor forma para se avaliar a atividade simpática, uma vez que documenta características importantes e

fundamentais do padrão de descarga simpática. Pitts & Bronk (1942), foram os primeiros a descreverem períodos silentes na descarga simpática, que correspondiam a pulsos de pressão sem qualquer atividade simpática. Estes episódios de redução da excitabilidade simpática eram aleatórios e seguidos por períodos de descarga espontânea e/ou períodos de resposta a estímulos excitatórios. Além disto como demonstrado por Claassen et al (1996), a atividade simpática não é uniforme, variando bastante entre os diferentes leitões. Devido à complexidade da gênese do tônus simpático, à característica difusa de sua atividade e ao padrão aleatório observado, Lundin et al (1984) sugeriram que a melhor maneira de se avaliar o tônus simpático periférico seria através do registro direto dos grandes circuitos abdominais.

Do que foi exposto, depreende-se que uma importante ação da Ang II é modular centralmente o controle reflexo da FC e do tônus simpático periférico para a vasculatura determinando, quando ativada, aumento efetivo na pressão arterial, sem a resposta reflexa compensatória de redução da FC e da descarga simpática. Não se sabe, no entanto, se a Ang II poderia também modular a atividade aferente do nervo depressor aórtico nem quanto o bloqueio crônico dos receptores AT₁ pode contribuir para a reversão dos efeitos deletérios (redução da sensibilidade aferente dos receptores e potenciação do tônus simpático), que caracterizam a fase crônica da hipertensão por coarctação.

Visando, portanto, melhor entender a modulação exercida pela Ang II sobre o funcionamento do reflexo pressorreceptor na hipertensão, foram OBJETIVOS deste trabalho:

1. Investigar e comparar em ratos normotensos e hipertensos os efeitos da Ang II e do bloqueio crônico dos receptores AT₁ sobre a atividade aferente do nervo depressor aórtico:
 - na situação basal (atividade espontânea dos aferentes durante flutuações da pressão)

- na situação estimulada por variações amplas da pressão arterial e por alterações mais restritas à faixa fisiológica de variação da pressão.
2. Investigar e comparar em ratos normotensos e hipertensos os efeitos da Ang II e do bloqueio crônico dos receptores AT₁ sobre o tônus simpático (atividade simpática esplâncnica)
- na situação basal (atividade simpática espontânea durante flutuações da pressão)
 - na situação estimulada por hipertensões e hipotensões transitórias.

2. Materiais e Métodos

2.1. Animais experimentais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, provenientes do Biotério do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - SP, com peso variando entre 180 e 300 gramas. Durante o período do protocolo experimental os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro 12/12 horas, em gaiolas individuais de madeira (50 x 30 x 30 cm), no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular do Departamento de Fisiologia e Biofísica, do ICB, USP e receberam ração e água *ad libitum*. Todos os procedimentos cirúrgicos e os protocolos experimentais utilizados foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação animal do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

2.2. Pressão de cauda

A determinação da pressão de cauda foi realizada três vezes para cada animal, sendo duas antes do início do tratamento crônico com LOS ou veículo e outra imediatamente antes da coarctação ou cirurgia fictícia (vide protocolo na Figura 1). Para tanto, os ratos foram previamente aquecidos (~ 10 min) numa estufa a 40° C, logo em seguida, imobilizados em câmara de contenção. A pressão de cauda foi determinada pelo

Elektroesfigmomanômetro Programável (Narco Bio-Systems, Inc Houston - TX - USA) através da utilização de um cuff caudal para oclusão e desocclusão da artéria, e transdutor pneumático para detecção dos pulsos arteriais. Os sinais de calibração e de pulso arterial foram adquiridos e gravados em computador (Coda - Windaq).

2.3. Anestésicos e recuperação cirúrgica

Foram utilizados 03 (três) tipos de anestésicos, de acordo com as manobras cirúrgicas realizadas. Para a coarctação subdiafragmática da aorta e implantação de cânulas arteriais e venosas, utilizou-se éter (éter etílico P.A., Cinética Química, Brasil) através de inalação; para isolamento do nervo depressor aórtico foi utilizado nembutal (40 mg/kg, *iv.*) e para o isolamento do nervo simpático esplâncnico foi utilizada a mistura de alfa-cloralose e uretana (50 mg/kg e 500 mg/kg respectivamente, Sigma Chemical CO - St. Louis USA). Após a coarctação, os ratos receberam Pentabiótico veterinário (Fontoura Wyeth, SP, Brasil) via intra muscular profunda (bíceps femoral) e foram mantidos sob aquecimento (aquecedor ambiente AZ Pandora, SP Brasil) até se recuperarem da anestesia.

2.4. Tratamento crônico com losartan ou veículo

Losartan (2 - n - butyl - 4 - chloro - 5 - hydroxymethyl - 1 - [(2' - (1h) - tetrazol - 5 yl) biphenyl - 4 yl) methyl] imidazol potassium salt), antagonista competitivo dos receptores AT₁, foi diluído em água destilada e ministrado por gavagem na dose de 10 mg/kg/dia. A administração, sempre com intervalo de 24 horas foi iniciada ainda no período controle, ou seja 4 dias antes da produção da hipertensão ou cirurgia fictícia e estendeu-se por mais 4 dias até o final dos experimentos. Para tanto, o rato era imobilizado e, através de uma seringa acoplada a uma agulha hipodérmica de ponta romba, curva e protegida com um cateter, o losartan (LOS) ou o veículo (VEH = água destilada) foram injetados no volume de 1 ml/kg.

2.5. Produção da hipertensão arterial aguda através da coarctação subdiafragmática da aorta (CH)

A produção da hipertensão arterial aguda foi realizada através da técnica de Béznak, modificada por Krieger (Krieger, 1970). O rato foi anestesiado pelo éter e submetido à tricotomia e assepsia (álcool) da região ventral do abdômen. Procedeu-se à laparotomia mediana (3-4 cm) com afastamento das vísceras abdominais (fígado, estômago, intestinos) seguido do isolamento da artéria aorta logo abaixo do pilar do diafragma e imediatamente acima da emergência da artéria mesentérica superior. Após o isolamento da aorta, um fio de algodão (3-0) foi passado ao seu redor, com o auxílio de uma pinça, e atado. O grau de estreitamento foi limitado por uma agulha hipodérmica posicionada paralelamente ao vaso, cuja ponta curva e romba foi adaptada para esta manobra. A agulha foi removida imediatamente após a constrição. Diferentes graus de constrição foram obtidos por agulhas de diferentes calibres, as quais foram proporcionais ao peso corporal do animal, de acordo com a seguinte tabela, determinada experimentalmente (experimento piloto) em nosso laboratório:

PESO CORPORAL (gramas)	AGULHA (nº)
170 -199	07
200 - 229	08
230 - 279	09
Acima de 280	10

Realizada a constrição, as vísceras foram reposicionadas no abdômen e procedeu-se à sutura da parede e pele, seguida da assepsia da região com água oxigenada e mertiolate. Os grupos controle (cirurgia fictícia ou SHAM) foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos, exceto a constrição da aorta.

Devido ao índice utilizado para se determinar o grau de constrição da aorta abdominal (peso corporal do animal) não ser específico mas sim

aproximado, a utilização desta manobra determinou o aparecimento de duas subpopulações: uma composta pelos ratos hipertensos e outra pelos ratos não hipertensos (cerca de 15-20%). Como o objetivo principal deste estudo foi estudar a fase crônica da hipertensão, somente os ratos com PAM ≥ 130 mmHg foram incluídos. No entanto, na fase final do estudo, quando precisávamos discernir entre os efeitos causados pela presença/ausência da Angiotensina II daqueles causados pela elevação da PAM *per se*, ratos com PAM ≥ 120 mmHg também foram incluídos.

Após a recuperação da anestesia os ratos foram colocados nas gaiolas individuais de madeira, onde permaneceram durante todo o período experimental.

2.6. Registro direto da pressão arterial

A pressão arterial (pulsátil e média) foi registrada com animais acordados e com livre movimentação, e cerca de 18 horas após a canulação arterial.

A PA foi registrada diretamente na aorta torácica, via cânula implantada pela carótida direita e através da conexão da cânula arterial ao transdutor de pressão (Gold P23 XL) acoplado ao amplificador (Stemtech, Inc., USA) e ao computador para registro “on line” (programa de aquisição de dados Cudas - Windaq DI-200, Ohio, USA). Os sinais de PA foram salvos em arquivos analógicos a partir dos quais foram detectados os valores máximos (pico) e mínimos (vale), que, conjuntamente com o arquivo de calibração forneceram os valores de PA sistólica e diastólica e permitiram o cálculo da PAM e FC instantânea a cada ciclo cardíaco. Os arquivos foram então convertidos em planilhas Excel (valores numéricos). Após a conexão do animal ao sistema de registro, aguardava-se 20-30 minutos para a estabilização dos parâmetros cardiovasculares antes de se iniciar a gravação dos registros basais (que apresentavam a atividade espontânea) e das respostas aos estímulos aplicados.

2.7. Atividade aferente do nervo depressor aórtico

Após o registro da pressão, os ratos foram anestesiados com nembutal (40 mg/kg) e tiveram uma segunda artéria canulada (braquial esquerda) e foram preparados para registro da atividade no nervo depressor aórtico (NDA). O nervo depressor aórtico foi isolado na região baixa do pescoço do rato a partir do recorrente laringeo esquerdo, segundo técnica descrita em detalhes por Moreira et al (1989, 1992). Para registro, utilizou-se um eletrodo bipolar constituído de dois segmentos de aço inox (Inox mole - 0,1 mm, Kanthal, SP, Brazil) com 12 cm de comprimento encapado com tubos de vinil (diâmetro interno 0,5 mm, Dural Plastics, Austrália) com uma das extremidades livre e a outra soldada a um pino de cobre para encaixe adequado ao conector que liga o eletrodo ao amplificador de sinais. A extremidade livre foi curvada de forma a permitir a ancoragem do nervo sobre ela. A preparação foi então isolada com uma mistura proporcionalmente igual de silicone (Wacker Sil-Gel 604) e resina odontológica (Coltène® President light body). Como referência foi utilizado um fio ortodôntico de 15 cm de comprimento, também isolado na região central (vinil), com uma extremidade livre (2 cm) que era fixada ao músculo, sendo a outra soldada a um pino de cobre para a conexão com a entrada de referência do amplificador de sinais.

Os sinais captados no nervo depressor aórtico foram retificados e amplificados através de um amplificador diferencial de alta impedância de entrada (502A Differential Amplifier, Tektronix, Oregon, USA). Após amplificação os sinais foram filtrados, utilizando-se para isto um filtro passa banda com frequência de corte superior a 3000 Hz e inferior de 100 Hz. A atividade neural foi monitorada continuamente em osciloscópio de tempo de 3,9 milissegundos. A saída do integrador fornecia a atividade neural para cada ciclo cardíaco.

Os sinais de pressão e atividade neural foram amostrados a 2000 Hz e gravados simultaneamente, "on line" no computador (programa de aquisição de dados Cudas - Windaq DI-200, Ohio, USA), para posterior conversão analógica digital e geração das planilhas Excel.

2.8. Atividade simpática esplâncnica (ASE)

A ASE foi obtida a partir de preparação multifibra. Após o registro da pressão basal, os ratos foram anestesiados com alfa-cloralose e uretana (50 mg/kg e 500 mg/kg, respectivamente) e procedeu-se à laparotomia lateral esquerda na base da altura das costelas) para isolamento do nervo simpático esplâncnico. Após o isolamento, o simpático esplâncnico foi apoiado sobre um eletrodo bipolar. Este eletrodo foi constituído de dois segmentos de platina, com 15 cm de comprimento (0,05 mm de diâmetro, Degussa . SP, Brasil). encapados separadamente com tubos de vinil (diâmetro interno 0.5 mm, Dural Plastics, Austrália) e unidos com cola de silicone (Brascopren, SP, Brazil). Cada segmento de platina tinha uma extremidade livre e a outra soldada a um pino de cobre para encaixe adequado ao conector que liga o eletrodo ao amplificador diferencial de sinal. As extremidades livres foram curvadas de forma a permitir a ancoragem do nervo. A preparação foi isolada com a mistura de silicone e resina odontológica. Como eletrodo referencial foi utilizado um fio ortodôntico de 12 cm de comprimento, também isolado na região central (vinil), com uma extremidade livre (2 cm) que era fixada ao músculo, sendo a outra soldada a um pino de cobre para a conexão com a entrada de referência do amplificador diferencial. O sinal captado através do eletrodo foi retificado, amplificado por um amplificador diferencial de alta impedância de entrada (502A Differential Amplifier, Tektronix, Oregon, USA) e filtrado em filtro passa banda (frequência de corte superior de 3000 Hz e inferior de 100 Hz). A atividade simpática esplâncnica foi, da mesma forma que a atividade do NDA, integrada, amostrada a 3000 Hz e gravada “on line” simultaneamente com os sinais de pressão no computador (programa de aquisição de dados Cudas - Windaq DI-200, Ohio, USA). Após a conversão analógico/digital, os dados foram armazenados em planilhas Excel. Os resultados obtidos mostraram grande variabilidade da atividade simpática que era devida não só à própria preparação multifibra, como também à variabilidade inerente a cada animal. Portanto, os valores absolutos obtidos nas preparações multifibra passaram a ser normalizados, e a atividade simpática foi expressa como porcentagem entre a máxima

(100%) e a mínima (0%) atividade por ciclo cardíaco, conforme proposto por Lundin et al (1984).

2.9. Determinação da faixa completa de ativação do nervo depressor aórtico

Após os registros basais das atividades espontâneas do nervo depressor aórtico durante flutuações da PA, a correlação atividade/pressão foi avaliada durante alterações rápidas da PA (10-15 segundos) induzidas por retirada (~ 0,08 ml/kg) seguida de reinfusão de sangue (o volume retirado acrescido de 0,04 a 0,05 ml/kg) via artéria carótida direita. O sangue adicional a ser infundido foi coletado de uma rato doador. Este procedimento foi repetido várias vezes para cada rato com o objetivo de se determinar o limiar sistólico (valor de pressão sistólica no qual se inicia a descarga dos aferentes), o ponto de saturação (no qual se obtém 100% da descarga) e o intervalo de pressão pelo qual se estendem as descargas.

Para se anular a influência da histerese, somente foram computados os valores para a construção das curvas de atividade do NDA, quando a PA era alterada do limiar à saturação.

2.10. Determinação da faixa funcional de ativação do nervo depressor aórtico

A relação entre atividade aferente e PA foi também investigada durante variações de pequena magnitude da PA: elevações de +10 mmHg e quedas de -10 mmHg a partir da pressão controle, causadas por infusões e retiradas rápidas de volumes de sangue. Esta manobra foi também repetida várias vezes para cada animal. Deve-se ressaltar que os protocolos para a curva completa (item 3.9) e os protocolos para a faixa fisiológica (presente item) foram randomizados e os dados apresentados representam a média de duas ou três medidas consistentes feitas em cada situação experimental.

As alterações na atividade do NDA durante variações da pressão foram avaliadas pelo ajuste de equações de regressão linear ($y=ax+b$) em que os

coeficientes a e b representam respectivamente a inclinação (ou ganho) e a intersecção da reta. As retas foram ajustadas para cada rato e os coeficientes individuais foram utilizados para a obtenção da equação média dos grupos.

2.11. Determinação da ASE durante alterações transitórias da pressão arterial

Após o registro basal da ASE durante flutuações espontâneas da PAM, avaliou-se a ASE estimulada por variações transitórias da PAM. Elevações e quedas da PAM foram provocadas por infusões em rampa (Havard Apparatus Inc. Mod. 22 - SD. Natick MA. USA) e injeções em bôlus de fenilefrina (100µg/ml, *iv.*, 1-4 ml/hora e de 1-3 µg, respectivamente) e nitroprussiato de sódio (100 µg/ml, *iv.*, 1-4 ml/hora e de 2-4 µg, respectivamente). As infusões/injeções foram feitas através da veia jugular, canulada ao mesmo tempo cirúrgico da cateterização arterial e externada no dorso do animal. Foram registrados os valores basais (controle) e as variações de PAM e ASE a diferentes tempos durante infusões e bôlus de fenilefrina e nitroprussiato de sódio.

As respostas do ASE a alterações transitórias da PA foram analisadas através do índice de variação $\Delta ASE/\Delta PAM$ e do ajuste sigmoidal (equação logística) aos valores de PAM e ASE normalizada observados durante alterações induzidas por bôlus/infusões de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio. O ajuste da equação logística sigmoidal foi realizado por um programa computacional desenvolvido em nosso laboratório (Pontieri et al, 1998) que utiliza os softwares GrafPrisma e Excel, e é baseado no algoritmo de Marquadt (1963). O programa de computador ajusta os valores de PAM (abscissa) e ASE (ordenada) possibilitando a obtenção de uma curva sigmoidal que descreve as alterações da descarga simpática induzidas por variações da PAM. Este método tem sido bastante utilizado para o funcionamento do reflexo pressorreceptor cardíaco (Kent et al, 1972; Head & McCarty, 1987; Pontieri et al, 1998) e foi agora adaptado para expressar as

respostas reflexas do simpático a variações da PAM. O método consiste de uma relação negativa entre PAM e ASE. A fórmula da equação é:

$$ASE = P1 + \frac{P2}{1 + \exp(P3 * (PAM - P4))}$$

em que $P1$ é o platô inferior (resposta simpática mínima); $P2$ a diferença entre o platô inferior e o platô superior (que corresponde ao intervalo total de variações da resposta simpática); $P3$ é o coeficiente de curvatura ou ganho da atividade simpática esplâncnica normalizada (inclinação da curva em %ciclo/mmHg); $P4$ é a $PAM_{50\%}$, a qual representa, exatamente, o ponto médio da curva da função, caracterizando 50% da faixa de ativação simpática. São também representados nas curvas os valores basais da PAM e ASE basais, médias que representam o "set point" do funcionamento do simpático esplâncnico.

O ganho da relação ASE x PAM foi determinado matematicamente e a equação utilizada para calcular o ganho máximo foi a seguinte:

Ganho = intervalo entre os dois platôs x $P3/4$, de onde se conclui que o ganho é influenciado pelos parâmetros $P2$ e $P3$.

Os coeficientes das equações logísticas foram calculados para cada rato e os valores individuais foram utilizados para obtenção da equação média dos grupos.

2.12. Análise estatística

Os dados estão expressos como média $\pm$ EPM. Valores individuais para os diferentes ratos estão apresentados em Tabelas no Apêndice.

Para comparar as curvas de atividade do NDA e ASE (preparações multifibra) a atividade neural foi normalizada considerando-se no caso do NDA, o ponto de saturação como 100% e, no caso do ASE, a atividade simpática controle como 100%. Devido ao fato de que nem a saturação nem

o limiar foram obtidos nos registros da atividade do NDA na faixa funcional de ativação, estes valores também foram normalizados considerando-se a atividade neural controle como 100% e expressos como alterações percentuais positivas ou negativas para +10 ou -10 mmHg de alteração na pressão. Diferenças entre os grupos (CH e SHAM) e tratamentos (LOS e VEH) foram avaliados por análise de variância de 2 caminhos. O teste post-hoc foi o de Student - Newman-Keuls. Diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

3. Seqüência/Protocolo Experimentais

Conforme ilustrado acima, os experimentos iniciaram-se com medida de pressão de cauda, que foi repetida após uma semana, visando à determinação do valor basal. O tratamento crônico com losartan (LOS) ou veículo (VEH) (10 mg/kg/dia - administrado por gavagem) teve início 4 dias antes (período controle) da coarctação ou cirurgia fictícia, considerado como dia zero, e estendeu-se por mais 4 dias (período experimental). Imediatamente antes da cirurgia fictícia ou coarctação, foi realizada uma nova medida de pressão caudal para se determinar o efeito do tratamento com losartan isoladamente. No terceiro dia do período experimental os ratos tiveram artéria carótida e veia jugular canuladas. Foram utilizados 4 grupos experimentais $SHAM_{VEH}$, CH_{VEH} , $SHAM_{LOS}$ e CH_{LOS} .

A sessão experimental ocorreu no 4º dia de coarctação ou cirurgia fictícia, após, portanto, 8 dias de tratamento com losartan ou veículo e consistia de:

- medida da pressão arterial com o animal acordado e com livre movimentação na gaiola;
- a seguir, sob anestesia (Nembutal = 4 mg/kg para o registro da atividade do NDA e alfa-cloralose + uretana - 50 e 500 mg/kg, para o registro da ASE), procedeu-se ao isolamento do nervo a ser estudado;
- registro da atividade neural simultaneamente ao da pressão arterial:
 - na situação basal (atividade espontânea)
 - na situação estimulada (durante alterações transitórias da pressão)

Foram utilizados dois protocolos experimentais:

1. Efeitos do bloqueio crônico dos receptores AT_1 sobre a atividade eferente do NDA
 - na situação basal:
 - registro contínuo por aproximadamente 5 minutos para se detectar as variações espontâneas,
 - durante estimulação aferente para obtenção de curvas completas de funcionamento. As alterações de pressão foram realizadas por retiradas e reinfusões de sangue (rato doador) para se detectar a atividade do NDA do limiar à saturação.
 - Durante estimulação aferente na faixa fisiológica de funcionamento para se determinar o ganho da atividade aferente durante alterações mais funcionais da PA (-10 a +10 mmHg ao redor da pressão controle).
2. Efeitos do bloqueio crônico dos receptores AT_1 sobre a atividade simpática eferente (esplâncnico).
 - na situação basal:
 - registro contínuo das variações espontâneas da ASE e pressão arterial por, no mínimo, 15 minutos
 - durante alterações da descarga eferente frente a elevações ou quedas transitórias da pressão arterial induzidas pela infusão e injeção em bôlus de fenilefrina e nitroprussiato de sódio.

Ao final de cada sessão experimental foi realizada uma injeção *iv.* de Ang II em bôlus (50-100 η g/kg) para se comprovar nos grupos tratados com LOS a efetividade do bloqueio dos receptores AT₁.

4. Resultados

4.1. Estudos com o nervo depressor aórtico

4.1.1. Efeitos da CH e do LOS na pressão arterial

Na fase pré hipertensiva (período controle), o grupo tratado com LOS já apresentava redução de 11% na pressão caudal, quando comparado ao grupo veículo (104 ± 3 vs. 117 ± 3 mmHg - detalhe da Figura 1). A medida direta da pressão arterial no 4º dia de coarctação ou cirurgia fictícia para os 4 grupos experimentais (Figura 1), demonstra que ambos os grupos CH estavam hipertensos quando comparados aos seus respectivos controles: elevação de +28% nos CH_{VEH} (151 ± 4 vs. 118 ± 3 mmHg nos SHAM_{VEH}) e de +25% nos CH_{LOS} (130 ± 4 vs. 104 ± 3 mmHg nos SHAM_{LOS}). O tratamento crônico com losartan (8 dias) atenuou em 14%, mas não reverteu a hipertensão uma vez que a PAM dos CH_{LOS} estava significativamente elevada quando comparada ao grupo SHAM_{LOS}.

Figura 1. Valores de pressão arterial média (PAM) obtidos diretamente no 4º dia de coarctação (CH) ou cirurgia fictícia (SHAM) em ratos tratados cronicamente com veículo (VEH) ou losartan (LOS). Acima valores de pressão caudal dos grupos tratados com veículo e losartan antes de CH ou SHAM. Significância ($p < 0,05$): * vs. SHAM; + vs. VEH.

4.1.2. Atividade espontânea do nervo depressor aórtico durante oscilações fisiológicas da pressão (situação basal)

Após o registro direto da PA o rato foi anestesiado (nembutal - 40mg/kg) e o nervo depressor aórtico (NDA) foi isolado e preparado para registro da descarga aferente dos pressorreceptores simultaneamente ao registro da PA. Os registros da atividade basal do nervo depressor aórtico foram realizados durante aproximadamente 5 minutos, quando ocorrem pequenas oscilações em função das variações espontâneas da pressão arterial. A

Figura 2 ilustra o padrão dos registros de PA e atividade neural obtidos através do sistema Codas - Windaq.

Figura 2. Registro simultâneo da atividade do nervo depressor aórtico (NDA, canal 1), pressão arterial (canal 2) e sinal retificado do registro eletroneurográfico (canal 3) de um rato controle.

As atividades do NDA e a PA foram aquisitadas e gravadas e os valores expressos como valores absolutos médios para os grupos (Tabela I). A anestesia não alterou significativamente os níveis de PA apresentados pelos 4 grupos acordados. Em valores médios, a atividade basal do NDA não diferia entre os grupos experimentais (de 36 ± 6 a 44 ± 10 mV/ciclo, Tabela I).

Tabela I. Valores de pressão arterial diastólica, sistólica e média (PA) e de atividade aferente (mV/ciclo), na situação basal para os diferentes grupos. Na coluna à direita estão representados os parâmetros da equação da regressão linear.

GRUPOS	PA (mmHg)	Atividade aferente (mV/Ciclo)	Equação de regressão	
			Inclinação (mV/mmHg)	Intersecção (mV)
SHAM _{VEH} (n=6)	$110 \pm 3 / 137 \pm 2$ (124 ± 2)	36 ± 6	$+1.44 \pm 0.13$	-160 ± 13
CH _{VEH} (n=6)	$135 \pm 8^* / 169 \pm 5^*$ (150 ± 6) [*]	37 ± 15	$-0.07 \pm 0.37^*$	24 ± 34
SHAM _{LOS} (n=6)	$94 \pm 4^+ / 126 \pm 2^+$ (111 ± 3) ⁺	42 ± 7	1.97 ± 0.58	-206 ± 71
CH _{LOS} (n=6)	$108 \pm 2^{**} / 140 \pm 4^{**}$ (124 ± 2) ^{**}	44 ± 10	$0.72 \pm 0.25^*$	-56 ± 28

Significância: ($p < 0,05$) * vs. SHAM; + vs. VEH. X = mV/mmHg (n)

Para cada rato, os valores absolutos da atividade neural (mV/ciclo cardíaco) foram também plotados contra os valores correspondentes de pressão arterial sistólica (Figura 3). A sensibilidade da descarga aferente basal foi analisada pela equação de regressão linear ($y = ax + b$), na qual o coeficiente de “x” representa o ganho da descarga aferente durante oscilações fisiológicas da pressão arterial. As Figuras 3 (pontos condensados) e 4 (registro expandido) ilustram para um rato de cada grupo experimental, a correlação da atividade basal do nervo depressor aórtico com as variações de pressão sistólica durante a fase controle. Embora em valores absolutos a descarga aferente não diferisse entre os grupos (Tabela I) o padrão observado (Figuras 3 e 4) e o ganho médio (Tabela I) da atividade aferente na situação controle, diferiam marcadamente entre os animais dos diferentes grupos. O ganho da correlação atividade aferente x PS, que era de $1,44 \pm 0,13$ mV/mmHg nos SHAM_{VEH} foi praticamente zerado após o estabelecimento da CH ($CH_{VEH} = -0,07 \pm 0,37$ mV/mmHg - não era diferente de zero). O tratamento com LOS não normalizou o ganho da atividade aferente espontânea do CH, mas mostrou recuperação parcial ($CH_{LOS} = +0,72 \pm 0,25$, foi diferente de zero). Por outro lado, o LOS não interferiu com o ganho da descarga aferente nos SHAM_{LOS}.

Figura 3. Atividade basal do nervo depressor aórtico de 4 ratos representativos dos grupos normotenso (SHAM, à esquerda) e hipertenso (CH, à direita) tratados com veículo (VEH, acima) ou losartan (LOS, abaixo). A atividade neural é apresentada em função das flutuações espontâneas da pressão sistólica (PS). A reta ajustada sobre os pontos representa o ganho aferente na situação basal.

Figura 4. Variação da atividade basal do nervo depressor aórtico em função de oscilações espontâneas da pressão sistólica (PS) nos mesmos animais ilustrados na Figura 3. O eixo "x" foi expandido para demonstrar com maior clareza o ajuste da equação de regressão linear aos pontos experimentais.

Dada a importância destes resultados, procurou-se explorar mais detalhadamente o efeito do bloqueio crônico dos receptores AT₁ sobre a correlação atividade aferente x PS na situação controle. Utilizou-se, a técnica de análise da atividade neural (para preparações multifibra), que foi inicialmente desenvolvida por Lundin et al (1984) para o nervo renal. Analisou-se portanto, para cada rato, a correlação PS x atividade do nervo depressor aórtico durante 500 ciclos cardíacos do período controle. Devido à grande variabilidade, a descarga neural na preparação multifibra (em mV) foi normalizada considerando-se o valor médio da descarga como 100%. A Figura 5 e a Tabela II apresentam para os 4 grupos a ocorrência média das descargas normalizadas, nas diferentes classes. O estabelecimento da CH determinou marcante aumento da dispersão (o intervalo de classes de ocorrência foi significativamente elevado de 128 ± 10 para 169 ± 9 %, $p < 0,05$) com conseqüente redução do número de ocorrências por classe. Nos CH_{LOS}, a elevação da PA não foi acompanhada por aumento da dispersão (de 117 ± 12 para 101 ± 17 %, $p > 0,05$). Nos CH_{LOS} houve, inclusive um nítido estreitamento no intervalo de variação de descarga aferente: 101 ± 17 foi significativamente menor que 169 ± 9 % observado nos CH_{VEH}. Nos ratos SHAM, LOS não foi eficaz em alterar o intervalo das classes de atividade e a ocorrência média.

Figura 5. Ocorrência média em diferentes classes de descarga aferente normalizada (%/ciclo) para os grupos normotenso (SHAM, à esquerda) e hipertenso (CH, à direita) tratados com veículo - VEH (painéis superiores) ou losartan - LOS (painéis inferiores). Significância: ($p < 0,05$) * vs. SHAM; + vs. VEH. Em cada grupo, $n=6$

A Figura 5 mostra ainda que a atividade aferente normalizada/ciclo cardíaco apresenta para todos os grupos uma distribuição normal, com o pico máximo de ocorrência aparecendo ao redor de 100% (valor médio). A atividade aferente média normalizada por ciclo no ponto máximo de ocorrência está também indicada na Tabela II. Os valores médios percentuais e a ocorrência foram semelhantes nos 4 grupos.

Tabela II. Valores percentuais da descarga aferente normalizada do nervo depressor aórtico na situação basal representada como atividade/ciclo no ponto máximo e com o intervalo de classes de ocorrência.

GRUPOS	ATIVIDADE POR CICLO	
	No ponto máximo	
	Valor médio (%)	Intervalo das classes de atividade (%)
SHAM _{VEH} (n=6)	98±2	128±10
CH _{VEH} (n=6)	87±8	169±9 *
SHAM _{LOS} (n=6)	100±7	117±12
CH _{LOS} (n=6)	98±2	101±17 +

Significância: ($p < 0,05$) * vs. SHAM; + vs. VEH. (n)

A Figura 6 compara, para os 4 grupos estudados, na situação basal a sensibilidade da correlação atividade aferente do NDA x PS e os valores médios do intervalo de variação da descarga aferente. Nota-se que o estabelecimento da hipertensão caracterizou-se por redução do ganho e maior variabilidade da atividade espontânea do nervo depressor aórtico; o LOS corrigiu a variabilidade, mas não corrigiu o ganho, apesar da sensível melhora observada. Observa-se ainda que, embora o LOS reduzisse a PA dos ratos SHAM (Figura 1), não alterou a sensibilidade e nem o intervalo de variação da descarga aferente. Nos CH_{LOS} o ganho foi aumentado em mais de 10 vezes (de $-0,07 \pm 0,37$ para $+0,72 \pm 0,25$ mV/ciclo) embora os valores não atingissem significância.

Figura 6. Valores médios do ganho da descarga aferente e do intervalo de variação da descarga aferente do nervo depressor aórtico na situação basal, para os grupos coarctados (CH) ou com cirurgia fictícia (SHAM), submetidos a tratamento crônico com losartan (LOS) ou veículo (VEH). Significância: ($p < 0,05$) * vs. SHAM; + vs. VEH. Em cada grupo $n=6$

4.1.3. Atividade do nervo depressor aórtico durante variações da pressão do limiar à saturação

A Figura 7 e a Tabela III mostram para os 4 grupos de ratos a correlação da atividade normalizada do nervo depressor aórtico com a pressão sistólica desde o limiar até a saturação da descarga aferente. Deve-se ressaltar que para todos os ratos de todos os grupos o limiar sistólico (pressão sistólica na qual se iniciava a atividade neural - valores na Tabela III) foi semelhante à respectiva pressão diastólica basal (Tabela I).

No grupo VEH o estabelecimento da hipertensão determinou o deslocamento do limiar dos pressorreceptores para valores mais elevados de pressão (de 109 ± 4 para 118 ± 4 mmHg, $p < 0,05$) e reduziu o ganho da descarga aferente (inclinação média de $1,63 \pm 0,14$ para $1,04 \pm 0,11$ %ciclo/mmHg, $p < 0,05$) determinando aumento médio de 54% no intervalo de pressão pelo qual se estende a descarga aferente (valores na Tabela III). No grupo CH_{VEH}, a curva média de atividade aferente, do limiar à saturação apresentou ainda grande variabilidade, traduzida pela grande dispersão dos valores (Figura 7). O tratamento crônico com losartan não alterou a curva de atividade neural do grupo SHAM, mas apenas deslocou para a esquerda o limiar sistólico, de acordo com seu efeito hipotensor (de 109 ± 4 para 97 ± 4 mmHg, $p < 0,05$).

No grupo tratado com losartan, a indução da hipertensão também deslocou o limiar sistólico (CH_{LOS} = 97 ± 4 vs. 105 ± 6 mmHg) e a curva de atividade do NDA para níveis mais elevados de pressão aumentando o intervalo de atividade (CH_{LOS} = 69 ± 5 vs. 91 ± 6 mmHg, Tabela III). No entanto, reduziu marcadamente a variabilidade individual (Figura 7, painel inferior, à direita). Neste grupo, houve também redução do ganho da atividade aferente (de $1,50 \pm 0,14$ para $1,13 \pm 0,07$ %/ciclo/mmHg), porém de forma menos pronunciada (-24%) que aquela observada no grupo CH_{VEH} (-36%). Entretanto, esta diferença, devido à grande variabilidade do grupo CH_{VEH}, não foi significativa.

Tabela III. Valores do limiar sistólico, intervalo de pressão e ganho da descarga aferente normalizada (%) do nervo depressor aórtico durante estimulação do limiar à saturação (curva completa) e na faixa fisiológica de variação (+10 e -10 mmHg).

	Curva Completa			Faixa Fisiológica		
	Limiar Sistólico (mmHg)	Intervalo (mmHg)	Ganho (%/ciclo/mmHg)	+10 mmHg (%)	-10 mmHg (%)	Ganho (%/ciclo/mmHg)
SHAM_{VEH}	109±4	62±6	1,63±0,14	+51±5	-50±3	5,05±0,33
CH_{VEH}	118±4*	103±10*	1,04±0,11*	+24±5*	-26±5*	2,18±0,37*
SHAM_{LOS}	96±4	69±5	1,50±0,14	+50±7	-48±3	4,97±0,33
CH_{LOS}	105±4**	91±6*	1,13±0,07*	+36±5*	-31±3**δ	3,30±0,33**δ

Significância (p<0,05) * vs. SHAM; • vs. VEH; δ CH_{LOS} vs. SHAM_{LOS}. n = 6 para cada grupo

Figura 7. Curvas completas de atividade aferente normalizada do nervo depressor aórtico nos grupos normotenso (SHAM) e hipertenso (CH) tratados com veículo (painéis superiores) ou losartan (painéis inferiores). As curvas foram obtidas no 4º dia de hipertensão ou cirurgia fictícia. Em cada grupo n=6.

4.1.4. Ganho da atividade aferente na faixa fisiológica de funcionamento

A Tabela III resume além dos valores médios dos parâmetros analisados para a curva completa, também os valores observados na faixa fisiológica de variação da PA (-10 a +10 mmHg a partir do controle). Dentro desta faixa funcional observou-se no grupo CH_{VEH} depressão ainda maior no ganho do nervo depressor aórtico (-57%) quando comparado ao grupo SHAM_{VEH} ($5,05 \pm 0,33$ %/ciclo/mmHg, Figura 8). No grupo tratado com LOS, a CH também deprimiu o ganho (-34%, de $4,97 \pm 0,33$ para $3,30 \pm 0,33$ %/ciclo/mmHg), mas a depressão foi significativamente menor do que a observada nos CH_{VEH}. Conforme mostrado na Figura 8, o tratamento crônico com losartan determinou completa correção da atividade aferente dos CH_{LOS} durante elevações da pressão, visto que os valores não foram diferentes daqueles obtidos com os grupos SHAM, tratados ou não com losartan (vide Tabela III). Por outro lado, para reduções de 10 mmHg a atividade do nervo depressor aórtico melhorou significativamente quando comparada ao grupo CH_{VEH}, porém não foi normalizada (Tabela III). O ganho da atividade aferente (ganho) dos 4 grupos SHAM_{VEH}, CH_{VEH}, SHAM_{LOS} e CH_{LOS} plotados contra seus respectivos valores de pressão basal (Figura 9) mostra nitidamente que a indução da hipertensão determinou redução significativa na sensibilidade aferente dos grupos CH_{VEH} e CH_{LOS}, mas, na ausência dos efeitos endógenos da Ang II, esta depressão foi significativamente menor que aquela observada no grupo CH_{VEH} ($2,18 \pm 0,37$ vs. $3,30 \pm 0,33$ %/ciclo/mmHg, Tabela III). Esta correlação também diferencia os dois efeitos distintos do losartan:

- 1- o de reduzir a pressão, que é demonstrado através do deslocamento da reta à esquerda, de acordo com as reduções observadas nos valores basais.
- 2- o de restaurar parcialmente o ganho aferente durante o estabelecimento da hipertensão, uma vez que a reta representando a magnitude de redução do ganho foi significativamente menor na presença do LOS.

Figura 8. Alterações na atividade do nervo depressor aórtico na faixa fisiológica de funcionamento (- 10 a + 10 mmHg a partir da pressão controle = C) nos diferentes grupos (CH e SHAM), tratados cronicamente com veículo (VEH) ou losartan (LOS). Significância ($p < 0,05$): * vs. SHAM; + vs. VEH; ° CH_{LOS} vs. SHAM_{VEH}.

Figura 9. Ganho da atividade aferente do nervo depressor aórtico plotado em função das respectivas pressões basais nos grupos CH e SHAM, tratados cronicamente com VEH ou LOS. Significância ($p < 0,05$): * vs. SHAM; + vs. VEH; ° CH_{LOS} vs. SHAM_{VEH}.

4.2. Estudos com o nervo simpático esplâncnico (ASE)

4.2.1. Efeitos da CH e do losartan na pressão arterial média (PAM) de ratos

Da mesma forma que o observado no protocolo anterior, o tratamento crônico com LOS determinou *per se*, queda de 6% na PAM nos ratos normotensos (de 111 ± 2 mmHg nos SHAM_{VEH} para 104 ± 2 mmHg nos SHAM_{LOS} - vide Figura 10). A coarctação determinou aumento significativo da PAM tanto no grupo veículo (+36%, 151 ± 3 mmHg vs. 111 ± 2 mmHg nos SHAM_{VEH}) quanto para o grupo losartan (+24%, 129 ± 5 mmHg vs. 104 ± 2 mmHg nos SHAM_{LOS}). Em ambos os grupos, alterações da PAM pela CH e losartan foram semelhantes às observadas na primeira etapa deste trabalho (vide Figuras 10 e 1). O tratamento crônico com o LOS reduziu de forma significativa os níveis de PAM do grupo CH_{LOS}, comparado ao grupo CH_{VEH}, mas também não reverteu a hipertensão.

Figura 10. Pressão arterial média (PAM) dos grupos de ratos normotensos (SHAM) e hipertensos (CH), tratados com veículo (VEH) e losartan (LOS). Significâncias ($p < 0,05$) * vs. SHAM; + vs. VEH.

4.2.2. Análise atividade simpática espontânea do esplâncnico (ASE) na situação basal

Após a anestesia com cloralose e uretana registrou-se simultaneamente a ASE e PAM por 15 minutos, o que fornecia o comportamento destes parâmetros durante oscilações espontâneas da PAM dos ratos. A Figura 11 ilustra o padrão de um desses registros obtido através do Coda - Windaq e a Tabela IV sumariza os valores de PAM e ASE absoluta (mV/ciclo) e normalizada (%/ciclo) para os grupos estudados.

A ASE foi quantificada em 1000 ciclos sucessivos (Lundin et al, 1984) e para total de ciclos durante os 15 minutos de registro da atividade espontânea. Como não houve diferenças entre as duas formas de análise passamos a representar apenas os valores obtidos para o total de ciclos cardíacos aquisitados.

Figura 11. Registro direto simultâneo da atividade simpática esplâncnica (ASE, canal 1), pressão arterial (canal 2) e sinal retificado da atividade simpática esplâncnica (canal 3) de um rato controle, normotenso.

Os valores de PAM observados nos ratos acordados (Figura 10) foram praticamente mantidos após anestesia (Tabela IV). A ASE média basal tanto em valores absolutos (9 a 11 mV/ciclo) como normalizada (28 a 30 %/ciclo) não foi diferente entre os 4 grupos. Também não se observou diferenças no intervalo de PAM em que ocorrem as flutuações espontâneas da ASE (Tabela IV) embora a CH causasse, tanto nos grupos VEH quanto LOS, tendência a aumento do intervalo: 33% elevado nos CH_{VEH} (vs. SHAM_{VEH}) e 31% elevado nos CH_{LOS} (vs. SHAM_{LOS}, Tabela IV).

Além dos valores médios, foi também analisado o ganho da ASE durante as flutuações espontâneas da PAM. As Figuras 12 (registro condensado) e 13 (em escala expandida) ilustram para um rato de cada grupo a correlação da ASE espontânea com os valores de PAM registrados nos 15 minutos. Observa-se para os 4 animais, uma grande dispersão da ASE normalizada, mas o padrão foi bastante semelhante entre eles. O ajuste das retas de regressão linear ($y=ax+b$) sobre estes pontos mostrou que o ganho da ASE espontânea também não diferia entre os grupos, apresentando inclinações semelhantes (Tabela IV), embora durante a instalação da CH houvesse clara tendência à redução do ganho de -61% no grupo VEH e de -53% no grupo LOS (de $-2,95 \pm 0,73$ para $-1,14 \pm 0,29$ %ciclo/mmHg e de $-3,15 \pm 0,52$ para $-1,47 \pm 0,48$ %ciclo/mmHg respectivamente; $p > 0,05$). Observamos também que, em oposição à atividade aferente, as correlações ASE x PAM foram negativas, demonstrando que a ASE espontânea era reduzida durante oscilações para mais e aumentada durante oscilações para menos da PAM.

Figura 12. Atividade basal do nervo simpático esplâncnico (ASE) e sua relação com flutuações da pressão arterial média (PAM) em 4 ratos representativos do grupo normotenso (SHAM, à esquerda) e hipertenso (CH, à direita), tratados com veículo (VEH, acima) e losartan (LOS, abaixo). As retas representam o ajuste da regressão linear ($y=ax+b$) sobre os valores de ASE e PAM.

Figura 13. Variação da atividade basal do nervo simpático esplâncnico (ASE) em função de oscilações espontâneas da PAM nos mesmos animais da Figura 12. O eixo "x" foi expandido para mostrar, com maior clareza, o ajuste da equação de regressão linear aos pontos experimentais

Conforme observado nas Figuras 12 e 13, o padrão de descarga simpática esplâncnica é extremamente variável, apresentando desde ciclos de atividade silente (0% de ASE) até outros com 120-130% ASE/ciclo). Apesar da grande variabilidade, a representação para os grupos da ocorrência média nas diferentes classes de atividade simpática normalizada (Figura 14), mostrou que a maior quantidade das descargas estão concentradas nas classes de atividade mais baixas. Em função desta característica, a distribuição dos gráficos de ocorrência apresentam aspecto peculiar, de "escada", com pequenas alterações entre os diferentes grupos, que não chegam a ser significativas (Figura 14).

Figura 14. Ocorrência média em diferentes classes de atividade simpática esplâncnica normalizada (%/ciclo) para os grupos ratos normotensos (SHAM, à esquerda) e hipertensos (CH, à direita) tratados com veículo (VEH, painéis superiores) ou losartan (LOS, painéis inferiores).

A Figura 15 compara, para os diferentes grupos, os valores de inclinação da reta de regressão linear (índice do ganho da atividade neural eferente) e o intervalo de variação da descarga simpática espontânea na situação basal. Observa-se mais uma vez não haver diferenças significativas entre os 4 grupos e que a ASE espontânea não é alterada nem pela hipertensão nem pelo tratamento crônico com losartan.

Figura 15. Valores médios do ganho da atividade simpática esplâncnica (ASE, %/ciclo/mmHg) e do intervalo de variação da descarga eferente, na situação basal, para os grupos coarctado (CH) ou com cirurgia fictícia (SHAM), submetidos a tratamento crônico com losartan (LOS) ou veículo (VEH).

4.2.3. Atividade simpática esplâncnica durante variações induzidas da pressão arterial

Após os registros basais, foram realizadas em cada rato injeções e infusões *iv.* de fenilefrina e nitroprussiato de sódio para se obter elevações e quedas transitórias da PAM durante as quais se registraram-se as alterações da ASE. Os valores controles e as respostas máximas (Δ) de PAM e de ASE (em valores absolutos - mV/ciclo são representados na Tabela V). Índices de sensibilidade da ASE, calculados a partir das respostas de PAM e das respostas normalizadas de ASE (%/ciclo), são também apresentados na Tabela V e comparados na Figura 16. Observa-se, em todos os grupos, comportamento coerente da atividade simpática de apresentar, para elevações da pressão arterial, diminuição da descarga e, durante quedas da pressão arterial, elevação da descarga simpática (Tabela V). Como as respostas a infusões e injeções de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio foram semelhantes, os dados são apresentados em conjunto.

No grupo CH_{VEH}, elevações médias da PAM de $+20 \pm 5$ mmHg determinaram reduções de $-7,3 \pm 1,2$ mV/ciclo/mmHg, com índice de sensibilidade de $-0,76 \pm 0,29$ %/ciclo/mmHg. Este índice de sensibilidade foi 2,1 vezes maior que o observado no grupo SHAM_{VEH} ($-0,35 \pm 0,06$ %/ciclo/mmHg) para elevações médias de $+27 \pm 4$ mmHg, mas os valores não atingiram níveis de significância (Tabela V, Figura 16). Por outro lado, para elevações equivalentes da PAM ($+26 \pm 2$ mmHg) não houve alteração significativa do índice no grupo CH_{LOS} ($-0,37 \pm 0,04$ %/ciclo/mmHg), que se encontrava, inclusive, ligeiramente reduzido quando comparado ao observado no SHAM_{LOS} ($-0,43 \pm 0,07$ %/ciclo/mmHg).

Quanto à variação da descarga simpática durante quedas da PAM (Tabela V) observamos no grupo CH_{VEH} que reduções ligeiramente menores da PAM (-20 ± 4 vs. -23 ± 2 mmHg no SHAM_{VEH}) produziram elevações ligeiramente maiores de ASE ($+38,8 \pm 6,5$ vs. $+30,1 \pm 5,0$ mV/ciclo, respectivamente) o que determinou para os animais tratados com VEH, aumento significativo do

índice de sensibilidade da ASE após a coarctação (de $-1,44 \pm 0,23$ para $-2,16 \pm 0,23$ %/ciclo/mmHg, $p < 0,05$, Figura 16). Esta resposta foi bloqueada pelo tratamento crônico com LOS, ou seja, nos CH_{LOS} não houve aumento da sensibilidade da ASE durante quedas da PAM: a alteração de $-1,65 \pm 0,39$ nos SHAM_{LOS} para $-2,06 \pm 0,32$ %/ciclo/mmHg nos CH_{LOS} não foi significativa (Figura 16, Tabela V).

Tabela V. Valores controles e respostas (Δ) de pressão arterial média (PAM) e de atividade simpática esplâncnica (ASE em mV/ciclo) e índices de atividade simpática, obtidos durante infusão/injeção de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio para os quatro grupos experimentais.

GRUPO	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice de Sensibilidade (%/ciclo/mmHg)
$\uparrow$ PAM (fenilefrina)					
SHAM _{VEH} (n=14)	116 ± 4	$8,9 \pm 1,1$	$+27 \pm 4$	$-8,0 \pm 1,1$	$-0,35 \pm 0,06$
CH _{VEH} (n=11)	143 ± 6 *	$9,9 \pm 1,1$	$+20 \pm 5$	$-7,3 \pm 1,2$	$-0,76 \pm 0,29$
SHAM _{LOS} (n=15)	99 ± 2 +	$10,7 \pm 1,5$	$+23 \pm 2$	$-8,9 \pm 1,2$	$-0,43 \pm 0,07$
CH _{LOS} (n=26)	128 ± 4 * +	$11,6 \pm 1,4$	$+26 \pm 2$	$-9,6 \pm 1,4$	$-0,37 \pm 0,04$
$\downarrow$ PAM (nitroprussiato de sódio)					
SHAM _{VEH} (n=12)	113 ± 4	$9,2 \pm 1,5$	-23 ± 2	$+30,1 \pm 5,0$	$-1,44 \pm 0,23$
CH _{VEH} (n=10)	156 ± 4 *	$8,3 \pm 0,7$	-20 ± 4	$+38,8 \pm 6,5$	$-2,16 \pm 0,23^*$
SHAM _{LOS} (n=12)	101 ± 2 +	$9,6 \pm 1,7$	-22 ± 4	$+25,4 \pm 2,8$	$-1,65 \pm 0,39$
CH _{LOS} (n=28)	125 ± 3 * +	$10,5 \pm 1,5$	-22 ± 3	$+34,8 \pm 4,1$	$-2,06 \pm 0,32$

Valores são médias $\pm$ EPM. Índice de sensibilidade foi obtido pela relação Δ ASE/ Δ PAM. O valor de n refere-se às infusões/injeções (usualmente 2/rato) realizadas em cada grupo. Significância ($p < 0,05$) * vs. SHAM; + vs. VEH.

Figura 16. Comparação dos índices de sensibilidade da ASE a elevações (à esquerda) e quedas (à direita) da PAM, induzidas pela fenilefrina e nitroprussiato de sódio respectivamente, nos grupos hipertensos (CH) e normotensos (SHAM) tratados cronicamente com veículo (VEH) ou losartan (LOS). Significância ($p < 0,05$) * vs. SHAM.

4.2.4. Participação relativa do nível da PAM e da Angiotensina II na alteração da ASE

Embora nos grupos tratados com VEH e com LOS a coarctação tenha sido efetiva em induzir a hipertensão, a porcentagem de aumento da PAM (+36% e +24% nos grupos VEH e LOS, respectivamente) e os níveis finais de hipertensão (151 ± 3 e 128 ± 5 mmHg nos grupos VEH e LOS, respectivamente, Figura 10) diferiram entre os grupos.

Para se evidenciar se as alterações de ASE observadas eram devidas a diferentes níveis pressores e/ou à presença/ausência da Ang II, procurou-se aumentar o n visando à obtenção de ratos submetidos a este protocolo, mas cujos níveis de PAM atingidos se assemelhassem aos níveis de PAM do grupo CH_{LOS} . O grupo CH_{VEH} passou a contar com 13 ratos cuja média da PAM com o rato acordado era de 145 ± 6 mmHg. Da mesma forma que anteriormente, a PAM era mantida após anestesia (146 ± 6 mmHg) e a ASE medida foi de 10 ± 1 mV/ciclo (valores absolutos) ou 27 ± 2 %/ciclo (valores normalizados) e se distribuíam por um intervalo de 20 ± 3 mmHg e apresentavam ganho médio de $1,53 \pm 0,24$ %/ciclo/mmHg. Estes valores não diferiram das média dos outros grupos apresentados na Tabela IV. Deve-se ter presente que na indução da hipertensão por coarctação o estreitamento efetuado na aorta subdiafragmática não é exatamente igual para todos os

ratos, uma vez que se baseia em um índice aproximado (o do peso corporal). Desta forma, a análise detalhada dos valores individuais de PAM revelava uma distribuição contínua, com a existência de 2 subgrupos: os de PAM mais elevada e os de PAM mais baixa, que serviram como índice para a divisão deste grupo nos dois subgrupos apresentados na Tabela VI.

Tabela VI. Valores médios de pressão arterial média (PAM) acordado, anestesiado (PAM anest), atividade simpática esplâncnica (ASE) em valores absolutos (mV/ciclo) e normalizados (%/ciclo), intervalo de ocorrência da ASE e parâmetros da equação de regressão linear para os dois subgrupos CH_{VEH}, reagrupados de acordo com o nível de hipertensão atingido.

CH _{VEH}	PAM alta (n=7)	PAM baixa (n=6)
PAM acordado (mmHg)	158±7	128±1*
PAM anestesiado (mmHg)	155±6	132±8*
ASE (mV/ciclo)	11±2	9±1
ASE (%/ciclo)	26±2	27±3
Intervalo (mmHg)	22±2	17±3
Parâmetros da regressão		
Inclinação	-1,29±0,35	-1,86±0,26
Intersecção	182±43	275±34

Significância (p<0,05) * vs. PAM alta.

Observa-se que, independentemente dos níveis de PAM atingidos, a ASE basal, o intervalo de PAM em que ocorrem as flutuações espontâneas da ASE e o próprio ganho da ASE não diferiram entre os dois subgrupos coarctados e tratados com VEH (valores na Tabela VI).

A análise comparativa das alterações da ASE durante variações induzidas da PAM entre os dois subgrupos de CH_{VEH} e entre estes e os demais grupos experimentais (Tabela VII e Figura 17) mostrou que nos grupos tratados com VEH e LOS a indução da hipertensão determinou deslocamento à direita para níveis mais elevados de PAM, da faixa de funcionamento das respostas reflexas de ASE induzidas por variações na PAM (Figura 17), mas só alterou o ganho da ASE no grupo CH_{VEH} (-10,36±1,05 vs. -5,81±0,60 %/ciclo/mmHg, CH_{VEH} vs. SHAM_{VEH}, respectivamente, Tabela VII). Além disto, os CH_{VEH} mostraram elevação significativa do platô inferior (de 16±9

nos SHAM_{VEH} para 45 ± 5 %/ciclo) indicando deficiência na retirada do simpático esplâncnico durante elevações transitórias da PAM. Ambos os efeitos foram corrigidos quando o desenvolvimento da hipertensão se deu na presença do bloqueio crônico com LOS (Figura 17, Tabela VII).

Figura 17. Ajuste sigmoidal para a sensibilidade da ASE a alterações transitórias da PAM nos grupos hipertensos (CH) e normotensos (SHAM) tratados cronicamente com veículo (VEH) ou losartan (LOS). Significância ($p < 0,05$) vs. SHAM: * indica o aumento do ganho e # o deslocamento do platô inferior. Em ambos os grupos, houve deslocamento significativo das curvas para níveis superiores de pressão.

Que estes efeitos foram devidos à ativação da Ang II e não à elevação da pressão *per se* pode ser confirmado pela observação de que no subgrupo CH_{VEH} no qual a PAM era mais baixa e semelhante à do CH_{LOS} (123 ± 3 vs. 122 ± 5 mmHg, respectivamente) a alteração na ganho da ASE ($-11,60 \pm 1,79$ %/ciclo/mmHg) e no platô inferior (46 ± 9 %/ciclo) foram semelhantes às observadas no subgrupo CH_{VEH} com PAM alta ($-9,49 \pm 1,27$ %/ciclo/mmHg e 45 ± 6 %/ciclo), mas diferentes das observadas nos CH_{LOS} ($-6,58 \pm 0,62$ %/ciclo/mmHg e 36 ± 6 %/ciclo, Tabela VII).

Para maior clareza, a Figura 18 compara para os diferentes grupos e subgrupos o ganho da ASE estimulada por variações transitórias da pressão, plotados em função da respectiva PAM basal. Observa-se que o ganho da ASE foi aumentado apenas nos grupos CH que não tiveram os receptores AT₁ bloqueados. Observa-se também que o aumento da ASE não dependia dos níveis pré existentes de PAM basal.

Figura 18. Ganho da ASE a alterações transitórias da PAM induzidas pela fenilefrina e nitropussiato de sódio nos grupos hipertensos (CH) e normotensos (SHAM) tratados cronicamente com veículo (VEH) ou losartan (LOS). Significância ($p < 0,05$) * vs. SHAM.

5. Discussão

Várias observações originais resultaram deste trabalho. Demonstrou-se que:

- a Ang II ativada pela coarctação subdiafragmática da aorta prejudica a sinalização aferente da pressão arterial por deprimir o ganho e aumentar a variabilidade da descarga do nervo depressor aórtico;
- na fase crônica da CH, a ativação da Ang II aumenta o ganho da atividade simpática esplâncnica estimulada por hipertensões e hipotensões transitórias, além de tornar deficiente a retirada funcional do simpático durante elevações abruptas da pressão arterial.
- bloqueio crônico dos receptores AT₁ corrigiu parcialmente o ganho do nervo depressor aórtico durante flutuações fisiológicas da pressão arterial, mas corrigiu completamente as alterações fásicas da atividade simpática esplâncnica.
- as correções induzidas pelo bloqueio dos receptores AT₁ ocorrem simultaneamente ao efeito (adicional) do losartan de reduzir a pressão arterial, mas foram independentes dele, uma vez que a CH induziu a mesma elevação percentual de pressão nos grupos VEH e LOS, mas diferentes graus de prejuízo da sinalização pelo nervo depressor aórtico. Por sua vez a atividade simpática esplâncnica foi corrigida no grupo CH_{LOS} mas não no subgrupo CH_{VEH} com PAM mais baixa, não obstante apresentarem os mesmos níveis pressores.

O envolvimento da Ang II na alteração de funções cardiovasculares tem sido um achado constante em diferentes modelos de hipertensão (Korner, 1975; Floras et al, 1988; Moreira et al, 1988; Korner, 1989; Berecek et al, 1983; Guo & Abboud, 1984; Irigoyen et al, 1991). Na hipertensão por coarctação, estudos prévios em nosso laboratório demonstraram que a fase crônica é caracterizada pela adaptação completa da atividade aferente dos

pressorreceptores aos níveis elevados de pressão (Krieger et al, 1982; Michelini & Krieger, 1986) e por ativação do sistema-renina-angiotensina acompanhada de depressão da bradicardia e taquicardia reflexas (Michelini et al, 1992, Santos et al, 1995). Estas alterações do controle reflexo da frequência cardíaca foram completamente normalizadas após o tratamento crônico com losartan (Santos et al, 1995). Neste modelo de hipertensão demonstrou-se também que a sensibilidade da descarga aferente do nervo depressor aórtico a variações transitórias da pressão arterial, a qual se mostrava normal na fase inicial do desenvolvimento da CH, encontrava-se significativamente reduzida na fase crônica (Moreira et al, 1989; 1992). Os resultados do presente trabalho vieram demonstrar que a Ang II ativada pela coarctação torna menos eficiente a sinalização dos níveis pressóricos pelo nervo depressor aórtico, tanto na situação controle quanto durante elevações/quedas da PA, sugerindo que a redução do ganho da atividade aferente possa ser mediada pela ativação da Ang II.

Demonstrou-se ainda que a Ang II facilita a resposta simpática durante alterações fásicas da pressão arterial. Dado original do presente trabalho mostrando correção da atividade aferente do nervo depressor aórtico e da atividade simpática pelo bloqueio crônico dos receptores AT₁, sugere fortemente que a Ang II modula o funcionamento do reflexo pressorreceptor tanto por ação na alça aferente quanto por ação em mecanismos centrais/eferentes que alteram o tônus simpático para a periferia.

5.1. Losartan x sinalização aferente na hipertensão

A existência de receptores de Ang II em áreas do tronco cerebral envolvidas no controle cardiovascular (Song et al, 1991; 1992) e principalmente a presença de sítios ligantes de Ang II nos processos centrais e periféricos do nervo vago, no gânglio nodoso e nas projeções aferentes para os núcleos bulbares (Diz et al, 1986; 1988), juntamente com a demonstração de que

após deservação sino-aórtica há acentuada diminuição na densidade de receptores de Ang II nos núcleos do trato solitário (Healy et al, 1989) dão suporte anatômico às nossas observações de que a Ang II ativada durante o estabelecimento da hipertensão atenua o ganho e aumenta a variabilidade da descarga do nervo depressor aórtico, de forma a reduzir na fase crônica da hipertensão a eficiência da sinalização dos níveis pressores pelo nervo depressor aórtico. Interessante notar que este efeito verificou-se tanto na situação basal (atividade espontânea, Figuras 3-6) quanto na situação estimulada (Figuras 7-9) e que ambas foram parcialmente corrigidas pelo tratamento com losartan: houve aumento parcial da sensibilidade, redução significativa do intervalo de variação da descarga espontânea e correção quase completa do ganho na faixa funcional de variação da pressão, quando a hipertensão se desenvolveu em presença do bloqueio crônico dos receptores AT₁.

A demonstração do efeito da Ang II em atenuar, via receptores AT₁, a sinalização aferente dos pressorreceptores consistiu de observação original deste trabalho. Evidências indiretas deste efeito já haviam sido sugeridas pela presença e pela translocação de sítios ligantes da Ang II nas fibras vagais aferentes da periferia aos NTS (Diz et al, 1986; 1988) e pela constatação de que a deservação sino-aórtica reduzia significativamente os sítios ligantes de Ang II nos NTS (Healy et al, 1989). Esta observação encontra ainda suporte em dados recentes de Diz et al, (1999) de que a administração de oligonucleotídeos "antisense" para receptores AT₁ nos NTS, que reduz o "turnover" dos receptores AT₁ pós-sinápticos nos corpos celulares do interneurônios (mas é ineficaz em alterar os receptores AT₁ pré-sinápticos nas fibras aferentes, cujos corpos celulares situam-se no gânglio nodoso), determinou redução de 40% na resposta depressora à administração de Ang II no NTS ipsilateral, enquanto que a resposta bradicárdica foi completamente abolida. Estas respostas foram acompanhadas de redução de 40% nos sítios ligantes para ¹²⁵I[Sar¹ Thr⁸] Ang II nos NTS tratado com "antisense" para receptores AT₁ quando

comparado aos NTS contralateral (controle), indicando a persistência dos receptores AT₁ pré-sinápticos nos aferentes vagais sensoriais e sugerindo que a ação neuronal excitatória da Ang II resulta também de importante ativação pré sináptica. Nossos resultados, mostrando que o ganho da descarga aferente espontânea e estimulada foram significativamente aumentados nos hipertensos tratados com losartan confirmam funcionalmente o efeito modulatório da Ang II sobre a sinalização aferente pelo nervo depressor aórtico, demonstrando ainda que este efeito é mediado por receptores AT₁.

Ambos os subtipos de receptores, AT₁ e AT₂ têm sido mapeados no sistema nervoso central do rato e do homem (Rowe et al, 1992, Song et al, 1992, Bottari et al, 1993, MacGregor et al, 1995), mas a maioria dos efeitos funcionais da Ang II são mediados através de receptores AT₁ via proteína Gαq (Inagami et al, 1999). Além disso, estruturas bulbares envolvidas no controle cardiovascular, tais como NTS, núcleo dorsal motor do vago, assim como área postrema, apresentam exclusivamente, receptores AT₁ (Rowe et al, 1992, Song et al, 1992, Bottari et al, 1993). O efeito depressor da Ang II sobre o funcionamento do reflexo pressorreceptor, mediado pelos receptores AT₁, é um mecanismo complexo, envolvendo também, como mostrado pelos presentes resultados, alterações da atividade aferente dos pressorreceptores. Resultados anteriores já haviam demonstrado que a depressão do controle reflexo da frequência cardíaca e da resistência vascular periférica induzidas pela Ang II eram devidos a seu efeito inibitório sobre o tônus vagal (Lumbers et al, 1979, Lee et al, 1980), e/ou seu efeito de atenuar o controle reflexo da atividade simpática (Guo et al, 1984, Unger et al, 1985). Frente aos presentes resultados é bastante provável que tanto a redução na bradicardia reflexa observada após a administração de doses subpressoras de Ang II nos NTS de ratos acordados (Michelini & Bonagamba, 1990) ou anestesiados (Casto et al, 1986, Rettig et al, 1986), quanto a melhora da resposta bradicárdica após bloqueio central da Ang II (Campagnole-Santos et al, 1988, Michelini & Bonagamba, 1990) sejam, em

parte, devidos ao efeito inibitório da Ang II sobre a atividade do nervo depressor aórtico. Não pode, no entanto, ser excluída a possibilidade da Ang II alterar simultaneamente a atividade do nervo do seio carotídeo (não avaliada no presente estudo) e outras áreas envolvidas na integração do reflexo pressorreceptor.

5.2. Losartan x tônus simpático na hipertensão

Nossos dados demonstram que tanto a indução da hipertensão quanto o tratamento crônico com losartan não alteram a atividade espontânea do simpático esplâncnico no 4º dia de coarctação. No entanto, a atividade esplâncnica induzida por variações da pressão arterial, que se mostrava significativamente aumentada após a coarctação, foi completamente normalizada quando a hipertensão se desenvolveu em presença do bloqueio crônico dos receptores AT₁.

Alteração da atividade simpática na hipertensão é um assunto controverso: elevação (Bruner & Fink, 1986; Luft et al, 1989; Kline et al, 1990), redução (Caroll et al, 1984; Cox & Bishop, 1991) ou nenhuma alteração (Kline et al, 1990; Cox & Bishop, 1991) têm sido descritas. A principal causa desta inconsistência parece ser a dificuldade em se mensurar alterações crônicas da atividade simpática. Vários trabalhos quantificando a liberação (Goldstein, 1981) e/ou o "turnover" da noradrenalina plasmática (Esler et al, 1995) ou através de registros neurográficos diretos (Andresen et al, 1989) tem sugerido elevação da atividade simpática na hipertensão essencial. Além disto, estudos longitudinais têm ainda sugerido que a elevação da atividade simpática basal não é constante, mas transitória, apresentando-se elevada especialmente na fase inicial da hipertensão (Julius & Nesbitt, 1996; Mancia et al, 1998). Dados anteriores obtidos em nosso laboratório haviam também descrito o caráter transitório do aumento da atividade simpática na hipertensão por coarctação, uma vez que o tônus simpático mostrava-se elevado no 5º, mas não no 10º dia após a coarctação subdiafragmática da aorta (Michelini et al, 1992). Os presentes resultados, por sua vez,

mostraram que no 4º dia de coarctação a atividade simpática basal do nervo esplâncnico não era diferente da observada nos animais controles. Deve-se ter presente que a atividade simpática, caracterizada pelas descargas em "bursts", é gerada pela atividade de diferentes circuitos neurais - os chamados grupamentos pré-motores simpáticos (Barman & Gerbber, 1992; Barman et al, 1994; Dampney, 1994) e pode diferir de um território para outro. Uma outra característica importante da circuitaria simpática periférica, é a existência de controle diferencial para os diferentes territórios, de forma que o padrão de descarga pode diferir entre as eferências cardíacas, cutâneas, renais, esplâncnicas, musculares esqueléticas. Realmente Claassen et al (1996) documentaram em SHR através do registro direto do nervo simpático renal, adrenal, esplâncnico e lombar a não uniformidade da descarga autonômica em resposta a elevações mantidas da pressão.

Independente dos diferentes padrões de atividade nos diferentes territórios, a atividade simpática periférica apresenta duas características comuns: ela é inibida fasicamente pela ativação dos receptores periféricos a cada ciclo cardíaco e é facilitada pela elevação (Bishop et al, 1995) dos níveis plasmático e teciduais de Ang II (Bishop et al, 1995; Brooks, 1997; Csiky & Simon, 1997; Fink, 1997; Blaine et al, 1998). Nossos dados foram concordantes em mostrar o caráter reflexo da atividade simpática e sua facilitação pela ativação da Ang II. Mostrou-se adicionalmente que os efeitos da Ang II sobre a atividade simpática são preponderantes na determinação do tônus simpático em alterações transitórias da pressão arterial, uma vez que a indução da hipertensão e o bloqueio crônico dos receptores AT_1 alteraram parcial, mas não significativamente a atividade simpática esplâncnica (Figuras 12-15), mas determinaram nos animais CH_{VEH} potenciação da atividade simpática estimulada, a qual foi completamente corrigida quando a hipertensão se desenvolveu na presença do bloqueio crônico dos receptores AT_1 (Figuras 16-17).

A não alteração da atividade esplâncnica (basal) nos CH_{VEH} e CH_{LOS} não foi surpreendente. É bastante conhecido que os pressorreceptores, quando

submetidos a elevações mantidas de pressão, adaptam-se aos elevados níveis pressores, não podendo, portanto, mediar alterações a longo prazo na atividade simpática (Krieger et al, 1982; Chapleau et al, 1989; Krieger, 1989; Bishop et al, 1995; Brooks, 1997). Além disto, Sved et al (1997) observaram que animais com deservação crônica dos pressorreceptores mantidos em dieta salina normal apresentavam inalteração da pressão arterial e atividade simpática sugestivas de que os pressorreceptores não eram necessários para manter os níveis basais da atividade simpática. Também Hajduczuk et al (1991) observaram aumento acentuado da atividade simpática renal basal em cães idosos que não era maior que a esperada pela redução simultânea do ganho do reflexo pressorreceptor. Tem sido sugerido que a Ang II tem um papel-chave na determinação dos níveis mantidos da atividade simpática, uma vez que os efeitos da Ang II têm caráter não adaptativo (Brooks, 1997): alterações crônicas de volume do fluido extracelular produzem alterações recíprocas, sustentadas nos níveis da Ang II e uma alteração da Ang II a longo prazo produziria elevações mantidas da atividade simpática. No entanto, nossos dados sugerem que a ativação da Ang II pela coarctação subdiafragmática da aorta foi ineficaz em alterar significativamente a atividade basal do nervo esplâncnico (quantificada em mV/ciclo ou %/ciclo), apenas potencializando a resposta simpática induzida por variações da pressão.

Está bem estabelecido que as respostas simpáticas estimuladas são mediadas pela ativação/desativação dos pressorreceptores. Claassen et al (1996, 1998) estudando em diferentes territórios de SHR a resposta simpática a elevações mantidas da pressão, descreveram ausência das respostas subsequente à deservação sino-aórtica e que após o retorno da pressão aos níveis controle, havia supressão prolongada da atividade simpática nos territórios renal e lombar, mas não nos territórios esplâncnico e adrenal, sugerindo que nestes últimos a resposta simpática era essencialmente mediada pela atividade aferente dos receptores periféricos, enquanto que nos primeiros a resposta dependia também de outros circuitos neurais. Nossos dados mostrando uma boa correlação entre atividade

simpática esplâncnica e variações induzidas da pressão arterial confirmam as observações anteriores de Claassen et al, (1996, 1998) para o esplâncnico.

Demonstrou-se ainda que a atividade simpática esplâncnica mediada pela maior ou menor estimulação dos pressorreceptores, estava potencializada nos CH_{VEH} mas normalizada nos CH_{LOS} . A modulação da atividade simpática pela Ang II pode ocorrer tanto periférica quanto centralmente (Faria & Salgado, 1992; Fink, 1997). Considerando que o simpático esplâncnico é grandemente modulado pela ativação/desativação dos pressorreceptores, é bastante provável que esta modulação ocorra nos neurônios pré-motores simpáticos da RVLM. Tem sido demonstrado que os neurônios da RVLM que se projetam aos pré-ganglionares simpáticos, apresentam atividade intrínseca de marcapasso, recebem projeções dos aferentes periféricos (via NTS e CVLM), bem como projeções excitatórias e inibitórias de áreas supra-bulbares (Dampney, 1994). Vários estudos têm demonstrado que administração de Ang II no RVLM de animais anestesiados evoca resposta pressora (Allen et al, 1988; Andreatta et al, 1988, Sasaki & Dampney, 1990) e que a administração de antagonistas específicos produz queda significativa tanto da pressão arterial quanto da atividade simpática (Sasaki & Dampney, 1990). De fato, a alta densidade de sítios ligantes para Ang II foi observada na RVLM e CVLM correspondendo aos neurônios catecolaminérgicos C_1 e A_1 , respectivamente (Allen et al, 1988; Mendelsohn et al, 1988). Em estudo recente Dampney et al (1999) investigando os efeitos funcionais dos receptores AT_1 no controle tônico e reflexo dos neurônios da RVLM mostraram que a administração de losartan tinha pouco ou nenhum efeito sobre os níveis basais de pressão e atividade simpática espontânea (atividade tônica), mas bloqueava a excitação fásica de neurônios hipotalâmicos que se projetam ao RVLM, o que é concordante com nossos resultados. Demonstrou-se também que durante elevações da pressão, em presença da Ang II, havia menor inibição simpática. Elevação significativa do platô inferior da relação entre a atividade simpática lombar e

pressão arterial foi também observada em ratos hipertensos renais (1 rim, 1 clip) quando comparados aos controles normotensos (Heesch et al, 1996).

Em conjunto, estas observações indicam que a Ang II endógena (proveniente de terminações nervosas ou de via parácrina/autócrina - Bunnemann et al, 1992) causa, via receptores AT₁, excitação fásica dos neurônios da RVLM e portanto da atividade simpática. Nossos dados confirmam que a Ang II ativada pela coarctação potencializa via AT₁ a atividade fásica do simpático esplâncnico durante quedas da pressão arterial, mostrando adicionalmente que este efeito é devido aos efeitos modulatórios da Ang II *per se* e não à elevação concomitante da pressão, uma vez que a potencialização da resposta simpática não estava presente no grupo hipertenso tratado cronicamente com losartan. Além disto, como a atividade espontânea do simpático esplâncnico não foi alterada significativamente, a redução da resposta simpática após bloqueio dos receptores AT₁ pode também estar relacionada à significativa melhora da sinalização aferente verificada nesta situação experimental.

5.3. Dissociação entre os efeitos pressóricos e os efeitos modulatórios da Ang II

Nossos resultados indicaram que ambos os efeitos observados nos hipertensos após o tratamento com losartan: correção parcial da descarga aferente do nervo depressor aórtico e normalização das alterações fásicas da atividade simpática esplâncnica foram devidos ao bloqueio dos receptores AT₁ e não à redução dos níveis pressores subseqüentes ao tratamento. A ação modulatória da Ang II sobre a atividade do nervo depressor aórtico não depende, necessariamente, de seus efeitos sobre a pressão arterial, visto que o losartan causou reduções semelhantes de pressão arterial nos hipertensos e controles: -14% e -12% nos animais acordados; -17% e -11% após anestesia para CH e SHAM, respectivamente. Além disto, nos grupos CH, a coarctação subdiafragmática da aorta, impondo grande resistência à circulação (o chamado fator mecânico -

Salgado & Krieger, 1986) determinou aumentos de pressão que foram semelhantes: + 28% e +25% para CH_{VEH} e CH_{LOS}, vs seus respectivos controles. O fator mecânico não foi, portanto, alterado pelo tratamento com losartan, determinando em ambos grupos CH_{VEH} e CH_{LOS} igual sobrecarga pressora. Não obstante houve melhora da sensibilidade aferente (ganho) e redução significativa do limiar sistólico e da variabilidade da atividade do nervo depressor aórtico somente no grupo CH tratado com losartan.

É certo que os níveis de hipertensão apresentados pelos grupos CH_{VEH} e CH_{LOS} foram diferentes (151±4 e 130±4 mmHg, respectivamente), mas não há dados na literatura correlacionando a diminuição do ganho aferente dos pressorreceptores com a severidade da hipertensão. Estudos anteriores registrando a atividade do nervo depressor aórtico (Moreira et al, 1989 e 1992) mostraram redução comparável do ganho aferente após 2 ou 6 dias de hipertensão moderada (hipertensão por coarctação) e após 2 meses de hipertensão renal severa. Além disto, a redução significativamente menor no ganho do nervo depressor aórtico observada no grupo hipertenso tratado com losartan, quando comparado ao tratado com veículo (Figura 9), indica um efeito específico da Ang II sobre a descarga aferente, o qual ocorre simultaneamente ao efeito hipotensor.

Dissociação entre níveis pressóricos/atividade renina-plasmática (Moreira et al, 1988) bem como entre atividade de renina plasmática/níveis de RNAm de angiotensinogênio no tronco cerebral (Collister et al, 1996) tem sido demonstrada em ratos hipertensos por ligadura da aorta entre as artérias renais. Em concordância, demonstramos anteriormente que o efeito modulatório da Ang II sobre o controle reflexo da frequência cardíaca não dependia dos níveis pressóricos, uma vez que dose subpressora da Ang II, administradas nos NTS de ratos normotensos deprimia a bradicardia reflexa (Michellini & Bonagamba, 1990) e o bloqueio crônico dos receptores AT₁ normalizava a resposta bradicárdica de ratos CH, mesmo na persistência da hipertensão (Santos et al, 1995).

Nos animais utilizados para estudo da atividade simpática, embora a indução da CH tenha determinado após tratamento com VEH e LOS níveis absolutos de pressão semelhantes aos dos grupos em que a atividade do nervo depressor aórtico foi analisada (compare Figuras 1 e 10), a elevação da pressão induzida pela CH foi pouco diferente: +36% no grupo CH_{VEH} e +24% no grupo CH_{VEH} (vs. seus respectivos controles). Além da diferente sobrecarga pressora, os níveis absolutos de pressão diferiram entre os CH_{VEH} (151±9 mmHg) e CH_{LOS} (129±5 mmHg). Estas discrepâncias motivaram neste protocolo a investigação mais pormenorizada da participação relativa dos níveis de pressão e da Ang II na alteração da atividade simpática esplâncnica (item 4.2.4). Uma observação importante resultante desta investigação foi a de que, independente dos níveis de pressão atingidos, os CH_{VEH} apresentavam níveis semelhantes de atividade simpática esplâncnica basal (Tabela IV) e respostas semelhantes do simpático à estimulação dos pressorreceptores (Tabela VII). Mais importante ainda, a constatação de que a CH_{VEH} e CH_{LOS} com níveis semelhantes de hipertensão (123±3 e 122±5 mmHg, respectivamente) apresentavam respostas simpáticas diferentes a variações induzidas da pressão (Tabela VII, Figura 18) veio confirmar a dissociação entre os efeitos simpáticos devidos à variação da pressão daqueles devidos à modulação funcional pela Ang II. Nossos resultados foram coerentes em indicar que a potenciação da resposta na hipertensão por coarctação é causada por ação da Ang II (ativada neste modelo de hipertensão) uma vez que o ganho da atividade simpática esplâncnica não dependeu do nível pressor atingido e foi completamente normalizado pelo bloqueio crônico dos receptores AT₁. Em trabalho recente Heesch et al (1996) também confirmaram que a adaptação do controle reflexo do simpático lombar após administração aguda de inibidores da enzima de conversão era independente da pressão, uma vez que a curva de função reflexa continuava igualmente deslocada após a restauração dos níveis pressores prévios com infusão endovenosa de fenilefrina.

O tratamento crônico com LOS foi ainda eficaz em reduzir a pressão arterial dos grupos SHAM, Collister et al (1996) também demonstraram que o tratamento com losartan reduziu a pressão arterial de ratos normotensos sob dieta normal de sódio. Em concordância, dose diária similar de losartan determinou redução de mesma magnitude na pressão arterial de CH e SHAM (-14% e -10%, respectivamente) que foram mantidas durante todo o experimento.

Indicativo dos efeitos crônicos do losartan sobre os níveis de pressão arterial foi a observação de que a atividade do nervo depressor aórtico e a atividade eferente basal estavam adaptadas às pressões existentes em todos os grupos estudados, conforme observado pela semelhança entre o limiar sistólico para a ativação da descarga aferente e a pressão diastólica e pela similaridade da atividade simpática esplâncnica espontânea. A redução da pressão arterial, determinada pelo tratamento crônico com losartan, ressalta a importância dos níveis endógenos de Ang II na manutenção da vasoconstrição e na determinação da pressão arterial basal dos grupos normotensos e hipertensos.

Outro achado do presente estudo é que o tratamento crônico com losartan não alterou a magnitude das descargas aferente e eferente basais (mV/ciclo ou %/ciclo) dos grupos CH ou SHAM, como também não alterou as respostas aferente e eferente nos grupos SHAM. Foi demonstrado (Barnes et al, 1993), que o losartan não altera o padrão de descarga basal de neurônios dos NTS medial sensíveis à Ang II, mas apenas reverte a descarga aumentada e bloqueia a excitação induzida pela administração de Ang II.

Em resumo, os dados do presente trabalho mostram que a Ang II, estimulada durante o desenvolvimento da hipertensão por coarctação e agindo em receptores AT₁, deprime a sensibilidade aferente do nervo depressor aórtico e aumenta a resposta simpática durante elevações e quedas da pressão arterial. Contribui desta forma, na fase crônica da hipertensão, ao prejuízo da sinalização dos níveis pressóricos e do déficit da

inibição simpática pelos pressorreceptores arteriais. Além disso, nossos resultados demonstraram que o bloqueio crônico dos receptores AT₁ facilita a ação dos pressorreceptores (sinalização e inibição simpática mais eficientes) mesmo na persistência da hipertensão. Demonstra ainda que o prejuízo do controle reflexo após indução da hipertensão não se deve à alteração pressora *per se*, como também a correção destes prejuízos não pode ser atribuída ao efeito do losartan de reduzir a pressão arterial. São, pelo contrário, devidos à modulação exercida pela Ang II endógena sobre a sinalização aferente dos níveis de pressão arterial (tamponamento) e sobre a resposta simpática resultante (potenciação) que foram respectivamente, melhoradas e normalizadas quando a hipertensão se desenvolveu em presença do bloqueio crônico dos receptores AT₁.

6. Bibliografia

- Abraham G. & G. Simon.** Autopotential of pressor responses by subpressor Angiotensin II in rats. *Am. J. Hypertension*, 7: 269-275, 1994.
- Allen A. M., R. Dampney, F. A. Mendelsohn.** Angiotensin receptor binding and pressor effects in cat subretrofacial nucleus. *Am. J. Physiol.*, 255: H1011-H1017, 1988.
- Andreatta S. H., D. B. Averill, R. A. S. Santos, C. M. Ferrario.** The ventrolateral medulla: A new site of the action of the renin-angiotensin system. *Hypertension*, 11(suppl. 1), I163-I166, 1988.
- Andresen M. C. & M. Yang.** Arterial baroreceptor resetting: Contributions of chronic and acute process. *Clin. Exp. Pharmacol. And Physiol.*, 15: 19-30, 1989.
- Averill D.B., T. Tsuchihashi, M. C. Khosla, C. M. Ferrario.** Losartan, nonpeptide angiotensin II-type 1 (AT1) receptor antagonist, attenuates pressor and sympathoexcitatory responses evoked by angiotensin II and L-glutamate in rostral ventrolateral medulla. *Brain Res.*, 665(2): 245-52, 1994.
- Bagby S. P. & E. F. Fuchs.** Chronic MK421 fails to modify evolution of hypertension in neonatally coarcted pups. *Hypertension*, 13: 91-101, 1989a.
- Bagby S. P. & E. F. Fuchs.** Chronic CEI alters effect of low Na⁺ diet in normal and coarcted pups. I. BP, renin and GFR. *Am. J. Physiol.* 256: R523-R530, 1989b.
- Barman S. M. & G. L. Gerbber.** Rostral ventrolateral medullary and caudal medullary raphe neurons with activity correlated to the 10-Hz rhythm in sympathetic nerve discharge. *J. Neurophysiol.*, 68: 1535-1547, 1992.
- Barman S. M., H. S. Oler, G. L. Gerbber.** Caudal ventrolateral medullary neurons are elements of the network responsible for the 10-Hz rhythm in sympathetic nerve discharge. *J. Neurophysiol.*, 72: 106-120, 1994.

- Barnes K. L., A. J. McQueeney, C. M. Ferrario.** Receptor subtype that mediates the neuronal effects of angiotensin II in the rat dorsal medulla. *Brain Res. Bull.*, 31: 195-200, 1993.
- Berecek K. H., J. D. Robertson, and M. H. Thorstad.** Central administration of a specific angiotensin II receptor antagonist on baroreflex function in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens*, 9: 365-371, 1991.
- Berecek K. H., T. Okuno, S. Nagahama, and S. Oparil.** Altered vascular reactivity and baroreflex sensitivity induced by chronic central administration of captopril in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*, 5: 689-700, 1983.
- Bishop B. S., M. Ryuzaki, Y. Cai, Y. Nishida, B. F. Cox.** Angiotensin II-dependent hypertension and the arterial baroreflex. *Clin. Exp. Hypertens.*, 17 (1&2): 29-38, 1995.
- Bishop V. S. & M. Hay.** Involvement of area postrema in the regulation of sympathetic outflow to the cardiovascular system. In: *Frontiers in Neuroendocrinology*, edited by W. F. Ganong, and L. Martini. vol 14, Raven Press, p 57-75, 1993.
- Blaine E. H., J. T. Cunningham, E. M. Hassler, W. E. Dale, Q. Li, M. Sullivan.** Angiotensin Hypertension. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 25 (suppl.), S16-S20, 1998.
- Bottari S. P., M. Gasparo, M. Steckelings, N. R. Levens.** Angiotensin II subtypes: Characterization, signalling mechanisms, and possible physiological implications. In: Ganong WF, Martini L (eds): *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol14, New York, Raven, pp 123-71, 1993.
- Brooks V. L.** Interaction between angiotensin II and the sympathetic nervous system in the long-term control of arterial pressure. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 24: 83-90, 1997.
- Bruner C. A. & G. D. Fink.** Neurohumoral contributions to chronic angiotensin-induced hypertension. *Am. J. Physiol.*, 250: H52-H61, 1986.

- Bunnemann B., K. Fuxe, D. Ganten.** The brain renin-angiotensin system: Localization and general significance. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 19 (suppl. 6): S51-62, 1992.
- Campagnole-Santos M. J., D. I. Diz, C. M. Ferrario.** Baroreflex modulation by angiotensin II at the nucleus tractus solitarii. *Hypertension*, 11 (suppl. I): I-167-71, 1988.
- Campbell D. J.** Circulating and tissue angiotensin systems. *J. Clin. Invest.*, 79(1): 1-6, 1987.
- Carroll R. G., T. E. Lohmeier, A. J. Brown.** Chronic angiotensin II infusion decreases renal norepinephrine overflow in conscious dogs. *Hypertension*, 6: 675-681, 1984.
- Casto R., & M. I. Phillips.** Angiotensin II attenuates baroreflex at nucleus tractus solitarius of rats. *Am. J. Physiol.*, 250: R193-R198, 1986.
- Chaki S. & T. Inagami.** Identification and characterization of a new binding site for angiotensin II in mouse neuroblastoma neuro-2A cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 182: 388-394, 1992.
- Chapleau M. W., G. Hajduczuk, F. M. Abboud.** Peripheral and central mechanisms of baroreflex resetting. *Clin. and Exp. Pharmacol. Physiol.*, 15: 31-43, 1989.
- Claassen D.E., D.A. Morgan, T. Hirai; M. J. Kenney.** Nonuniform sympathetic nerve responses after sustained elevation in arterial pressure. *Am. J. Physiol.*, 271(5 Pt 2): R1264-9, 1996.
- Claassen D.E., R. J. Fels, M. J. Kenney.** Altered frequency characteristics of sympathetic nerve activity after sustained elevation in arterial pressure. *Am. J. Physiol.*, 274(3 Pt 2): R694-703, 1998.
- Cox B. F. & V. S. Bishop.** Neural and humoral mechanisms of angiotensin-dependent hypertension. *Am. J. Physiol.*, 261: H1284-H1291, 1991.
- Csiky B, G. Simon.** Effect of neonatal sympathectomy on development of angiotensin II-induced hypertension. *Am. J. Physiol.*, 272(2 Pt 2): H648-56, 1997.
- Dampney R. A. L.** Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol. Rev.*, 74: 323-362, 1994.

- Diz D. I. & C. M. Ferrario.** Bidirectional transport of angiotensin II binding sites in the vagus nerve. *Hypertension*, 11 (suppl 1): I-139-43, 1988.
- Diz D. I., B. Westwood, D. B. Averill.** AT₁ receptor inhibition by antisense oligonucleotides in the solitary tract nucleus reveals both pre- and postsynaptic contributions to the cardiovascular actions of angiotensin II. *Hypertension*, 34: 352(abstr P66), 1999.
- Diz D. I., K. L. Barnes, C. M. Ferrario.** Contribution of vagus nerve to angiotensin II binding sites in the canine medulla. *Brain Res. Bull.*, 17: 497-505, 1986.
- Dzau V. J., J. Ingelfinger, R. E. Pratt, K. E. Ellison.** Identification of renin and angiotensinogen messenger RNA sequences in mouse and rat brain. *Hypertension*, 8: 544-48, 1986.
- Esler M.** The sympathetic nervous system and catecholamine release and plasma clearance in normal blood pressure control, in aging and in hypertension. In: *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*, (eds J. H. Laragh & B. Brenner), 2nd Edn, p. 755. Raven Press, Ltd, New York, 1995.
- Faber J. E. & Body, M. J.** Enhanced neurogenic vasoconstrictor tone during initiation of 2-kidney 1-clip Goldblatt hypertension in conscious rat. *Fed. Proc.*, 41: 1094, 1980.
- Faria F. A. C. & M. C. O. Salgado.** Facilitation of noradrenergic transmission by angiotensin in hypertensive rats. *Hypertension*, 19(suppl II): II30- II35, 1992.
- Ferrario C. M., Y. Ueno, D. I. Diz, K. L. Barnes.** The renin-angiotensin system: Physiological actions in the central nervous system. in Zanchetti A, Tarazi RC (eds): *Pathophysiology of Hypertension. Hand book of Hypertension*, vol 8. Amsterdam, Elsevier, pp 431-454, 1986.
- Fink G. D.** Long-term sympatho-excitatory effect of angiotensin II: a mechanism of spontaneous and renovascular hypertension. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 24(1): 91-5, 1997.

- Floras J. S., M. O. Hassan, J. V. Jones, B. A. Osikowska, P. S. Sever, and P. Sleight.** Consequences of impairment arterial baroreflex in essential hypertension: effect on pressor responses, plasma noradrenaline and blood pressure variability. *J. Hypertens.*, 6: 525-535, 1988.
- Gehlert D. R., S. L. Gackenhimer, D. A. Schober.** Autoradiographic localization of subtypes of AII antagonist binding in the rat brain. *Neuroscience*, 44: 501-14, 1991.
- Guo G. B. & F. M. Abboud.** Impaired central mediation of the arterial baroreflex in chronic renal hypertension. *Am. J. Physiol.*, 246: H720-H727, 1984.
- Hajduczuk G., M. W. Chapleau, S. L. Johnson, F. M. Abboud.** Increase in sympathetic activity with age. I. Role of impairment of arterial baroreflexes. *Am. J. Physiol.*, 260: H1113-H1120, 1991.
- Healy D. P., R. Rettig, T. Nguyen, M. P. Printz.** Quantitative autoradiography of angiotensin II receptors in the rat solitarii-vagal area: effects of nodose ganglionectomy or sinoaortic denervation. *Brain Res.*, 484: 1-12, 1989.
- Heesch C. M., E. Crandall, J. A. Turbek.** Converting enzyme inhibitors cause pressure-independent resetting of baroreflex control of sympathetic outflow. *Am. J. Physiol.*, 270: R728-R737, 1996.
- Inagami T., Y. Kambayashi, T. Ichiki, S. Tsuzuki, S. Eguchi, T. Yamakawa.** Angiotensin receptors: Molecular biology and signaling. *Clin. And Exp. Pharmacol. Physiol.*, 26: 544-549, 1999.
- Irigoyen M. C., R. D. Moreira, E. D. Moreira, E. M. Krieger.** High-renin renal hypertension depresses the baroreflex control of heart rate and sympathetic activity. In: *Central Neural Mechanisms of Blood Pressure Regulation*, edited by G. Kunos and J. Ciriello New York: Springer-Verlag, 1991, p 254-264.
- Jones J. V. & J. S. Floras.** Baroreflex sensitivity changes during development of Goldblatt two-kidney, one clip hypertension in rats. *Clin. Sci.*, 59: 347-52, 1980.

- Julius S.** The evidence for a pathophysiologic significance of the sympathetic overactivity in hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.*, 18(3-4):305-21, 1996.
- Julius S., S. Nesbitt.** Sympathetic overactivity in hypertension. A moving target. *Am. J. Hypertens.*, 9(11): 113S-120S, 1996.
- Kirchheim H. R.** Sistemic arterial baroreceptor reflexes. *Physiological Reviews*, vol. 56, n° 1, 1976.
- Kline R. L., K. Chow, P. F. Mercer.** Does enhanced tone contribute to angiotensin II hypertension in rats? *Europ. J. Pharmacol.*, 184: 109-118, 1990.
- Korner P. I.** Baroreceptor resetting and other determinants of baroreflex properties in hypertension. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 15: 45-64, 1989.
- Korner P. I.** Central and peripheral "resetting" of baroreceptor system. *Clin Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2: 171-8, 1975.
- Korner P. I. & A. A. Argus.** Structural determinants of vascular resistance properties. *J. Vasc. Res.*, 29: 293-312, 1992.
- Korner P. I., J. Shaw, M. J. West & J. R. Oliver.** Central nervous system control of baroreceptor reflexes in the rabbit. *Circ. Res.*, 31: 637-52, 1972.
- Krieger E. M.** Arterial baroreceptor resetting in hypertension. *Clin. Exp. Pharmacol. and Physiol.*, 15: 3-7, 1989.
- Krieger E. M.** Time course of baroreceptor resetting in acute hypertension. *Am. J. Physiol.*, 218: 486-490, 1970.
- Krieger E. M., H. C. Salgado, L. C. Michelini.** Resetting of the baroreceptors. *Intern. Rev. Physiol.*, 26: 119-45, 1982.
- Ledoux J. E., L. W. Tucker, B. A. Del, G. Harshfield, L. Green, W. L. Talman, D. J. Reis.** A hierarchical *organization* of blood pressure during *natural* behaviour in rat and the effects of central catecholamine neurons thereon. *Clin. Sci.*, 59: 271, 1980.
- Lee W. B., M. J. Ismay, E. R. Lumbers.** Mechanisms by which angiotensin II affects the heart rate of conscious sheep. *Circ. Res.*, 47: 286-92, 1980.

- Leloir J., J. Hedtke, F. E. Shileman.** Uptake of and response to norepinephrine by certain tissues of hypertensive rats. *Am. J. Physiol.*, 230: 1545-49, 1976.
- Luft F. C., C. S. Wilcox, T. Unger.** Angiotensin-induced hypertension in the rat: Sympathetic nerve activity and prostaglandins. *Hypertension*, 14: 396-403, 1989.
- Lumbers E. R., D. I. McCloskey, E. K. Potter.** Inhibition by angiotensin II of baroreceptor-evoked activity in vagal efferent nerves in the dog. *J. Physiol. (Lond)*, 294: 69-80, 1979.
- Lundin S. & P. Thorén.** Renal function and sympathetic activity during mental stress in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol. Scand.*, 115: 115-124, 1982.
- Lundin S., S. E. Ricksten, and P. Thorén.** Renal sympathetic activity in spontaneously hypertensive rats and normotensive controls, as studied by three different methods. *Acta Physiol. Scand.*, 120: 265-272, 1984.
- MacGregor D. P., C. Murone, K. Song, A. M. Allen, G. Paxinos, F. A. O. Mendelsohn.** Angiotensin II receptor subtypes in the human central nervous system. *Brain Res.*, 675: 231-40, 1995.
- Machado B. H., H. C. Salgado, and E. M. Krieger.** Tachycardic responses during the development of renal hypertension. *Hypertension*. 5(suppl V):V-122-V-127, 1983.
- Mancia G., M. Di Rienzo, C. Giannattasio, G. Parati, G. Grassi.** Early and late sympathetic activation in hypertension. *Scand. Cardiovasc. J. Suppl.*, 47: 9-14, 1998.
- McCubbin J. W., Green, J. H., I. H. Page.** Baroreceptor function in chronic renal hypertension. *Cir. Res.*, 4: 205-10, 1956.
- Mendelsohn F. A. O.** Localization and properties of angiotensin receptors. *J. Hypertens.*, 3: 307-316, 1985
- Michellini L. C.** Regulação da Pressão Arterial: Mecanismos Neuro-Humorais. In: Fisiologia, editado por Guanabara/Koogan. 1999, p 473-488.

- Michelini L. C. & L. G. H. Bonagamba.** Angiotensin II as a modulator of baroreflex in the brainstem of conscious rats. *Hypertension*, 15 (suppl. I): 45-50, 1990.
- Michelini L. C. E. M. & Krieger.** Aortic caliber changes during development of hypertension in freely moving rats. *Am. J. Physiol.*, 250: H667-71, 1986.
- Michelini L. C., M. Oliveira, and M. Santos.** Baroreceptor reflex control of heart rate during development of coarctation hypertension. *Hypertension*, 19 (suppl II): II-159-II-163, 1992.
- Moan A., A Hoieggen, G. Nordby, I. K. Eide and S. E. Kjeldsen.** Effects of losartan on insulin sensitivity in severe hypertension: connections through sympathetic nervous system activity? *Jouranl of Human Hypertension*, 9 Suppl 5, S45-S50, 1995.
- Moreira E. D., F. Ida, V. L. L. Oliveira and E. M. Krieger.** Early depression of the baroreceptor sensitivity during onset of hypertension. *Hypertension*, 19 (suppl II) 198-201, 1992.
- Moreira E. D., F. Ida, and E. M. Krieger.** Extent of rapid baroreceptor resetting during first hours of hypertension. *Am. J. Physiol.*, 257: H711-H716, 1989.
- Moreira E. D., F. Ida, and E. M. Krieger.** Reversibility of baroreceptor hyposensitivity during reversal of hypertension. *Hypertension*, 15: 791-6, 1990.
- Moreira E. D., M. Oliveira, and E. M. Krieger.** Impaired baroreflex control of heart rate in high-renin renal hypertension. *J. Hypertens.*, 6: 619-625, 1988.
- Ninomiya I., K. Matsukawa, N. Nishimura.** Central and baroreflex control of sympathetic nerve activity to the heart and kidney in a daily life of he cat. *Clin. Exp. Hypertens.*, A10 (suppl. 1): 19-31, 1988.
- Noll G., R. R. Wenzel, C. Binggeli, C. Corti, T. F. Lüscher.** Role of the sympathetic nervous system in hypertension and effects of cardiovascular drugs. *Eur. Heart J.*, 19 (suppl F): F32-F38, 1998.

- Phillips M. I.** Function of angiotensin in the central nervous system. *A. Rev. Physiol.*, 49, 413-435, 1987.
- Pitts R. F. & D. W. Bronk.** Excitability cycle of hypothalamus-sympathetic neurone system. *Am. J. Physiol.*, 135: 504-522, 1942.
- Pontieri V., M. K. Venezuela, C. Scavone, L. C. Michelini.** Role of endogenous nitric oxide in the nucleus tractus solitarius on baroreflex control of heart rate in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.*, 16(12 Pt 2):1993-1999, 1998.
- Printz M. P., D. Ganten, T. Unger, M. Phillips.** Minireview: the brain renin-angiotensin system. In: Ganten D., Printz M. P., Phillips M. I., Schoelkens BA (eds): *Experimental Brain Research*, suppl 4, Berlin, Springer, pp 3-52, 1982.
- Reid I. A.** Interactions between ANG II, sympathetic nervous system, and baroreceptor reflexes in regulation of blood pressure. *Am. J. Physiol.*, 262: E763-78, 1992.
- Rettig R., D. P. Healy, M. P. Printz.** Cardiovascular effects of microinjections of angiotensin II into the nucleus tractus solitarius. *Brain Res.*, 364: 233-240, 1986.
- Rowe B. P., D. L. Saylor, R. C. Speth.** Analysis of angiotensin II receptor subtypes in individual rat brain nuclei. *Neuroendocrinology*, 55: 563-73, 1992.
- Salgado H. C. & E. M. Krieger.** Mechanical and renin-angiotensin system components in acute aortic coarctation hypertension. *Hypertension*, 8 (suppl. I): I-133 - I-136, 1986.
- Salgado H. C. & M. C. O. Salgado.** Acute aortic coarctation hypertension: role of vasopressin and angiotensin II. *Am. J. Physiol.*, 257: H1480-H1484, 1989.
- Salgado H. C., R. Fazan Jr, B. H. Machado, and M. C. O. Salgado.** Mechanical and neuro-humoral factors in acute aortic coarctation hypertension. *Contributions to Autocoid Pharmacology*, Birkhäuser Verlag., Basel. pp 152-163, 1992.

- Santos C. M., V. Pontieri, M. L. Neto, L. C. Michelini.** Losartan improves baroreflex control of heart rate of coarcted hypertensive rats. *Am. J Physiol.* 269: H812-8, 1995.
- Sasaki S., R. A. L. Dampney.** Tonic cardiovascular effects of Angiotensin II in ventrolateral medulla. *Hypertension*, 15: 274-283, 1990.
- Saxena P. R.** Interaction between the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 19 (suppl. 6): S80-8, 1992.
- Sechi L. A., E. F. Grady, C. A. Griffin, J. E. Kalinyak, M. Schambelan.** Characterization of angiotensin II receptor subtypes in rat kidney and heart using the non-peptide antagonists DuP-753 and PD 123177. *J. Hypertens.*, 9 (suppl. 6): S224-5, 1991.
- Simon E., R. Gerstberger, D. A. Gray, K. Matsumura.** Localization and functional properties of angiotensin targets in the third ventricular region. *Acta Physiol. Scand.*, 136 (suppl. 583), 119-29, 1989.
- Sleight P.** The sympathetic nervous system in hypertension: differing effects of drug treatment. *Eur. Heart J.*, 19 Suppl: F39-44, 1998.
- Soato G. G. & E. M. Krieger.** Heart rate after acute hypertension in the rat. *Am. J. Physiol.*, 227: 1389-93, 1974.
- Song K., Zhuo J., F. A. O. Mendelsohn.** Access of peripherally administered DuP 753 to rat brain angiotensin II receptors. *Br. J. Pharmacol.*, 104: 771-2, 1991.
- Steckelings U., C. Lebrun, F. Qadri, A. Veltmar, T. Unger.** Role of brain angiotensin in cardiovascular regulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 19 (suppl. 6): S72-S79, 1992.
- Suzuki H., C. M. Ferrario, R. C. Speth, K. B. Brosnihan, R. R. Smeby, and P Silva.** Alterations in plasma and cerebrospinal fluid norepinephrine and Angiotensin II during the development of renal hypertension in conscious dogs. *Hypertension*, 5(suppl 1):I-139-I-148, 1983.
- Sved A., A. M. Schreihöfer, C. K. Kost Jr.** Blood pressure regulation in baroreceptor denervated rats. *Clin. Exp. Pharmacol. and Physiol.*, 24: 77-82, 1997.

- Swanson G. N., J. M. Hanesworth, M. F. Sardinia, J. K. M. Coleman, J. W. Wright, K. L. Hall, A. V. Miller-Wing, J. W. Stobb, V. I. Cook, E. C. Harding, J. W. Harding.** Discovery of a distinct binding site of angiotensin II (3-8), a putative angiotensin IV receptor. *Regul. Pept.*, 40: 409-419, 1992.
- Tanaka T., A. Seki, J. Fujii, H. Kurihara, M. Ikeda.** Norepinephrine turnover in two types of experimental renovascular hypertension of the rabbit. *JPN. Circ. J.*, 41: 881-2, 1977.
- Tsuchihashi T., I. Abe, M. Fujishima.** Role of metabotropic glutamate receptors in ventrolateral medulla of hypertensive rats. *Hypertension*, 24: 648-652, 1994.
- Tsutsumi K. & J. M. Saavedra.** Quantitative autoradiography reveal different angiotensin II receptor subtypes in selected rat brain nuclei. *J. Neurochem.*, 56 (1): 348-51, 1991.
- Unger T., H. Becker, M. Petty, G. Demmert, B. Schneider, D. Ganten, R. E. Lang.** Differential effects of central angiotensin II and substance P on sympathetic nerve activity in conscious rats. Implications for cardiovascular adaptation to behavioral responses. *Circ. Res.*, 56: 563-75, 1985.
- Wamsley J. K., W. F. Herblin, M. E. Alburger, M. Hunt.** Evidence for the presence of angiotensin II - type I receptors in brain. *Brain. Res. Bull.*, 25: 397-400, 1990.
- Whitlow P. L. & R. E. Katholi.** Neurohumoral mechanisms in acute aortic coarctation in conscious and anesthetized dogs. *Am. J. Physiol.*, 244: H614-H621, 1983.
- Wong J., L. Chou, I. A. Reid.** Role of AT₁ receptors in the resetting of the baroreflex control of heart rate by angiotensin II in the rabbit. *J. Clin. Invest.*, 1516-20, 1993.
- Yagi S., D. M. Kramsch, I. M. Madoff, and W. Hollander.** Plasma renin activity in hypertension associated with coarctation of the aorta. *Am. J. Physiol.*, 215(3): 605-610, 1968.

Yin M., A. F. Sved. Role of γ -aminobutyric acid B receptors in baroreceptors reflexes in hypertensive rats. *Hypertension*, 27:1291-1298, 1996.

APÊNDICE

Tabela I. Valores individuais de pressão de cauda (em mmHg) dos grupos tratados por 4 dias com veículo e losartan antes de CH ou SHAM.

Rato	VEH	Rato	LOS
Rato 38	102	Rato 40	95
Rato 39	114	Rato 41	115
Rato 44	120	Rato 42	95
Rato 45	120	Rato 43	107
Rato 46	115	Rato 56	105
Rato 47	130	Rato 57	105
Rato 49	110	Rato 58	90
Rato 50	115	Rato 59	115
Rato 52	110	Rato 61	105
Rato 54	120	Rato 62	105
Rato 55	130		
Rato 64	115		
Rato 66	100		
Rato 67	135		
Média	117		104
Erro	3		3

Tabela II. Valores individuais de pressão arterial média (PAM, mmHg) de ratos acordados no 4º dia de coarctação (CH) ou cirurgia fictícia (SHAM) nos grupos tratados cronicamente com veículo (VEH) ou losartan (LOS).

	SHAM_{VEH}		CH_{VEH}		SHAM_{LOS}		CH_{LOS}
Rato 38	120	Rato 39	154	Rato 13	110	Rato 16	140
Rato 48	100	Rato 44	142	Rato 18	106	Rato 26	139
Rato 50	117	Rato 45	137	Rato 24	105	Rato 28	139
Rato 54	127	Rato 49	154	Rato 33	102	Rato 42	112
Rato 58	123	Rato 67	166	Rato 59	109	Rato 56	127
Rato 64	114	Rato 72	164	Rato 61	90	Rato 85	126
Rato 66	118	Rato 75	143	Rato 62	111	Rato 91	128
Rato 80	121			Rato 82	95		
Média	118		151		104		130
Erro	3		4		3		4

Tabela III. Valores Individuais de pressão arterial diastólica (PD), sistólica (PS) e média (PAM), e de atividade aferente do nervo depressor aórtico (NDA=mV/ciclo), na situação basal para os diferentes grupos. Nas colunas à direita estão representados os parâmetros das equações de regressão linear para os grupos hipertensos (CH) e normotensos (SHAM) tratados com veículo (VEH) e losartan (LOS) durante o período controle.

	PD (mmHg)	PS (mmHg)	PAM (mmHg)	NDA (mV/ciclo)	Intersecção (mV/ciclo)	Inclinação (mV/ciclo/mmHg)
SHAM_{VEH}						
Rato 50	111	132	121	14	-123,00	1,04
Rato 54	116	141	130	48	-190,00	1,70
Rato 55	118	143	129	46	-136,21	1,27
Rato 64	103	136	120	21	-138,24	1,17
Rato 66	102	132	120	36	-195,75	1,74
Rato 80	112	136	125	52	-178,69	1,70
Média	110	137	127	36	-160,32	1,44
Erro	3	2	17	6	12,82	0,13
CH_{VEH}						
Rato 39	124	166	142	28	146,85	-1,72
Rato 45	121	152	136	38	-112,67	0,99
Rato 49	153	163	157	19	51,88	-0,20
Rato 67	156	188	170	25	14,24	0,06
Rato 72	143	181	159	6	9,43	-0,02
Rato 75	111	162	134	108	31,33	0,47
Média	135	169	150	37	23,51	-0,07
Erro	8	5	6	15	34,10	0,37
SHAM_{Los}						
Rato 18	111	134	126	43	-281,95	2,43
Rato 24	89	122	106	26	-156,78	1,50
Rato 33	90	127	109	69	-79,35	1,16
Rato 59	93	119	107	37	-112,03	1,25
Rato 61	93	132	111	24	-79,40	0,80
Rato 84	86	124	104	53	-525,90	4,65
Média	94	126	111	42	-205,90	1,97
Erro	4	2	3	7	71,03	0,58
CH_{Los}						
Rato 16	101	125	114	23	-5,67	0,23
Rato 26	106	140	123	24	5,08	0,13
Rato 28	111	152	130	39	13,94	0,20
Rato 42	111	136	125	42	-97,49	1,03
Rato 56	111	144	127	46	-115,90	1,12
Rato 91	107	143	127	91	-136,82	1,60
Média	108	140	124	44	-56,14	0,72
Erro	2	4	2	10	27,68	0,25

Tabela IV. Valores individuais absolutos (mV/ciclo) da atividade do NDA na situação basal. Os valores percentuais (%/ciclo) no ponto máximo e o intervalo de ocorrência das classes de atividade espontânea também estão representados para os grupos normotensos (SHAM) e hipertensos (CH) tratados com veículo - VEH ou losartan - LOS.

	NDA (mV/ciclo)	NDA (%/ciclo)	Δ Intervalo
SHAM_{VEH}			
Rato 50	14	90	150
Rato 54	48	100	95
Rato 55	46	100	105
Rato 64	21	100	125
Rato 66	36	100	130
Rato 80	52	95	160
Média	36	98	128
Erro	6	2	10
CH_{VEH}			
Rato 39	28	95	160
Rato 45	36	115	175
Rato 49	19	60	210
Rato 67	25	80	150
Rato 72	6	70	150
Rato 75	108	100	170
Média	37	87	169
Erro	15	8	9
SHAM_{Los}			
Rato 18	43	100	140
Rato 24	26	115	150
Rato 33	69	100	80
Rato 59	37	110	110
Rato 61	24	65	95
Rato 84	53	110	125
Média	42	100	117
Erro	7	7	11
CH_{Los}			
Rato 16	23	90	185
Rato 26	24	100	85
Rato 28	39	100	70
Rato 42	42	100	95
Rato 56	46	100	90
Rato 91	91	100	80
Média	44	98	101
Erro	10	2	17

Tabela V. Valores individuais do limiar sistólico, intervalo de pressão e ganho da descarga aferente normalizada (%) do nervo depressor aórtico durante estimulação do limiar à saturação (curva completa) e na faixa fisiológica de variação (+10 e -10 mmHg), para os grupos normotensos (SHAM) e hipertensos (CH) tratados com veículo (VEH) ou losartan (LOS).

	<u>Curva Completa</u>			<u>Faixa Fisiológica</u>		
	Limiar Sistólico (mmHg)	Intervalo (mmHg)	Ganho (%/ciclo/mmHg)	+10mmHg (%)	-10mmHg (%)	Ganho (%/ciclo/mmHg)
SHAM_{VEH}						
Rato 50	116	54	1,85	47,00	-49,00	4,80
Rato 54	118	52	1,92	43,20	-59,00	5,30
Rato 64	100	76,5	1,35	43,40	-40,80	4,58
Rato 66	103	67	1,78	49,70	-44,60	4,50
Rato 80	106	62	1,23	71,30	-54,00	6,27
Média	109	62	1,63	51	-50	5,1
Erro	4	4	0,14	5	3	0,3
CH_{VEH}						
Rato 39	100	104	0,96	16	-16,00	1,60
Rato 45	119,7	76	1,35	38,4	-40,30	3,00
Rato 67	118,7	102,3	1,06	20,1	-29,40	1,50
Rato 72	131,7	127,7	0,79	20,9	-18,50	2,35
Média	118	103	1,04	24	-26	2,1
Erro	7	11	0,12	5	6	0,4
SHAM_{LOS}						
Rato 18	101	59	1,69	44,6	-42,90	4,38
Rato 24	105	57	1,78	53,9	-48,30	5,11
Rato 33	85	83	1,22	36,7	-40,80	3,88
Rato 59	95	77	1,30	39	-54,80	4,69
Rato 84				76,3	-53,70	6,50
Média	97	69	1,50	50	-48	4,9
Erro	4	6	0,14	7	3	0,4
CH_{LOS}						
Rato 16	85,5	103,5	0,97	48,6	-25,80	4,11
Rato 26	108,5	101,5	0,99	23	-24,30	2,12
Rato 42	118,5	73,5	1,36	41,4	-35,00	3,29
Rato 56	97,3	77,7	1,29	39,9	-40,50	3,94
Rato 91	113,3	97,3	1,04	28,3	-30,80	2,96
Média	104,6	91	1,13	36	-31	3,3
Erro	5,9	6,3	0,08	5	3	0,4

Tabela VI. Valores individuais de pressão arterial média (PAM) acordado e anestesiado (PAM anest), atividade simpática esplâncnica (ASE) basal em valores absolutos (mV/ciclo) e normalizada (%/ciclo), intervalo de variação espontânea (mmHg) e parâmetros da equação de regressão da relação ASE x PAM para os 4 grupos experimentais.

	PAM (mmHg)	PAM anest (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	ASE (%/ciclo)	Interv. PAM (mmHg)	Inclinação (%/ciclo/mmHg)	Intersecção (%/ciclo)
SHAM_{VEH}							
Rato 11	112	122	3	15	18	-1,36	189
Rato 17	103	95	19	35	8	-2,24	249
Rato 34	115	128	13	19	13	-5,64	646
Rato 48	117	134	4	32	11	-5,00	449
Rato 64	107	126	13	29	12	-0,92	145
Rato 65	110	118	12	44	7	-2,54	342
Média	111	121	11	29	11,5	-2,95	337
Erro	2	5	2	4	1,5	0,73	71
CH_{VEH}							
Rato 14	126	126	7	23	15	-2,33	321
Rato 26	125	151	7	21	29	-1,64	278
Rato 39	158	165	7	21	7	-0,86	169
Rato 43	153	149	8	23	9	-1,14	196
Rato 44	199	175	9	27	16	-0,66	149
Rato 49	142	163	15	44	22	-0,10	67
Rato 57	153	160	8	35	17	-1,28	243
Média	151	156	9	28	16,4	-1,14	203
Erro	9	6	1	3	2,8	0,29	35
SHAM_{Los}							
Rato 21	103	113	8	2	14	-2,37	297
Rato 29	92	91	5	26	12	-3,57	184
Rato 32	111	115	19	38	15	-4,93	258
Rato 51	106	107	17	34	16	-2,30	291
Rato 53	103	96	10	26	11	-4,43	111
Rato 77	108	95	9	40	9	-1,32	165
Média	104	103	11	28	12,8	-3,15	218
Erro	2	4	2	5	1,0	0,52	29
CH_{Los}							
Rato 23	128	129	23	29	20	-3,26	425
Rato 28	116	110	8	24	11	-3,12	309
Rato 41	110	123	14	22	25	-1,69	236
Rato 55	156	156	10	35	14	0,01	16
Rato 66	121	120	18	33	19	-2,04	278
Rato 73	130	124	9	27	20	-3,1	412
Rato 75	126	107	7	25	10	1,78	165
Rato 79	114	105	5	21	9	-1,93	224
Rato 80	120	105	6	26	24	-0,01	27
Rato 82	120	113	7	31	16	-3,49	427
Rato 83	169	157	13	51	19	-0,57	142
Rato 85	131	121	19	43	21	-0,25	74
Média	128	123	12	31	17,3	-1,47	228
Erro	5	5	2	3	1,5	0,48	43

Tabela VII. Valores individuais controles e respostas (Δ) de pressão arterial média (PAM) e de atividade simpática esplâncnica (ASE em mV/ciclo) e índices de atividade simpática, obtidos durante infusão/injeção de fenilefrina e nitroprussiato de sódio para ratos normotensos tratados com VEH.

SHAM_{VEH}	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice (%/ciclo/mmHg)
Rato 11-1	128	2	40	-1	-0,03
Rato 11-2	125	2	31	-1	-0,03
Rato 17-1	87	16	45	-14	-0,31
Rato 34-1	133	14	14	-13	-0,93
Rato 45-1	98	6	16	-4	-0,25
Rato 45-2	100	8	14	-5	-0,36
Rato 48-1	129	11	31	-11	-0,35
Rato 48-2	131	12	24	-10	-0,42
Rato 64-1	120	12	59	-12	-0,20
Rato 64-2	111	8	27	-8	-0,30
Rato 65-1	114	12	19	-11	-0,58
Rato 65-2	114	9	29	-9	-0,31
Rato 65-3	114	7	11	-7	-0,64
Rato 65-4	117	6	24	-6	-0,25
Média	116	8,9	27	-8,0	-0,35
Erro	4	1,1	4	1,1	0,06

SHAM_{VEH}	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice (%/ciclo/mmHg)
Rato 11-1	124	2	-30	10	-0,33
Rato 11-2	126	1	-15	11	-0,73
Rato 17-1	87	17	-34	42	-1,24
Rato 45-1	98	10	-21	34	-1,62
Rato 45-2	108	11	-33	26	-0,79
Rato 48-1	134	8	-17	18	-1,06
Rato 64-1	113	11	-20	58	-2,90
Rato 64-2	110	12	-28	46	-1,64
Rato 65-1	111	10	-29	48	-1,66
Rato 65-2	116	12	-23	23	-1,00
Rato 65-3	116	7	-10	20	-2,00
Rato 65-4	114	9	-11	25	-2,27
Média	113	9,2	-23	30,08	-1,44
Erro	4	1,5	2	5,03	0,23

Tabela VIII. Valores individuais controles e respostas (Δ) de pressão arterial média (PAM) e de atividade simpática esplâncnica (ASE em mV/ciclo) e índices de atividade simpática, obtidos durante infusão/injeção de fenilefrina e nitroprussiato de sódio para ratos hipertensos tratados com VEH.

CH_{VEH}	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice (%/ciclo/mmHg)
Rato 14-1	123	12	26	-9	-0,35
Rato 14-2	124	11	42	-6	-0,14
Rato 14-3	110	19	54	-18	-0,33
Rato 26-1	152	7	25	-5	-0,20
Rato 26-2	144	9	22	-7	-0,32
Rato 39-1	155	8	7	-6	-0,86
Rato 43-1	133	7	4	-5	-1,25
Rato 43-2	134	5	7	-3	-0,43
Rato 49-1	168	11	2	-7	-3,50
Rato 49-2	171	11	13	-9	-0,69
Rato 57-1	155	9	17	-5	-0,29
Média	143	9,9	20	-7,3	-0,76
Erro	6	1,1	5	1,2	0,29

CH_{VEH}	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice (%/ciclo/mmHg)
Rato 14-1	126	7	-54	79	-1,46
Rato 26-1	157	8	-21	32	-1,52
Rato 26--2	153	7	-24	53	-2,21
Rato 39-1	150	6	-18	66	-3,67
Rato 43-1	166	5	-13	20	-1,54
Rato 49-1	166	11	-7	22	-3,14
Rato 49-2	170	11	-10	21	-2,10
Rato 57-1	156	9	-12	27	-2,25
Rato 57-2	154	9	-14	28	-2,00
Rato 57-3	157	10	-24	40	-1,67
Média	156	8,3	-20	38,8	-2,16
Erro	4	0,7	4	6,5	0,23

Tabela IX. Valores individuais controles e respostas (Δ) de pressão arterial média (PAM) e de atividade simpática esplâncnica (ASE em mV/ciclo) e índices de atividade simpática, obtidos durante infusão/injeção de fenilefrina e nitroprussiato de sódio para ratos normotensos tratados com LOS.

SHAM_{LOS}	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice (%/ciclo/mmHg)
Rato 21-1	109	5	18	-5	-0,28
Rato 21-2	109	3	27	-3	-0,11
Rato 29-1	96	6	23	-6	-0,26
Rato 29-2	96	5	32	-5	-0,16
Rato 32-1	109	18	16	-15	-0,94
Rato 32-2	108	19	21	-15	-0,71
Rato 32-3	109	20	33	-17	-0,52
Rato 51-1	106	15	23	-13	-0,57
Rato 51-2	99	16	15	-13	-0,87
Rato 51-3	101	14	26	-11	-0,42
Rato 53-1	89	9	11	-5	-0,45
Rato 53-2	85	7	17	-4	-0,24
Rato 53-3	84	7	21	-5	-0,24
Rato 77-1	95	8	28	-8	-0,29
Rato 77-2	92	9	26	-9	-0,35
Média	99	10,7	22,5	-8,9	-0,43
Erro	2	1,5	1,6	1,2	0,07

SHAM_{LOS}	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice (%/ciclo/mmHg)
Rato 21-1	105	4	-28	15	-0,54
Rato 21-2	106	4	-25	14	-0,56
Rato 21-3	106	4	-54	15	-0,28
Rato 29-1	100	7	-17	21	-1,24
Rato 29-2	103	7	-31	23	-0,74
Rato 29-3	103	7	-14	19	-1,36
Rato 32-1	108	20	-6	29	-4,83
Rato 51-1	103	18	-16	37	-2,31
Rato 51-2	103	18	-16	43	-2,69
Rato 53-1	90	8	-23	33	-1,43
Rato 77-1	95	9	-12	30	-2,50
Rato 77-2	92	9	-19	26	-1,37
Média	101	9,6	-22	25,4	-1,65
Erro	2	1,7	4	2,8	0,39

Tabela X. Valores individuais controles e respostas (Δ) de pressão arterial média (PAM) e de atividade simpática esplâncnica (ASE em mV/ciclo) e índices de atividade simpática, obtidos durante infusão/injeção de fenilefrina e nitroprussiato de sódio para ratos hipertensos tratados com LOS.

CH _{Los}	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice (%/ciclo/mmHg)
Rato 23-1	133	20	24	-12	-0,50
Rato 28-1	112	7	18	-5	-0,28
Rato 41-1	127	11	13	-9	-0,69
Rato 41-2	123	11	34	-5	-0,15
Rato 41-3	118	7	20	-5	-0,25
Rato 55-1	151	7	16	-5	-0,31
Rato 55-2	148	9	16	-2	-0,13
Rato 55-2	155	10	34	-5	-0,15
Rato 66-1	121	5	22	-5	-0,23
Rato 66-2	116	8	12	-4	-0,33
Rato 75-1	108	6	25	-5	-0,20
Rato 75-2	110	8	16	-7	-0,44
Rato 75-3	113	7	26	-6	-0,23
Rato 79-1	107	6	19	-6	-0,32
Rato 79-2	108	5	13	-5	-0,38
Rato 80-1	103	6	26	-6	-0,23
Rato 80-2	101	7	20	-5	-0,25
Rato 82-1	114	6	41	-6	-0,15
Rato 82-2	106	6	24	-6	-0,25
Rato 83-1	163	16	30	-14	-0,47
Rato 83-2	166	16	43	-14	-0,33
Rato 83-3	164	21	38	-16	-0,42
Rato 83-4	161	26	40	-25	-0,63
Rato 85-1	128	27	54	-27	-0,50
Rato 85-2	135	18	30	-18	-0,60
Rato 85-3	130	26	23	-26	-1,13
Média	128	11,6	26	-9,6	-0,37
Erro	4	1,4	2	1,4	0,04

CH _{Los}	PAM (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	Δ PAM (mmHg)	Δ ASE (mV/ciclo)	Índice (%/ciclo/mmHg)
Rato 23-1	131	21	-15	85	-5,67
Rato 23-2	132	22	-25	80	-3,20
Rato 28-1	112	5	-8	28	-3,50
Rato 28-2	113	4	-13	23	-1,77
Rato 41-1	123	14	-12	88	-7,33
Rato 41-2	119	7	-17	56	-3,29
Rato 41-3	117	8	-22	59	-2,68
Rato 55-1	151	7	-20	29	-1,45
Rato 55-2	150	8	-15	21	-1,40
Rato 66-1	119	13	-6	23	-3,83
Rato 66-2	117	8	-32	33	-1,03
Rato 75-1	144	1	-11	8	-0,73
Rato 75-2	143	1	-28	5	-0,18
Rato 75-3	110	3	-12	10	-0,83
Rato 79-1	110	3	-10	26	-2,60
Rato 79-2	109	3	-9	13	-1,44
Rato 80-1	110	2	-24	16	-0,67
Rato 80-2	105	6	-12	33	-2,75
Rato 82-1	99	8	-22	33	-1,50
Rato 82-2	110	6	-43	30	-0,70
Rato 83-1	113	7	-28	30	-1,07
Rato 83-2	107	6	-22	27	-1,23
Rato 83-3	156	18	-30	32	-1,07
Rato 83-4	159	18	-61	34	-0,56
Rato 85-1	157	20	-56	37	-0,66
Rato 85-2	129	29	-11	46	-4,18
Rato 85-3	129	27	-26	28	-1,08
Rato 85-4	129	20	-34	42	-1,24
Média	125	10,5	-22	34,8	-2,06
Erro	3	1,5	3	4,1	0,32

Tabela XI. Valores individuais de pressão arterial média (PAM) acordado, anestesiado (PAM anest), atividade simpática esplâncnica (ASE) em valores absolutos (mV/ciclo) e normalizados (%/ciclo), e intervalo de variação espontânea e parâmetros da equação de regressão linear (ASE x PAM) para os CH_{VEH} reagrupados de acordo com o nível de hipertensão atingido.

CHVEH (baixa)	PAM (mmHg)	PAManest (mmHg)	ASE (mV/ciclo)	ASE (%/ciclo)	Intervalo (mmHg)	Inclinação	Intersecção
Rato 14	126	126	7	23	15	-2,33	321
Rato 26	125	151	7	21	29	-1,64	278
Rato 86	127						
Rato 87	130	150	13	28	25	-2,09	342
Rato 88	127	115	13	27	21	-2,28	288
Rato 91	130	119	14	33	22	-0,96	148
Média	128	132	11	26	22	-1,86	275
Erro	1	8	2	2	2	0,26	34

CHVEH (alta)	PAM (mmHg)	PAManest (mmHg)	ASE (mV)	ASE (%)	Intervalo (mmHg)	Inclinação	Intersecção
Rato 39	158	165	7	21	7	-0,86	169
Rato 43	153	149	8	23	9	-1,14	196
Rato 44	199	175	9	27	16	-0,66	149
Rato 49	142	163	15	44	22	-0,10	67
Rato 57	153	160	8	35	17	-1,28	243
Rato 89	148	138	10	20	27	-2,27	57
Rato 90	146	136	8	22	23	-2,72	392
Média	157	155	9	27	17	-1,29	182
Erro	7	6	1	3	3	0,35	43

Tabela XII. Parâmetros individuais do ajuste sigmoidal sobre as variações de ASE induzidas por variações instantâneas da PAM nos grupos normotensos (SHAM) e hipertensos (CH) tratados com VEH ou LOS.

SHAM_{VEH}	PAM (mmHg)	ASE (%/ciclo)	Platô inf. (%/ciclo)	Platô sup. (%/ciclo)	Intervalo (%/ciclo)	PAM₅₀ (mmHg)	Ganho (%/ciclo/mmHg)
Rato 11-1	125	100	9	335	326	118	-7,83
Rato 17-1	87	100	12	172	161	86	-4,18
Rato 34-1	130	100	2	234	232	127	-6,23
Rato 45-1	101	100	20	169	148	99	-7,54
Rato 64-1	113	100	47	184	137	108	-6,15
Rato 64-2	111	100	-18	178	197	112	-3,62
Rato 65-1	115	100	43	211	168	110	-5,10
Média	112	100	16	212	195	109	-5,81
Erro	5	0	9	22	25	5	0,60

CH_{VEH} (alta)	PAM (mmHg)	ASE (%/ciclo)	Platô inf. (%/ciclo)	Platô sup. (%/ciclo)	Intervalo (%/ciclo)	PAM₅₀ (mmHg)	Ganho (%/ciclo/mmHg)
Rato 26-1	151	100	43	211	168	110	-5,10
Rato 39-1	152	100	45	181	136	152	-13,60
Rato 39-2	155	100	64	165	101	148	-8,39
Rato 43-1	162	100	4	156	152	160	-12,68
Rato 49-1	170	100	50	140	90	171	-6,75
Rato 57-1	156	100	69	147	79	152	-5,59
Rato 87-1	153	100	50	184	134	150	-4,45
Rato 89-1	146	100	38	375	337	135	-11,34
Rato 89-2	150	100	48	402	354	136	-16,07
Rato 90-1	131	100	37	312	275	126	-10,98
Média	153	100	45	227	182	144	-9,49
Erro	3	0	6	31	32	6	1,27

CH_{VEH} (baixa)	PAM (mmHg)	ASE (%/ciclo)	Platô inf. (%/ciclo)	Platô sup. (%/ciclo)	Intervalo (%/ciclo)	PAM₅₀ (mmHg)	Ganho (%/ciclo/mmHg)
Rato 14-1	120	100	11	196	185	120	-5,39
Rato 14-2	123	100	29	204	175	122	-7,03
Rato 88-1	113	100	50	178	128	113	-17,79
Rato 88-2	114	100	65	202	137	114	-15,97
Rato 90-1	132	100	36	293	258	124	-8,58
Rato 91-1	128	100	83	178	95	124	-14,63
Rato 91-2	132	100	50	280	230	125	-11,79
Média	123	100	46	219	172	120	-11,60
Erro	3	0	9	18	22	2	1,79

SHAM_{Los}	PAM (mmHg)	ASE (%/ciclo)	Platô inf. (%/ciclo)	Platô sup. (%/ciclo)	Intervalo (%/ciclo)	PAM₅₀ (mmHg)	Ganho (%/ciclo/mmHg)
Rato 21-1	106	100	9	154	145	110	-4,57
Rato 21-2	105	100	12	221	209	103	-7,83
Rato 29-1	99	100	-7	238	245	94	-5,06
Rato 32-1	112	100	11	168	157	114	-4,44
Rato 51-1	102	100	28	153	125	101	-6,08
Rato 53-1	87	100	27	202	175	81	-3,31
Rato 77-1	94	100	29	186	157	93	-6,84
Rato 77-2	91	100	43	179	136	91	-7,45
Rato 77-3	95	100	21	184	163	95	-7,35
Média	99	100	19	187	168	98	-5,88
Erro	3	0	5	10	13	3	0,53

CH_{Los}	PAM (mmHg)	ASE (%/ciclo)	Platô inf. (%/ciclo)	Platô sup. (%/ciclo)	Intervalo (%/ciclo)	PAM₅₀ (mmHg)	Ganho (%/ciclo/mmHg)
Rato 23-1	132	100	52	134	82	136	-4,77
Rato 28-1	113	100	27	200	173	111	-8,67
Rato 41-1	117	100	63	329	266	107	-7,93
Rato 55-1	152	100	61	167	105	149	-5,57
Rato 75-1	110	100	42	188	147	106	-8,63
Rato 75-2	111	100	43	309	266	103	-10,75
Rato 79-1	106	100	2	232	230	104	-7,33
Rato 79-2	104	100	9	213	204	109	-7,14
Rato 80-1	102	100	63	203	141	102	-10,34
Rato 80-2	107	100	9	205	197	103	-5,95
Rato 82-1	115	100	2	249	248	107	-4,28
Rato 82-2	105	100	21	265	243	101	-7,43
Rato 83-1	161	100	27	140	112	175	-1,92
Rato 83-2	161	100	36	155	119	171	-2,54
Rato 85-1	130	100	49	118	69	133	-5,50
Rato 85-2	129	100	62	135	73	129	-6,53
Média	122	100	36	203	167	122	-6,58
Erro	5	0	6	16	18	6	0,62

Tabela IV. Valores médios de pressão arterial média (PAM), atividade simpática esplâncnica (ASE) absoluta (mV) e normalizada (%), intervalo de variação espontânea (mmHg) e parâmetros da equação de regressão linear nos 4 grupos experimentais.

GRUPO	PAM	ASE	ASE	Intervalo de PAM	Equação de Regressão	
	(mmHg)	(mV/ciclo)	(%/ciclo)		Inclinação	Intersecção
					(%/ciclo/mmHg)	(%/ciclo)
SHAM _{VEH} (n=6)	121±5	11±2	29±4	12±2	-2,95±0,73	337±71
CH _{VEH} (n=7)	156±6 *	9±1	28±3	16±3	-1,14±0,29	218±29
SHAM _{LOS} (n=6)	103±4 ⁺	11±2	28±5	13±1	-3,15±0,52	203±35
CH _{LOS} (n=13)	124±5 * ⁺	11±2	30±2	17±2	-1,47±0,48	228±43

n refere-se ao número de ratos em cada grupo. Significâncias (p<0.05) * vs SHAM; ⁺ vs VEH

Tabela VII. Parâmetros do ajuste sigmoidal sobre as variações de ASE induzida por variações instantâneas da PAM dos grupos normotensos (SHAM) e hipertensos (CH) tratados com VEH ou LOS.

	SHAM _{VEH}	CH _{VEH}		SHAM _{LOS}	CH _{LOS}
		PAM alta	PAM baixa		
PAM (mmHg)	112±5	153±3*	123±3* ^Δ	99±3 ⁺	122±5* ^Δ
ASE (%/ciclo)	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0
Platô inferior (%/ciclo)	16±9	45±6*	46±9*	19±5	36±6
Platô superior (%/ciclo)	212±22	227±31	219±18	187±10	203±16
Intervalo (%/ciclo)	195±25	182±32	172±22	168±13	167±18
PAM ₅₀ (mmHg)	109±5	144±6*	120±2*	98±3	122±6* ^Δ
Ganho (%/ciclo/mmHg)	-5,81±0,60	-9,49±1,27*	-11,60±1,79*	-5,88±0,53	-6,58±0,62 ⁺

Valores são médias ±EPM e correspondem a várias infusões/injeções realizadas em 6 SHAM_{VEH}, 13 CH_{VEH} (7 com PAM elevada e 6 com PAM baixa), 6 SHAM_{LOS} e 12 CH_{LOS}. PAM₅₀= PAM correspondente à 50% da faixa de alteração da ASE. Os parâmetros do ajuste sigmoidal do grupo CH_{VEH} (n=13) são: PAM = 141±4, ASE = 100±0 %/ciclo, platô inferior = 45±5 %/ciclo; platô superior = 224±19 %/ciclo; intervalo = 178±20 %/ciclo, PAM₅₀ = 134±4 mmHg; ganho = -10.36±1.05 %/ciclo/mmHg. Significância (p<0.05) * vs SHAM; + vs VEH; Δ vs. PAM alta.

Tabela VII. Parâmetros do ajuste sigmoidal sobre as variações de ASE induzida por variações instantâneas da PAM dos grupos normotensos (SHAM) e hipertensos (CH) tratados com VEH ou LOS.

	SHAM_{VEH}	CH_{VEH}		SHAM_{LOS}	CH_{LOS}
		PAM alta	PAM baixa		
PAM (mmHg)	112±5	153±3*	123±3* ^Δ	99±3 ⁺	122±5* ^Δ
ASE (%/ciclo)	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0
Platô inferior (%/ciclo)	16±9	45±6*	46±9*	19±5	36±6
Platô superior (%/ciclo)	212±22	227±31	219±18	187±10	203±16
Intervalo (%/ciclo)	195±25	182±32	172±22	168±13	167±18
PAM ₅₀ (mmHg)	109±5	144±6*	120±2*	98±3	122±6* ^Δ
Ganho (%/ciclo/mmHg)	-5,81±0,60	-9,49±1,27*	-11,60±1,79*	-5,88±0,53	-6,58±0,62 ⁺

Valores são médias ±EPM e correspondem a várias infusões/injeções realizadas em 6 SHAM_{VEH}, 13 CH_{VEH} (7 com PAM elevada e 6 com PAM baixa), 6 SHAM_{LOS} e 12 CH_{LOS}. PAM₅₀= PAM correspondente à 50% da faixa de alteração da ASE. Os parâmetros do ajuste sigmoidal do grupo CH_{VEH} (n=13) são: PAM = 141±4, ASE = 100±0 %/ciclo, platô inferior = 45±5 %/ciclo; platô superior = 224±19 %/ciclo; intervalo = 178±20 %/ciclo, PAM₅₀ = 134±4 mmHg; ganho = -10.36±1.05 %/ciclo/mmHg. Significância (p<0.05) * vs SHAM; + vs VEH; Δ vs. PAM alta.