UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Conseqüências dos tratamentos realizados com celecoxibe,
 α -tocoferol ou losartan sobre a reatividade em carótidas de ratos
submetidos à lesão com cateter balão**

Bruno Nunes do Vale

Ribeirão Preto
2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Conseqüências dos tratamentos realizados com celecoxibe,
 α -tocoferol ou losartan sobre a reatividade em carótidas de ratos
submetidos à lesão com cateter balão**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Ciências Farmacêuticas para a obtenção do Título de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos

Orientado: Bruno Nunes do Vale

Orientadora: Dra. Ana Maria de Oliveira

Ribeirão Preto

2009

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

Vale, Bruno Nunes

Consequências do tratamento realizados com Celecoxibe, α -Tocoferol e Losartan sobre a reatividade em carótidas de ratos submetidos à lesão com cateter balão, 2009.

146 p. : il ; 30 cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientadora: De Oliveira, Ana Maria.

1. Farmacologia Cardiovascular. 2. Lesão vascular.
3. Hiper-reatividade vascular. 4. Tratamento.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Bruno Nunes do Vale

Consequências dos tratamentos realizados com Celecoxibe, α -Tocoferol e Losartan sobre a reatividade em carótidas de ratos submetidos à lesão com cateter balão

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos

Orientadora: Dra. Ana Maria de Oliveira

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este humilde trabalho primeiramente a Deus, que sempre me deu forças e ouviu minhas súplicas.

A minha mãe Maria Lúcia e ao meu pai José Nunes, pelo amor, apoio, incentivo, confiança, dedicação e compreensão nos momentos difíceis passados durante este desafio de vida, que eu escolhi.

Aos meus irmãos Mozer e Ananda principalmente pelo amor e confiança que sempre depositaram em mim.

Aos meus amados sobrinhos Giovana e Alan e as minhas queridas afilhadas Débora e Kamille Vitória por terem servido como fonte de inspiração para que eu nunca desistisse e sempre continuasse.

Aos meus cunhados Neny e Xand pela confiança e apoio.

Aos meus avós Alcides, Dália e Maria de Lourdes, pelos ensinamentos, apoio, incentivo e amor.

A minha namorada Nicyelle Cristina pelo apoio, compreensão e paciência.

Aos meus tios Gilson, Creginaldo, Reinaldo e Maria da Aparecida, pelo apoio que sempre me deram.

Aos meus amigos de hoje e sempre Zé Geraldo, Rogério Carlos, Eliziano, Mateus, Marcelo, Lane, Lívia, Odete pela amizade, confiança e apoio.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

À Prof^a Dra. Ana Maria de Oliveira pela confiança, paciência, amizade, apoio e carinho que me orientou e pelos ensinamentos pessoais que levarei por toda vida. Muitíssimo obrigado.

A toda minha família, namorada, por tudo.

Ao Professor Doutor Marco Aurélio S. Lavrador pela atenção e ajuda oferecida na análise estatística deste estudo, ao carinho e amizade.

Ao Professor Doutor Wander Cairo Albernaz, por ter me apoiado e incentivado em fazer pós-graduação na USP de Ribeirão Preto.

A todas integrantes do meu grupo de pesquisa, Vânia, Larissa, Aline, Rafaela, Lílian, Fernanda e Tamy, sem a ajuda delas este trabalho não teria chegado ao fim e pelas discussões científicas e pessoais que muito contribuíram para a minha formação.

À Prof^a Dra. Leandra Ramalho e a técnica Auristela (Lili) pela colaboração com a preparação e análise do material histológico.

As docentes da disciplina de farmacologia da FCFRP-USP: Prof^a Dra. Lusiane Bendhack e Prof^a Dra. Sâmia Joca, pelo agradável convívio no laboratório.

À Marlene Rodrigues da Silva, secretária da disciplina de farmacologia da FCFRP-USP, por sua amizade, carinho, dedicação, atenção, incentivo e apoio.

A todos os funcionários do laboratório de farmacologia da FCFRP-USP: a Miriam, Nina, Juliana, Mayara e Flávia, pelo apoio técnico de inestimável valor, incentivo, atenção, ajuda e apoio.

Ao Reinaldo, funcionário do Biotério da FCFRP pela amizade, ajuda, compreensão e paciência. A senhora Terezinha, por tudo. Ao Rinaldo e Cristina funcionários do Biotério Central, pela atenção e cordialidade.

A Miriam funcionária da Biblioteca Central e demais funcionários, pela atenção com que sempre me atenderam durante o período de mestrado.

A Mayara pelo suporte técnico, pela amizade, carinho e agradável convivência que muito contribuíram para a conclusão deste estudo.

Aos amigos Gérson, David, Renes, Dênis, Kana, Andrea Pessine, Daniella Bonaventura, Mário, Mateus pela amizade, discussões científicas e apoio.

A todos os amigos do laboratório de Farmacologia da FCFRP-USP (Alice, Bruno, Fernanda, Claire, Laena, Michele, José Wilson, Vinicius, Évelin, Michele, Zezé, Livia, Carol, Fernando, Luciana (Lú) Juliano, Valquíria, Veridiana), pela amizade, discussões científicas e pelo convívio muito agradável.

A minha amiga Carolina da Assistência Farmacêutica, pela amizade, carinho, atenção e orações.

Ao Professores Doutores, Leonardo Régis da Assistência Farmacêutica (FCFRP) e Veriano da FMRP, pela atenção, ajuda e amizade.

A CAPES, pelo suporte financeiro desta pesquisa.

A todo pessoal que faz a vigilância da FCFRP-USP (Senhor Antônio, Clóvis e Oswaldo), pelo carinho, amizade e o cafezinho. A todo pessoal responsável pela limpeza dos laboratórios da FCFRP-USP.

A Senhora Aparecida (Dona Cida) pelos conselhos, amizade, ensinamentos, cuidado e carinho com que me tratava e a meus objetos pessoais.

A todos os amigos da república K-ZONA (Daniel, Renes, Ulisses, Lucinei, Roberto (Beto), Fernanda, Sidney, Lenara, João Paulo, Roberto (Baiano), Diogo, David, Valdeci) pela amizade, incentivo, alegria e fácil convivência durante o período de mestrado.

A Yamba pelo carinho e amizade desde que cheguei a Ribeirão Preto.

Ao meu amigo Alisson Martins de Oliveira pelo apoio, amizade, discussões científicas, incentivo, dedicação, confiança e por todo carinho que sempre me tratou desde os tempos de faculdade.

Aos meus amigos Zé Geraldo, Mateus e Marcelo, Lane, Lívia e Odete pela amizade, carinho, conselhos, incentivo, atenção e confiança destinados a mim desde os tempos de faculdade.

EPÍGRAFES

Feliz aquele que transfere o que sabe, e aprende o que ensina.

Cora Coralina (Poetiza goiana)

...em tudo somos atribulados, mas não angustiados; perplexos, mas não desanimados. Perseguidos, mas não desamparados; abatidos, mas não destruídos...

2 Coríntios 4. 8,9

Devagar se vai ao longe.

(Dale Carnegie).

RESUMO

Vale, B. N. **Conseqüências dos tratamentos realizados com celecoxibe, α -tocoferol ou losartan sobre a reatividade em carótidas de ratos submetidos à lesão com cateter balão.** 2009. 142f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

A lesão por balão cateterismo é um procedimento comumente utilizado para o estudo dos mecanismos de restenose. O estresse mecânico produzido pela passagem do balão promove alterações tanto na artéria lesada quanto na artéria contra-lateral. Observou-se um aumento da densidade de neurônios que contêm neuropeptídeos como a Substância P (SP) e o Peptídeo Relacionado com o Gene da Calcitonina (CGRP) na artéria contra-lateral à lesão, o que evidencia a ocorrência de um processo neurocompensatório. Observou-se ainda um aumento da reatividade desta artéria à fenilefrina (Phe) e à angiotensina II (Ang II) após 4 e 15 dias da lesão, respectivamente. O objetivo do presente trabalho foi estudar as conseqüências dos tratamentos com celecoxibe (inibidor seletivo da enzima COX-2), α -tocoferol (Vitamina E, antioxidante natural) e losartan (antagonista dos receptores AT₁), sobre a reatividade à Phe, Cloreto de Potássio (KCl), Acetilcolina (ACh), Ang II de artérias ipsilaterais e contra-laterais em relação a artérias controles. Em animais tratados com celecoxibe (10 mg/Kg - 2 vezes ao dia) ou α -tocoferol (400 mg/Kg/dia) por 7 dias. Os resultados mostram que os dois tratamentos normalizam os valores de efeito máximo (Emax) da Phe nas artérias contra-laterais com endotélio aos níveis de artérias controle. Em animais tratados com celecoxibe, a artéria ipsilateral não respondeu à Phe, enquanto no tratamento com α -tocoferol mostrou valores de Emax reduzidos em relação a animais controle. Os valores de Emax da ACh em artérias de animais controle e tratados com celecoxibe ou α -tocoferol, são idênticos. Entretanto, ambos os tratamentos promoveram redução na potência da ACh em artérias controle quando comparadas com as de animais não tratados. A potência da ACh na artéria contra-lateral foi semelhante ao controle em todos os tratamentos. O Emax da Ang II estava aumentado na artéria contra-lateral à lesão. O tratamento com losartan (15 mg/Kg/dia) por 18 dias promoveu redução neste parâmetro na artéria contra-lateral aos níveis do controle. A potência da Ang II em artérias contra-laterais de animais tratados com losartan é igual ao da artéria de animais controle. Nos animais controles tratados com losartan a potência desse peptídeo foi menor do que controle e contra-lateral sem tratamento e contra-lateral tratada. Na artéria contra-lateral o Emax do KCL estava diminuído em relação ao controle e o tratamento com losartan não modificou este parâmetro. O Emax da ACh em artérias controle e contra-laterais não foi alterado pelo tratamento com losartan, entretanto houve aumento da potência deste agonista em artérias controles e contra-laterais em relação a artérias de animais controles. Os resultados obtidos no presente estudo indicam que a produção de espécies reativas de oxigênio, prostanoídes vasoconstritores e Ang II levam a alterações na reatividade aos agonistas estudados na artéria contra-lateral à lesão por cateter balão.

Palavras-chave: cateter balão, carótida, reatividade vascular, angiotensina II, fenilefrina, celecoxibe, α -tocoferol, losartan.

ABSTRACT

VALE, B. N. Consequences of the treatments performed with celecoxib, α -tocopherol or losartan on the carotid of reactivity in rats subjected to injury with balloon catheter. 2009.

The injury by balloon catheter is a procedure commonly used to study the mechanisms of restenosis. The mechanical stress produced by the passage of the balloon promotes changes both in the injured artery in the contralateral artery. There was an increased density of neurons containing neuropeptides such as substance P (SP) and the Gene Related Peptide of Calcitonin (CGRP) in the contralateral artery to the lesion, which shows the occurrence of a process neurocompensatory. There was also an increase in the artery reactivity to phenylephrine (Phe) and angiotensin II (Ang II) after 4 and 15 days of injury, respectively. There was also an increase in the artery reactivity to Phe and Ang II after 4 and 15 days of injury, respectively. The objective of this work was to study the consequences of treatment with celecoxib (selective inhibitor of COX-2), α -tocopherol (vitamin E, natural antioxidant) and losartan (AT₁ receptor antagonist) on the reactivity to Phe, chloride Potassium (KCl), acetylcholine (ACh), Ang II in arteries ipsilateral and contralateral side for control arteries. In animals treated with celecoxib (10 mg / kg - 2 times daily) or α -tocopherol (400 mg / kg / day) for 7 days. The results show that both treatments normalize the values of maximum effect (Emax) of Phe in the contralateral arteries with endothelium to the levels of control arteries. In animals treated with celecoxib, the ipsilateral artery did not respond to Phe, whereas the treatment with α -tocopherol showed reduced values of Emax for the control animals. The values of Emax of ACh in arteries from control animals and treated with celecoxib or α -tocopherol, are identical. However, both treatments promoted reduction in the potency of ACh in control arteries when compared with untreated animals. The potency of ACh in the contralateral artery was similar to control in all treatments. The Emax of Ang II was increased in the contra-lateral artery to the lesion. Treatment with losartan (15 mg / kg / day) for 18 days promoted reduction in this parameter in the contra-lateral artery levels of control. The potency of Ang II in contralateral arteries of animals treated with losartan is equal to the artery of control animals. In control animals treated with losartan the potency of this peptide was lower than control and contra-lateral untreated and control-treated side. Contralateral artery in the Emax of KCL was decreased in the control and treatment with losartan did not modify this parameter. The Emax of ACh in control arteries and contralateral side was not changed by treatment with losartan, however increased the power of this agonist in control arteries and contralateral side on arteries of control animals. The results of this study indicate that the production of reactive oxygen species and vasoconstrictors prostanoids Ang II lead to changes in reactivity to agonists studied in the contra-lateral to the artery by balloon catheter injury.

Palavras-chave: balloon catheter, carotid, vascular reactivity, angiotensin II, phenylephrine, celecoxib, α -tocopherol, losartan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 4 dias após lesão por cateter balão.....	24
Figura 2: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante 7 dias.....	25
Figura 3: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante sete dias.....	26
Figura 4: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina durante sete dias.....	28
Figura 5: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina durante sete dias.....	29
Figura 6: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina durante sete dias.....	31
Figura 7: Efeito máximo de relaxamento (Emax) da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante sete dias.....	32
Figura 8: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 4 dias após lesão por cateter	

balão e tratados com celecoxibe.....	33

Figura 9: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou celecoxibe (B) durante sete dias.....	35

Figura 10: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe durante sete dias.....	37

Figura 11: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina (A) ou celecoxibe (B) durante sete dias.....	38

Figura 12: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe durante sete dias.....	41

Figura 13: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina (A) ou celecoxibe (B) durante sete dias.....	42

Figura 14: Efeito máximo de relaxamento (Emax) da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe durante sete dias.....	44

Figura 15: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles na presença de endotélio, tratados com salina e óleo de milho, durante sete dias.....	45

Figura 16: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles na presença de endotélio, tratados com salina e óleo de milho durante sete dias.....	46

Figura 17: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 4 dias após lesão por cateter balão e tratados com α -tocoferol.....	47
Figura 18: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou α -tocoferol (B) durante sete dias.....	48
Figura 19: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol durante sete dias.....	51
Figura 20: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas isoladas de controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou α -tocoferol (B) durante sete dias.....	52
Figura 21: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol durante sete dias, na presença e ausência de endotélio.....	54
Figura 22: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina (A) ou α -tocoferol (B) durante sete dias.....	55
Figura 23: Efeito máximo de relaxamento (Emax) da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol durante sete dias.....	57
Figura 24: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 15 dias após cateter balão.....	58
Figura 25: Efeito contrátil da Ang II em artérias carótidas isoladas de animais	

controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante 18 dias.....	59
Figura 26: Efeito contrátil máximo (Emax) da Ang II (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com Salina durante dezoito dias.....	60
Figura 27: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante 18 dias.....	62
Figura 29: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina durante dezoito dias.....	65
Figura 30: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina durante dezoito dias.....	66
Figura 31: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina durante dezoito dias.....	68
Figura 32: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina durante sete dias.....	69
Figura 33: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 15 dias após lesão por cateter balão e tratados com losartan.....	70
.	
Figura 34: Efeito contrátil da Ang II em artérias carótidas isoladas de animais controles e à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou losartan (B)	

durante dezoito dias.....	71
Figura 35: Efeito contrátil máximo (Emax) da Ang II (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan durante dezoito dias.....	74
Figura 36: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou losartan (B) durante dezoito dias.....	75
Figura 37: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina losartan durante dezoito dias.....	78
Figura 38: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina (A) ou losartan (B) durante dezoito dias.....	79
Figura 39: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina ou losartan durante dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.....	82
Figura 40: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina (A) ou losartan (B) durante dezoito dias.....	83
Figura 41: Efeito máximo de relaxamento (Emax) da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan durante dezoito dias.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de Efeito máximo (Emáx) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias, na presença e ausência de endotélio.....	26
Tabela 2: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias; na presença e na ausência de endotélio.....	27
Tabela 3: Valores de Efeito máximo (Emáx) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias, na presença e ausência de endotélio.....	29
Tabela 4: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para o KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias; na presença e na ausência de endotélio.....	30
Tabela 5: Valores de Emax e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da ACh em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais submetidos à lesão por balão cateterismo, tratados com salina	32
Tabela 6: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emáx) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe por sete dias, na presença e ausência de endotélio.....	35

Tabela 7: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe por sete dias; na presença e na ausência de endotélio..... 36

Tabela 8: Comparação entre Valores de Efeito máximo ($Emax$) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe por sete dias, na presença e ausência de endotélio..... 39

Tabela 9: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para o KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com Salina ou Celecoxibe por sete dias; na presença e ausência de endotélio..... 40

Tabela 10: Valores de $Emax$ e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da ACh em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais submetidos à lesão por balão cateterismo, Tratados com salina ou celecoxibe..... 43

Tabela 11: Valores de $Emax$ e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da Phe em artérias carótidas de animais controle na presença de endotélio, tratados com salina e óleo de milho durante sete dias..... 46

Tabela 12: Comparação entre Valores de Efeito máximo ($Emax$) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol por sete dias, na presença e ausência de endotélio..... 49

Tabela 13: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol por sete dias; na presença e na ausência de endotélio..... 50

Tabela 14: Comparação entre Valores de Efeito máximo ($E_{máx}$) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol por sete dias, na presença e ausência de endotélio. 53

Tabela 15: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para o KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol por sete dias; na presença e ausência de endotélio..... 54

Tabela 16: Valores de E_{max} e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da ACh em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais submetidos à lesão por balão cateterismo, Tratados com salina ou α -tocoferol..... 56

Tabela 17: Valores de Efeito máximo ($E_{máx}$) da Ang II (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias, na presença e ausência de endotélio..... 60

Tabela 18: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Ang II em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias; na presença e na ausência de endotélio..... 61

Tabela 19: Valores de Efeito máximo ($E_{máx}$) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio..... 63

Tabela 20: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por dezoito dias; na presença e na ausência de endotélio..... 64

Tabela 21: Valores de Efeito máximo ($E_{m\acute{a}x}$) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.....	66
Tabela 22: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por dezoito dias; na presença e na ausência de endotélio.....	67
Tabela 23: Valores de E_{max} e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da ACh em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais submetidos à lesão por balão cateterismo, tratados com salina.....	69
Tabela 24: Comparação entre Valores de Efeito máximo ($E_{m\acute{a}x}$) da Ang II (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.....	72
.	
Tabela 25: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para a Ang II em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias; na presença e na ausência de endotélio.....	73
Tabela 26: Comparação entre Valores de Efeito máximo ($E_{m\acute{a}x}$) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.....	76
Tabela 27: Comparação entre Valores de pD_2 da Phe ($-\log EC_{50}$) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na	

presença e ausência de endotélio.....	77

Tabela 28: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emáx) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.....	80

Tabela 29: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para o KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias; na presença e ausência de endotélio.....	81

Tabela 30: Comparação entre Valores Emax e de pD_2 da ACh ($-\log EC_{50}$) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

μL - microlitro

μm - micrômetro

100x - cem vezes

5-HT - 5-hidroxitriptamina

ACh - acetilcolina

Adv - camada adventícia

AINE – anti-inflamatório não esteroide

Ang II – angiotensina II

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ - glicose

Ca^{2+} - íon cálcio

CaCl_2 - Cloreto de cálcio

CGRP – peptídeo relacionado com o gene da calcitonina

CINC-1 - citocina quimioatraente para neutrófilos

COX - enzima ciclooxigenase

EC_{50} - concentração efetiva de uma droga que produz 50% do efeito máximo

Emax - efeito máximo

eNOS - óxido nítrico sintase endotelial

EPM - erro padrão da média

EROs – espécies reativas de oxigênio

ET-1 – endotelina-1

g – gramas

ICAM-1 - molécula de adesão intracelular-1

iNOS - óxido nítrico sintase induzida

KCl - Cloreto de potássio

KH_2PO_4 - fosfato de potássio monobásico

L - litro

Log [M] - logaritmo da concentração molar

M - molar

MAPKs –map quinases

MCP-1 - peptídeo quimiotático de monócitos-1

Med - camada média

mL - mililitro

mM - milimolar

n - número

NA - noradrenalina

NaCl - Cloreto de sódio

NaHCO₃ - bicarbonato de sódio

NF- κ B - fator de transcrição nuclear κ B

nNOS - óxido nítrico sintase neuronal

NO - óxido nítrico

NOS - óxido nítrico sintase

O₂⁻ - ânion superóxido

O₂ - molécula de oxigênio

°C - graus Celsius

ONOO⁻ - peroxinitrito

P < 0,001 - valor mínimo de probabilidade menor que 0,001 estatisticamente significativo

P < 0,01 - valor mínimo de probabilidade menor que 0,01 estatisticamente significativo

P < 0,05 - valor mínimo de probabilidade menor que 0,05 estatisticamente significativo

pD₂ – cologaritmo da EC₅₀

PGG₂ - Prostaglandina-G₂

PGH₂ - Prostaglandina-H₂

pH - logaritmo negativo da concentração de íons hidrogênio

Phe - fenilefrina

PPAR γ - receptor gama ativado pelo proliferador de peroxissomo

SOD - superóxido dismutase

SP – substância P

SRA – sistema renina angiotensina

TNF- α – fator de necrose tumoral alfa

v/v - volume por volume

VCAM-1 - molécula de adesão a célula vascular-1

VIP – peptídeo vasoativo intestinal

ESTADO DA ARTE

As doenças cardiovasculares como, hipertensão, aterosclerose, hiperlipidemia, injúria de reperfusão pós-isquêmica e falência cardíaca estão associadas com mudanças vasculares caracterizadas por disfunção endotelial, mudanças do tônus vascular, remodelamento estrutural, alterações mecânicas e inflamação vascular (TOUYZ, 2005). A aterosclerose é uma patologia de origem inflamatória, sendo a principal causa de morte por doenças cardiovasculares nos Estados Unidos, Europa e vários países asiáticos (ROSS, 1999). A aterosclerose é a principal causa de morte nos países em desenvolvimento da América Latina como Brasil, Venezuela, Colômbia e outros (HERNANDES-HERNANDES et al., 1998)

Vários estudos indicam que hipertensão, hiperlipidemia, diabetes mellitus, uso do fumo, deficiência de estrógeno, hiperhomocisteinemia e alguns agentes infecciosos são fatores associados com a aterosclerose, esses fatores levam ao aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) o que caracteriza um estresse oxidativo (D'USCIO et al., 2000; SCHMIDT-OTT et al., 2000; FUKADA et al., 2004; GROTE et al., 2004; PAPA HARALAMBUS e GRIENDLING, 2007). O estresse oxidativo ocorre quando a produção de espécies reativas do oxigênio (EROs) se encontra em excesso em relação a defesa antioxidante do organismo, e estas, não conseguem promover a remoção e ou inativação destas EROs (FÖRSTERMANN, 2008).

Como a aterosclerose é uma patologia que acomete os vasos de grande e médio calibres, o fluxo sanguíneo está comprometido nestas condições. Diversas estratégias terapêuticas são realizadas atualmente para restaurar o fluxo sanguíneo de vasos afetados pelo processo aterosclerótico, dentre estes temos, a angioplastia percutânea transluminal coronária (ou angioplastia por cateter balão) e o stents intracoronário (malha tubular e fenestrada) (ZARGHAM, 2008).

Vários modelos experimentais, nos quais a proliferação de células do músculo liso é estimulada, têm sido desenvolvidos para estudar doenças que apresentam esta anormalidade. Dentre estes, o modelo experimental de lesão vascular com angioplastia por balão cateterismo em ratos é amplamente utilizado para a compreensão de

disfunções vasculares originárias da formação da camada neoíntima (CLOWES et al., 1983).

Existem evidências que demonstram que a dilatação por balão cateterismo poderia induzir mudanças na inervação e aumento transitório na densidade sensorial de neuropeptídeos contidos nos nervos das artérias contra-laterais ao cateter balão. Após um dia de lesão, foi observado aumento significativo transitório na densidade de Protein Gene Product 9.5 (PGP), Substância P (SP) e Peptídeo Relacionado com o Gene da Calcitonina (CGRP) contidos nos neurônios das inervações nervosas do lúmen de vasos e paredes das artérias contra-laterais, os quais não foram encontrados 28 dias após a lesão (MILNER et al., 1997).

A lesão provocada por balão cateterismo acarreta também alterações na reatividade vascular a agentes contráteis nas artérias ipsilateral e contra-lateral de ratos (ACCORSI-MENDONÇA et al., 2004). Os resultados demonstram que ocorre aumento do efeito máximo (Emax) para a fenilefrina (Phe), nos dias 4 e 7 após a lesão, e para angiotensina II (Ang II), 15 e 30 dias após a lesão, em artérias contra-laterais em comparação ao controle. Esses efeitos, não estão relacionados com fatores humorais, pois não foi observado em outros leitos vasculares como na artéria aorta.

Na tentativa de diminuir os prejuízos causados pela angioplastia feita com o cateter balão, diabetes mellitus, intoxicação por metais pesados e etc, em função do aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) gerado por estes fatores, vários trabalhos têm sido realizados utilizando antioxidantes naturais, principalmente as vitaminas C e E (NAVASUMIRIT et al., 2000; RAMANATHAN et al., 2002; ULUSU et al., 2003; CHAUDHARY et al., 2003; GUPTA et al., 2004; SHIRPOR et al., 2008). Também fármacos, que apesar de exercer funções diferentes dos antioxidantes, como os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) (DAHME et al., 1997; GONÇALVES et al., 2005) e até mesmo fármacos antiinflamatórios como os inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2), têm sido usados por exercer funções antioxidantes indiretas (LEAHY et al., 2002; YANG et al., 2004). Os antagonistas dos receptores AT₁ para Ang II são utilizados para reduzir a disfunção endotelial, através da redução indireta das EROs (DAHME et al., 1997).

O objetivo deste estudo foi investigar a participação das enzimas COX, EROs e receptores AT₁ nos aumentos dos valores das contrações máximas induzidas por Phe e Ang II em artérias carótidas contra-laterais, quatro e quinze dias após a lesão, respectivamente. Utilizamos o celecoxibe, um inibidor seletivo da COX-2, ou o α -tocoferol, um antioxidante natural, os tratamentos com estas drogas iniciaram antes, durante, e depois da lesão com cateter balão e foram investigados os efeitos destas drogas sob a curva de contração para Phe. Além disso, o presente estudo também pesquisou as conseqüências do tratamento, com losartan, um antagonista dos receptores AT₁ para Ang II, de forma parecida com os outros tratamentos, sob a contração induzida pela Ang II em carótidas de ratos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	xxi
ESTADO DA ARTE.....	xxiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	09
2.1 – Geral.....	09
2.2 – Específicos.....	09
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1 – Animais.....	12
3.2 - Modelo de lesão vascular por cateter balão.....	12
3.3 - Divisão dos grupos experimentais.....	13
3.3.1 - Animais controles.....	13
3.3.2- Animais operados.....	14
4. – Histologia.....	19
5. Estudo da reatividade vascular.....	20
5.1- Protocolos experimentais.....	21
5.1.1 – Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular a Phe nas artérias controles, ipsilaterais e contra-laterais tratadas com celecoxibe ou α -tocoferol.....	21
5.1.2 – Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular a Phe nas artérias controles, contra-laterais tratadas com salina e losartan.....	21
5.1.3 - Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular ao Ang II nas artérias controles, ipsilaterais e contra-laterais tratadas com losartan.	21
5.1.4 - Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular ao KCl nas artérias controles e contra-laterais tratadas.....	22
5.1.5 - Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular a ACh nas artérias controles e contra-laterais tratadas.....	22
6. Drogas.....	22
7. Análise estatística.....	23
8. RESULTADOS.....	24
8.1.0 - Morfologia das artérias carótidas após sete dias de tratamento com salina.....	25
8.2.0 - Conseqüência da lesão por cateter balão sobre contração induzida pela Fenilefrina (Phe) e participação do endotélio neste aumento após sete dias de tratamento com salina.....	26
8.2.1 – Conseqüências da lesão por cateter balão sobre a contração induzida pelo KCl após sete dias de tratamento com salina.....	29

8.2.2 – Conseqüência da lesão por balão cateterismo sobre o relaxamento induzido pela Acetilcolina (ACh) após sete dias de tratamento com salina.....	32
8.3.0 - Morfologia das artérias carótidas dos animais tratados com celecoxibe por sete dias	34
8.4.0 – Conseqüências do tratamento realizado com celecoxibe durante sete dias sobre a reatividade a Phe.....	35
8.4.1 – Conseqüências do tratamento realizado com celecoxibe durante sete dias sobre a reatividade ao KCl.....	39
8.4.2 – Conseqüências do tratamento realizado com celecoxibe durante sete dias sobre a reatividade a ACh.....	43
8.5.0 - Conseqüências do tratamento realizado com óleo de milho durante sete dias sobre a reatividade a Phe em animais controles.....	46
8.6.0 - Morfologia das artérias carótidas dos animais tratados com α -tocoferol por sete dias.....	48
8.6.1 – Conseqüências do tratamento realizado com α -tocoferol durante sete dias sobre a reatividade a Phe.....	49
8.6.2 – Conseqüências do tratamento realizado com α -tocoferol durante sete dias sobre a reatividade ao KCl.....	53
8.6.3 – Conseqüências do tratamento realizado com α -tocoferol durante sete dias sobre a reatividade a ACh.....	56
8.7.0 Morfologia das artérias carótidas após dezoito dias de tratamento com salina.....	59
8.7.1 - Conseqüência da lesão por cateter balão sobre contração induzida pela Angiotensina II (Ang II) após dezoito dias de tratamento com salina.....	60
8.7.2 - Conseqüência da lesão por cateter balão sobre contração induzida pela Phe após dezoito dias de tratamento com salina.....	63
8.7.3 - Conseqüência da lesão por cateter balão sobre contração induzida pelo KCl após quinze dias de lesão.....	66
8.7.4 - Conseqüência da lesão por cateter balão sobre o relaxamento induzido pelo ACh após quinze dias de lesão.....	69
8.8.0 Morfologia das artérias carótidas controles e contra-laterais dos animais tratados com Losartan por 18 dias.....	71
8.8.1 – Conseqüências do tratamento realizado com losartan durante 18 dias sobre a reatividade a Ang II.....	72
8.8.2 – Conseqüências do tratamento realizado com losartan durante 18 dias sobre a reatividade a Phe.....	76
8.8.3 – Conseqüências do tratamento realizado com losartan durante 18 dias sobre a reatividade ao KCl.....	80
8.8.4 – Conseqüências do tratamento realizado com losartan durante 18 dias sobre a reatividade a ACh.....	84
9 DISCUSSÃO.....	87
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103

1. Introdução

Revisão da literatura

As doenças cardiovasculares são as principais causas de mortes nos países industrializados (FRUCHART & DURIEZ, 2001; QUIAN et al., 2007), e em países em desenvolvimento (HERNANDEZ-HERNANDEZ et al., 1998). Tais doenças, como a doença arterial coronária, hipertensão, insuficiência cardíaca congestiva e acidente vascular cerebral são as principais causas de morte e invalidez no mundo ocidental, todas elas podem ser complicações da aterosclerose (MADAMANCHI et al., 2005).

A aterosclerose é uma patologia de origem inflamatória, que consiste na principal causa de morte por doenças cardiovasculares nos Estados Unidos, Europa e vários países asiáticos (ROSS, 1999). É também as principais causas de morte nos países em desenvolvimento da América Latina como Brasil, Venezuela, Colômbia e outros (HERNANDEZ-HERNANDEZ et al., 1998). Esta doença progressiva que acomete os vasos sanguíneos de médio e maior calibre (BONOMINI et al., 2008), é o processo patológico mais comum que resulta em doenças cardiovasculares (SHERER & SHOENFELD, 2006).

Vários estudos demonstram que hiperlipidemia, hipertensão, diabetes mellitus, radicais livres causados uso do fumo (SCHMIDT-OTT et al., 2000; GROTE et al., 2004), angina, deficiência de estrógeno (D'USCIO et al., 2000, FUKADA et al., 2004), concentrações elevadas de homocisteína plasmática e infecções por microorganismos tais como herpesvírus e *Chlamydia pneumoniae* são fatores associados com aterosclerose (ROSS, 1999). Todos esses fatores levam ao aumento de espécies reativas do oxigênio (EROs), de forma direta ou indireta (LOSCALZO, 2003; MOLAVI e METHA, 2004; MANDAMANCHI et al., 2005; FORTUÑO et al., 2005; SINGH e JIALAL, 2006; PAPA HARALAMBUS e GRIENDLING, 2007; THOMSON et al., 2007; BONOMINI et al., 2008).

A aterosclerose é caracterizada pela obstrução do vaso devido ao crescimento intraluminal dos componentes lipídicos e/ou celulares associados ao remodelamento vascular, podendo interferir progressiva ou abruptamente no fluxo sanguíneo (ROSS, 1999).

A parede arterial é composta por três camadas morfologicamente distintas: a camada mais externa, conhecida como camada adventícia, que é formada

principalmente por fibroblastos intercalados por células musculares lisas localizadas entre os feixes de colágeno e envolvidas por proteoglicanos (HUSHANG, 1979). A camada média é constituída por células musculares lisas envolvidas por fibras elásticas, colágeno, proteoglicanas e miosina, sendo estas células responsáveis pelo tônus vascular promovendo contração ou relaxamento do vaso, e a integridade do vaso, através da proliferação e síntese da matriz extracelular (CAMPBELL et al., 1988). E por último, a camada mais interna, a camada endotelial é constituída por células endoteliais (EC) as quais são essenciais para manutenção da homeostasia vascular, através da síntese e expressão de diferentes substâncias e moléculas vasoativas e funciona como uma barreira física entre o sangue e os tecidos subjacentes (DAVIES & HAGEN, 1993; BIJL, 2003).

Várias estratégias terapêuticas são realizadas atualmente para restaurar o fluxo sanguíneo de vasos afetados pelo processo aterosclerótico. Dentre elas temos a angioplastia percutânea transluminal coronária (ou angioplastia por cateter balão) e o stents intracoronário (malha tubular e fenestrada) (ZARGHAM, 2008).

Das técnicas anteriormente citadas, destacaremos o procedimento de angioplastia por balão cateterismo, o qual consiste na denudação endotelial e distensão da parede do vaso através da ação mecânica de um cateter com um balão inflável na extremidade. Após a introdução do cateter balão no lúmen do vaso, e estando o cateter posicionado na região a ser lesada, o balão é inflado e movimentado, com o objetivo de remoção do endotélio (CLOWES et al., 1983).

Vários modelos experimentais, nos quais a proliferação de células do músculo liso é estimulada, têm sido desenvolvidos para estudar doenças que apresentam esta anormalidade. Dentre esses, o modelo experimental de lesão vascular por angioplastia por balão cateterismo é amplamente utilizado para a compreensão de disfunções vasculares originárias da formação da camada neointima (CLOWES et al., 1983).

De acordo com Lee et al., (1993), a formação da neointima ocorre em três fases: i) uma fase inicial aguda caracterizada por interação entre plaquetas, trombina e leucócitos na parede do vaso e a liberação de uma ampla gama de mediadores biológicos ativos, que resulta na ativação das células da musculatura lisa vascular; ii) uma fase intermediária que ocorre durante a replicação destas células ativadas, seguida por migração das mesmas da média para a sub-íntima; e iii) a fase crônica que envolve a produção de grandes quantias de matriz extracelular como material

suporte para as células da musculatura lisa na neoíntima e como um contribuidor para o remodelamento vascular.

A lesão mecânica que advém da passagem do balão pela artéria no processo de denudação endotelial promove um desequilíbrio no mecanismo homeostático da barreira protetora endotelial, alterando a sua reatividade vascular, aumentando aderência de leucócitos e alterando a permeabilidade do vaso. Esta disfunção endotelial também leva à formação de moléculas vasoativas, que na verdade induz genes inflamatórios, inativam o óxido nítrico (NO) e suas funções protetoras e ativam as metaloproteinases (MMPs) (PAPAHARALAMBUS & GRIENGLING, 2007) que são enzimas que degradam colágeno, conduzindo ao remodelamento da matriz extracelular (GRIENGLING & FITZGERALD, 2003a; 2003b; FORTUÑO et al., 2005), aumento do crescimento, migração e proliferação das células da musculatura lisa vascular (PAPAHARALAMBUS & GRIENGLING, 2007; ZARGHAM, 2008).

Existem evidências que demonstram que a dilatação por balão cateterismo poderia induzir mudanças na inervação e aumento transitório na densidade sensorial de neuropeptídeos contidos nos nervos das artérias contra-laterais. Após um dia de lesão, foi observado aumento significativo transitório na densidade de Protein Gene Product 9.5 (PGP), Substância P (SP) e Peptídeo Relacionado com o Gene da Calcitonina (CGRP) contidos nos neurônios das inervações nervosas do lúmen de vasos e paredes das artérias contra-laterais, os quais não foram encontrados 28 dias depois da cirurgia (MILNER et al., 1997). Entretanto, os autores não observaram alterações significativas do neuropeptídeo Y nas artérias contralateral e ipsilateral. Essas mudanças não foram observadas em animais sham-operados. Em artéria mesentérica, tem-se observado a presença de mastócitos próximo aos terminais nervosos que contém CGRP, SP e Peptídeo Vasoativo Intestinal (VIP) (CRIVELLATO et al., 1991). A SP causa geração de EROs por células inflamatórias (CHIEN et al., 1998).

A lesão provocada por balão cateterismo acarreta também, em alterações na reatividade vascular a agentes contráteis nas artérias ipsilateral e contra-lateral (ACCORSI-MENDONÇA et al., 2004). Os resultados demonstraram que ocorre aumento do efeito máximo (Emax) para a Phe, nos dias 4 e 7 após a lesão, e para Ang II, nos dias 15 e 30 após a lesão em artéria contra-lateral em comparação ao controle. Esse efeito, não estaria relacionado com fatores humorais, pois não foi

observado em artéria aorta. O aumento da reatividade da artéria contralateral a angiotensina II (Ang II) e fenilefrina (Phe) não estaria relacionada a alterações no potencial de membrana em repouso, fluxo sanguíneo ou aumento na produção de ânions superóxido (ACCORSI-MENDONÇA et al., 2004).

Embora etiologicamente diferente, o modelo de artrite reumatóide ocorre alterações na articulação contra-lateral a lesão, sendo que no lado que foi induzido a artrite ocorreu aumento da liberação de SP que, juntamente com a inervação simpática produz inflamação no lado oposto da lesão (CHALL e LADD, 1976, LEVINE et al., 1985).

Em síntese, as evidências indicam a existência de alterações na resposta vascular na carótida contra-lateral à lesão induzida pelo balão cateterismo independente de fatores humorais (ACCORSI-MENDONÇA et al., 2004) que se traduzem pelo aumento na densidade de neurônio que contém CGRP e SP (MILNER et al., 1997) e também hiper-reatividade vascular a Phe aos quatro e sete dias da lesão com cateter balão, que parece envolver a participação do endotélio e de prostanóides derivados da enzima Ciclooxygenase-2 (COX-2) (ACCORSI-MENDONÇA et al., 2004).

A Ang II, um potente peptídeo vasoativo, é o maior efector do sistema renina-angiotensina (SCHMIDT-OTT et al., 2000). A Ang II atua sobre dois tipos de receptores AT_1 e AT_2 (TIMMERMANS et al., 1993). O receptor AT_1 é amplamente distribuído pelos tecidos periféricos e cérebro (STROTH & UNGER, 1999) e, quando ativado pela Ang II, promove vasoconstrição, migração, proliferação e hipertrofia das células do músculo liso vascular; aumento da formação de matriz extracelular (DE GASPARO et al., 2000), aumento do tromboxano A_2 , aumento da produção de metaloproteinases (GROTE et al., 2004), e estimula a produção de endotelina I a partir de células endoteliais e células do músculo liso vascular (CHANG et al., 2005).

A Ang II atuando ainda sobre receptores do tipo AT_1 promove a síntese de proteínas, o metabolismo, o transporte, a regulação do volume, a expressão gênica e o crescimento celular, a ativação destes fatores depende da via das MAPKs (MAP Quinases). A Ang II tem sido mostrada ativar cascatas de sinalização que ativam as MAPKs, incluindo as ERK(1/2) (Quinases extracelulares sinal-reguladas), JNK (Quinase c-JUN NH_2 -terminal) e p38MAPK (p38 MAP Quinase), que são implicadas na diferenciação, proliferação, migração e fibrose nas células da musculatura lisa vascular (SUGDEN e CLERK, 1997; TAKEDA et al., 2004).

Por outro lado, a ativação dos receptores AT_2 , que são expressos em mamíferos adultos na adrenal, útero, coração, endotélio vascular e cérebro (STROTH & UNGER, 1999), promovem a vasodilatação, ação anti-proliferativa e pró-aptóica em células vasculares (DE GASPARO et al., 2000), produção de substâncias vasodilatadoras como o óxido nítrico, prostaglandinas, cininas (ISRAEL et al., 2000; FUKADA et al., 2005), abertura de canais de K^+ (DIMITROPOULOU et al., 2001; FUKADA et al., 2005) e também reduz a adesão plaquetária e facilita a ação da insulina (DANDONA et al., 2007).

O estresse oxidativo ocorre quando a produção de espécies reativas do oxigênio (EROs) se encontra em excesso em relação a defesa antioxidante do organismo, e estas, não conseguem promover a remoção e ou inativação destas (FÖRSTERMANN, 2008). O estresse oxidativo representa um importante papel nas doenças vasculares (FORTUÑO et al., 2005; PAPA HARALAMBUS & GRIENDLING, 2007).

Ocorre disfunção endotelial quando a presença de monócitos na parede do vaso, a proliferação e a migração de células da musculatura lisa vascular, envolvem diferentes tipos de EROs por vários componentes da parede dos vasos o que leva ao estresse oxidativo (FORTUÑO et al., 2005; GRIENDLING e FITZGERALD, 2003a; 2003b; PAPA HARALAMBUS e GRIENDLING, 2007).

As EROs regulam várias classes gerais de genes, incluindo moléculas de adesão e fatores quimiotáticos, enzimas antioxidantes e substâncias vasoativas. EROs são ligados a um estado pró-inflamatório na parede do vaso, que regula moléculas de adesão (VCAM-1, molécula de adesão a célula vascular-1; ICAM-1, molécula de adesão intracelular-1) e moléculas quimiotáticas (MCP-1, peptídeo quimiotático de monócitos-1), essa inflamação diminui a biodisponibilidade do NO, e esta redução, pode regular VCAM-1 na camada celular endotelial via indução de NF- κ B, um fator de transcrição nuclear (KUNSCH et al., 1999; TAYLOR., 1999).

A expressão das EROs atraem arrestinas, facilita a transmigração de leucócitos, a síntese de citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e ainda de Ang II, endotelina 1 (ET-1) e fator de crescimento do endotélio vascular. Todos estes mediadores induzem a expressão de moléculas de adesão numa maneira EROs dependente, além de regularem a enzima NADPH oxidase (PAPA HARALAMBUS & GRIENDLING, 2007).

Com base em estudos animais, o papel das EROs na hiperplasia da íntima resultante da formação da restenose após a angioplastia por cateter balão, evidências têm sido demonstradas de que as EROs contribuem para o início da apoptose das células da musculatura lisa vascular, como também remodelamento, proliferação e migração das células de miofibroblastos para as células da musculatura lisa, da camada média, ou ainda para a adventícia (GRIENDLING & FITZGERALD, 2003).

Na tentativa de diminuir os prejuízos causados pela angioplastia feita com o balão cateter, vários trabalhos têm sido realizados utilizando antioxidantes naturais, principalmente as vitaminas C e E (NAVASUMIRIT et al., 2000; RAMANATHAN et al., 2002; ULUSU et al., 2003; CHAUDHARY et al., 2003; GUPTA et al., 2004; SHIRPOR et al., 2008). Também fármacos, que apesar de exercer funções diferentes de antioxidantes, como os inibidores da enzima conversora de angiotensina (DAHME et al., 1997; GONÇALVES et al., 2005) e até mesmo fármacos antiinflamatórios como os inibidores da COX-2, têm sido usados por exercer funções antioxidantes indiretas (LEAHY et al., 2002; YANG et al., 2004). Os antagonistas dos receptores AT₁ são utilizados também para bloquear a disfunção endotelial, um dos principais efeitos das EROs que também é importante para a formação da neoíntima (DAHME et al., 1997).

Derivados da ciclooxigenase-2 (COX-2) e EROs estão envolvidos no aumento do efeito máximo (Emax) para o agonista Phe, e derivados da COX-1 mais as EROs estão envolvidos na elevação de Emax para Ang II, ambos na artéria carótida contra-lateral 4 e 15 dias após a lesão, respectivamente.

Dessa maneira fica evidente a importância do estudo utilizando drogas que inibam a enzima COX-2, uma fonte cada vez mais citada na literatura como fonte de espécies reativas de oxigênio; de drogas que atuem diretamente como antioxidantes; e drogas que atuem inibindo indiretamente possíveis fontes de espécies reativas de oxigênio como a enzima NADPH oxidase.

Baseado no que foi citado, temos duas hipóteses: (1) a primeira hipótese é a de que o endotélio esteja participando da resposta aumentada da Phe na artéria contra-lateral após quatro dias de lesão com balão cateter e que produtos da COX-2, prostanóides e ânion superóxido, pudessem ser as causas principais deste aumento. (2) Para a resposta aumentada da Ang II, nossa segunda hipótese é a de que os receptores AT₁ localizados nas células da musculatura lisa vascular mais os

produtos da COX-1 estivessem participando deste aumento de resposta para as artérias contra-laterais aos quinze dias de lesão por cateter balão.

2. Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 - Geral

Estudar as conseqüências do tratamento com celecoxibe, α -tocoferol sobre o aumento de Emax induzido pela Phe e do losartan no aumento de Emax desencadeado pela Ang II, nas artérias contra-laterais.

2.2 - Específicos

- Estudar a participação do endotélio na contração induzida por Phe em artéria carótida controle e contra-lateral à lesão em animais tratados com celecoxibe, α -tocoferol e losartan.
- Analisar a participação do endotélio na contração induzida pela Ang II em artéria carótida controle e contra-lateral, de animais tratados com losartan.
- A contração induzida pela Phe e Ang II, foi pesquisada nas artérias ipsilaterais após os tratamentos com celecoxibe, α -tocoferol e losartan.
- A responsividade da musculatura lisa vascular das artérias foi investigada através de sua reatividade ao KCl e ACh frente aos diferentes tipos de tratamentos.
- Observar as conseqüências dos tratamentos com celecoxibe, α -tocoferol e losartan sobre a morfologia das artérias controle, ipsilateral, contra-lateral.

3. Materiais e Métodos

3.1. Animais

Foram utilizados ratos Wistar adultos, com idade média entre 100 a 120 dias (400-450g) no início do experimento, provenientes do Biotério Central da Universidade de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto (Processo Nº 07.1.974.53.4 aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais USP-RP). Os animais de todos os grupos possuíam a mesma idade no início do experimento.

Os animais foram mantidos com livre acesso a água e alimento, em temperatura constante de 22°C e em ciclo de luz de 12 horas (claro/escuro).

3.2. Modelo de lesão vascular por cateter balão

Este modelo experimental teve como objetivo promover a lesão vascular endotelial na artéria carótida comum esquerda de ratos. Com esta lesão foi possível estudar o papel da nova camada de células endoteliais (neointima) no processo de restenose vascular.

Os animais foram anestesiados com solução de Ketamina (0,1ml/100g) e Xylazina (0,1ml/100g) via intraperitoneal. Realizamos incisão longitudinal na linha média cervical anterior de aproximadamente 2 cm, com a separação por planos até identificação e isolamento das artérias carótidas comum, externa e interna esquerda.

As porções comum e interna da artéria carótida esquerda foram separadas e tracionadas até evitar o refluxo sanguíneo e a ligação da carótida externa na porção distal a bifurcação carotídea. Posteriormente, realizamos uma pequena incisão na carótida externa, pela qual o cateter balão foi introduzido até a luz da carótida comum.

Com o cateter posicionado na luz do vaso, o balão foi inflado na luz arterial que levou a distensão da parede do vaso. Foram realizados três movimentos de deslocamento do cateter, no sentido longitudinal a partir da bifurcação da carótida, provocando a lesão na maior parte possível do endotélio vascular.

Após a retirada do cateter, a carótida externa foi ligada na porção proximal à bifurcação para evitar o sangramento e o fluxo sanguíneo foi restabelecido.

Após a cirurgia foi administrado o antibiótico oxitetraciclina (400mg/Kg), via subcutânea.

3.3. Divisão dos grupos experimentais

Os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- 1- Grupos controles e operados para 4 dias (4 dias após a lesão por cateter balão). Foram tratados com salina, ou celecoxibe, ou óleo de milho, ou α -tocoferol para estudar os efeitos agudos da inflamação aguda causada pela cirurgia de cateter balão na artéria carótida;
- 2- Grupos controles e operados para 15 dias (15 dias após a lesão por cateter balão) Foram tratados com salina e losartan para estudar os efeitos da inflamação crônica causada pela cirurgia por cateter balão na artéria carótida.

3.3.1. Animais controles

Os animais deste grupo não foram submetidos à técnica cirúrgica acima descrita. Os animais usados neste protocolo foram divididos em cinco grupos experimentais, como segue abaixo:

- a) Grupo controle tratado com salina (utilizado como controle para o celecoxibe e losartan);
- b) Grupo controle tratado com óleo de milho (utilizado como veículo e controle para o α -tocoferol);
- c) Grupo controle tratado com celecoxibe (inibidor seletivo da enzima ciclooxigenase-2);
- d) Grupo controle tratado com α -tocoferol (Vitamina E, um antioxidante natural);
- e) Grupo controle tratado com losartan (antagonista dos receptores AT₁ para Ang II).

3.3.2. Animais operados

Os animais deste grupo foram submetidos à técnica cirúrgica de cateter balão. Os animais usados neste protocolo foram divididos em quatro grupos experimentais, como segue abaixo:

- a) Grupo operado tratado com salina (utilizado como controle para o celecoxibe e losartan);
- b) Grupo operado tratado com celecoxibe (inibidor seletivo da enzima ciclooxigenase-2);
- c) Grupo operado tratado com α -tocoferol (Vitamina E, um antioxidante natural);
- d) Grupo operado tratado com losartan (antagonista dos receptores AT₁ para Ang II).

Tratamento com salina

O tratamento com salina iniciou três dias anteriores à lesão com cateter balão em todos os ratos (controles e operados), no dia do procedimento cirúrgico, e foi continuado até o terceiro dia após a lesão e no quarto dia foram feitos os experimentos de reatividade e morfologia. Este tratamento foi realizado por via oral pelo método de gavagem.

Tratamento com óleo de milho

O tratamento com óleo de milho iniciou três dias anteriores à lesão com cateter balão em ratos (controles e operados), no dia do procedimento cirúrgico, e foi continuado até o terceiro dia após a lesão e no quarto dia foram feitos os experimentos de reatividade e morfologia. Este tratamento foi realizado por via oral pelo método de gavagem, conforme TAKAHASHI, et al., 2006.

Tratamento com celecoxibe

O tratamento com celecoxibe iniciou três dias anteriores à lesão com cateter balão em todos os ratos (controles e operados), no dia do procedimento cirúrgico, e foi continuado até o terceiro dia após a lesão e no quarto dia foram feitos os experimentos de reatividade e morfologia. Este tratamento foi realizado por via oral pelo método de gavagem, no qual foi administrada uma dose de 10 mg/kg/ml de celecoxibe diluído em água destilada (FABRICIO, e cols 2005) a cada 12 horas, sempre nos mesmos horários. Baseado em dados farmacocinéticos e farmacodinâmicos do celecoxibe obtidos em ratos (PAULSON, et al., 2000).

Tratamento com α -tocoferol (vitamina E):

O tratamento com α -tocoferol iniciou três dias anteriores à lesão com cateter balão em todos os ratos (controles e operados), no dia do procedimento cirúrgico, e foi continuado até o terceiro dia após a lesão e no quarto dia foram feitos os experimentos de reatividade e morfologia. Este tratamento foi feito por via oral pelo método de gavagem, com administração de uma dose de 400 mg/kg/ml/dia de α -tocoferol sempre nos mesmos horários, conforme descrito por RAMANATHAN et al., (2002), com algumas modificações, tais como o α -tocoferol foi diluído em óleo de milho (TAKAHASHI, et al., 2006). O tratamento foi baseado em dados farmacocinéticos e farmacodinâmicos do α -tocoferol de acordo com (BJORNEBOE et al. 1987a e BJORNEBOE et al., 1987b).

Tratamento com Losartan

O tratamento com losartan iniciou três dias anteriores à lesão com cateter balão em todos os ratos (controles e operados), no dia do procedimento cirúrgico, e foi continuado até o décimo quarto dia após a lesão e no décimo oitavo dia foram feitos os experimentos de reatividade e morfologia. Este tratamento foi realizado por via oral,

pelo método de gavagem, no qual foi administrado uma dose de 15 mg/kg/ml/dia de losartan, sempre nos mesmos horários (ÁLVARES et al., 2007).

Descrição do regime de tratamento

Os animais controles passaram por tratamento, obedeceram ao seguinte esquema:

- ✓ No dia 0, os ratos começaram a ser tratados com salina ou α -tocoferol ou celecoxibe com a dose anteriormente descrita;
- ✓ Este tratamento foi realizado até o sexto dia, sete dias de tratamento;
- ✓ No sétimo dia, os animais foram sacrificados e foram feitos experimentos de reatividade vascular ou morfologia.

Ou,

- ✓ No dia 0, os ratos começaram a ser tratados com salina ou losartan com a dose anteriormente descrita;
- ✓ Este tratamento foi realizado até décimo sétimo dia, dezoito dias de tratamento;
- ✓ No décimo oitavo dia, os animais foram sacrificados e foram feitos experimentos de reatividade vascular ou morfologia.

Descrição do regime de tratamento dos animais operados

Os grupos dos animais operados e tratados seguiram o esquema abaixo:

- ✓ No primeiro dia de experimento, os ratos começaram a ser tratados com salina, α -tocoferol ou celecoxibe, com dose previamente descrita;
- ✓ No terceiro dia após o início do tratamento, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico pelo método de angioplastia com o cateter balão;
- ✓ Este tratamento foi realizado até o sexto dia, durante sete dias;
- ✓ No sétimo dia, os animais foram sacrificados e foram feitos experimentos de reatividade vascular e morfologia.

Ou,

- ✓ No primeiro dia de experimento, os ratos começaram a ser tratados com salina ou losartan com dose previamente descrita;
- ✓ No terceiro dia após o início do tratamento, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico pelo método de angioplastia com o cateter balão;
- ✓ Este tratamento foi realizado até o décimo sétimo dia, durante dezoito dias;
- ✓ No décimo oitavo dia, os animais foram sacrificados e foram feitos experimentos de reatividade vascular e morfologia.

4. Histologia

O estudo histológico teve a finalidade de avaliar as conseqüências induzidas pela lesão vascular provocada pelo cateter balão, na formação da neoíntima em função da restenose vascular produzida.

Os segmentos de artérias dos animais controle e artérias contralaterais e ipsilaterais dos animais submetidos à lesão por cateter balão (7 e 18 dias após a lesão) foram removidos e fixados em formol tamponado a 10% durante 24 horas. Esses tecidos foram fixados, desidratados e incluídos em blocos de parafina. Cortes de 4 µm de espessura foram dispostos em lâmina para microscopia. As lâminas foram coradas segundo a técnica de coloração com Hematoxilina/Eosina. Os cortes foram analisados em microscópio Nikon (Japão), as imagens foram captadas por câmera digital (Coolpix

4500, Roper Scientific, Japão) armazenadas em computador e editadas utilizando o software Adobe PhotoShop 7.0.

5. Estudo da reatividade vascular

Os animais foram anestesiados em câmara de eutanásia com isoflurano (700µl/500g de animal) e exsangüinados. A artéria carótida controle, as artérias ipsilateral e contra-lateral a lesão por balão cateterismo foi exposta e isolada. Após o isolamento a artéria foi cortada em segmentos de 4 mm e dois ganchos de metal foram inseridos no lúmen da mesma para produzir tensão, com cuidado de não danificar o endotélio.

Os anéis foram isolados em cuba de órgão isolado (5mL) contendo solução de Krebs cuja composição é (mM): NaCl 118,4; KCl 4,7; CaCl₂ 1,9; KH₂PO₄ 1,2; MgSO₄ 1,2; NaHCO₃ 25; C₆H₁₂O₆ 11,6; pH 7,4. Os anéis foram mantidos a temperatura constante de 37°C e aerados com mistura carbogênica (95% O₂ e 5% CO₂). Um dos ganchos foi conectado a um suporte fixo ajustável e o outro, a um transdutor para registro de contração isométrica (Tri 201-Letica, Espanha).

De acordo com o protocolo experimental, o endotélio foi preservado ou removido mecanicamente.

Antes do início do protocolo experimental, as preparações permanecerão em repouso sob uma tensão de 1g por 60 minutos para estabilização. Após o período de estabilização a viabilidade da preparação foi testada com Phe (10⁻⁷M) e o endotélio foi verificado com a administração de acetilcolina (ACh) (10⁻⁶M). Anéis que produziram relaxamento mínimo de 80% do valor da contração inicial foram considerados com endotélio intacto e utilizados nos experimentos. Os que não possuíam endotélio era aceito no máximo 10 % de relaxamento à ACh.

5.1. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

5.1.1. Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular a Phe nas artérias controles, ipsilaterais e contra-laterais tratadas com celecoxibe ou α -tocoferol

Com o objetivo de estudar o aumento na resposta contrátil, da artéria contra-lateral a Phe, foram realizadas curvas concentrações-efeito para a Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L), em artérias de animais controles e operados, na presença e ausência de endotélio, tratados com veículo (salina ou óleo de milho), celecoxibe ou α -tocoferol.

5.1.2. Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular a Phe nas artérias controles, contra-laterais tratadas com salina e losartan

Com o objetivo de estudar a resposta contrátil das artérias contra-laterais a Phe dos animais tratados com losartan, foram realizadas curvas concentrações-efeito para a Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L), em artérias de animais controles e operados, na presença e ausência de endotélio.

5.1.3. Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular ao Ang II nas artérias controles, ipsilaterais e contra-laterais tratadas com losartan

Com o objetivo de estudar o aumento na resposta contrátil, da artéria contra-lateral a Ang II, foram realizadas curvas concentrações-efeito para a Ang II (10^{-12} a 10^{-7} mol/L), em artérias de animais controles e operados, na presença e ausência de endotélio, tratados com salina ou losartan.

5.1.4. Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular ao KCl nas artérias controles e contra-laterais tratadas

Com o objetivo de estudar a participação dos tratamentos sobre a capacidade contrátil das artérias carótidas na reatividade vascular ao KCl, foram realizadas curvas concentrações-efeito para o KCl (10 a 120 mM), para animais controles e operados, na presença e ausência do endotélio, tratados com salina, celecoxibe, α -tocoferol ou losartan.

5.1.5. Conseqüências da lesão por cateter balão na reatividade vascular a ACh nas artérias controles e contra-laterais tratadas

Com o objetivo de estudar a participação dos tratamentos sobre o relaxamento induzido pela ACh no endotélio vascular, foram realizadas curvas concentrações-efeito para ACh (10^{-10} a 10^{-5} M), para artérias de animais controle e operados, tratados com salina, celecoxibe, α -tocoferol ou losartan.

6. Drogas

Celecoxibe (Celebra®-Pfiser); **Losartan** (Galena Química e Farmacêutica Ltda); **Acetilcolina** da Sigma; **Angiotensina II** da Sigma; **Fenilefrina** da Sigma, todas essas drogas foram diluídas em água destilada. **α -Tocoferol** da Sigma diluído em óleo de milho.

7. Análise estatística

Análise dos dados:

Reatividade vascular: as determinações dos valores de Emax (efeito máximo) e EC₅₀ (concentração do agonista que produz 50% do efeito máximo) foram realizadas utilizando o método de regressão não – linear dos mínimos quadrados utilizando-se o programa GraphPad Prism (GraphPad software, versão 3.01, 1999). Para análise da potência do agonista foi utilizado o valor de pD_2 (logaritmo negativo da concentração da droga que induz metade do efeito máximo), o qual assume distribuição normal, compatível com manipulações e comparações estatísticas (KENAKIN, 1997). Os valores de pD_2 foram obtidos a partir do valor de EC₅₀ utilizando-se o programa GraphPad Prism (GraphPad software, versão 3.01, 1999).

Os valores de Emax e valores de pD_2 obtidos através das curvas concentrações-respostas para os agonistas estudados foram analisados por um sistema computacional (GraphPad Prism) conforme os resultados (DANIEL, W. W. 1991). Observar a legenda de cada resultado.

Histologia: os cortes foram analisados em microscópio Olympus AX 70 e as imagens foram captadas por câmera digital Olympus DP 70 color, utilizando o programa Olympus DP Manager. Foram editadas pelo programa Adobe PhotoShop 7.0.

8. Resultados

8.1.0 - Morfologia das artérias carótidas após sete dias de tratamento com salina

A Figura 1 mostra as características morfológicas das artérias dos animais tratados com salina por sete dias. Ilustra as imagens das artérias controle, ipsilateral e contra-lateral à lesão por cateter balão com coloração Hematoxilina-Eosina.

As artérias provenientes de animais controle apresentam uma única camada de células endoteliais, três a quatro camadas de células de músculo liso, posicionadas em sentido circular ao lúmen do vaso. Foi observada a presença de fibras de colágeno característico da camada adventícia. As artérias contra-laterais a lesão por balão cateter após o tratamento com salina apresentam características morfológicas aparentemente similares àsquelas encontradas em artérias provenientes de animais controle tratadas.

As artérias ipsilaterais apresentaram ausência de camada endotelial, três ou quatro camadas de células de músculo liso e a camada adventícia com características de infiltrado inflamatório e aumento de *vasa vasorum*.

Figura 1: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 4 dias após lesão por cateter balão. Coloração: Hematoxilina-Eosina. End: camada endotelial; med: camada média; adv: camada adventícia. Objetiva: 40x

8.2.0 - Consequência da lesão por cateter balão sobre contração induzida pela Fenilefrina (Phe) e participação do endotélio neste aumento após sete dias de tratamento com salina

Os resultados demonstram que a lesão por balão cateter promove aumento significativo no parâmetro farmacológico de Emax da Phe em artérias contra-laterais de animais submetidos à lesão com endotélio ($0,58 \pm 0,03$), quando comparado ao de artérias de animais controles ($0,44 \pm 0,02$). Este parâmetro está reduzido em artérias ipsilaterais ($0,27 \pm 0,02$), onde o endotélio foi retirado mecanicamente (Figuras 2 e 3; tabela 1). Pois, na ausência de endotélio, ocorre redução deste parâmetro nas artérias contra-laterais ($0,45 \pm 0,03$) a lesão em relação ao controle, sem endotélio ($0,64 \pm 0,03$), figuras 2 e 3, tabela 1.

Figura 2: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante sete dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L) na presença ou na ausência de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 3 - 7$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi.** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

Figura 3: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante sete dias. Efeito máximo (Emax) para a Phe em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante sete dias; na presença e ausência de endotélio, se necessário. Os dados representam à média ± EPM (n= 3 – 7). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi.** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio. Os dados representam à média ± EPM. **Artérias com endotélio:** (**) indica diferença significativa (P< 0,01) em relação à artéria controle tratada com salina, (***) indica diferença significativa (P< 0,001) em relação à artéria controle tratada com salina. **Artérias sem endotélio:** (##) indica diferença significativa (P< 0,01) em relação à artéria controle tratada com salina (Teste t, não-pareado).

Tabela 1: Valores de Efeito máximo (Emáx) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax ± EPM	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	0,44 ± 0,02 (n=5)	0,58 ± 0,03** (n=5)
Endotélio -	0,64 ± 0,03 (n=7)	0,45 ± 0,03** (n=4)
Ipsi	0,27 ± 0,02*** (n=3)	—

- Os dados representam à média ± EPM. (Teste t, não-pareado). **Artérias com endotélio:** (**) indica diferença significativa (P< 0,01) em relação à artéria controle tratada com salina, (***) indica diferença significativa (P< 0,001) em relação à artéria controle tratada com salina. **Artérias sem endotélio:** (##) indica diferença significativa (P< 0,01) em relação à artéria controle tratada com salina (Teste t, não-pareado).

Foram também analisados os parâmetros de potência (valores de pD_2), onde foi observada alteração nos diferentes grupos (tabela 2).

Tabela 2: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias; na presença e na ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	$7,05 \pm 0,18$ (n=5)	$7,03 \pm 0,05$ (n=5)
Endotélio -	$6,98 \pm 0,18$ (n=7)	$7,26 \pm 0,06$ (n=4)
Ipsi	$7,29 \pm 0,25$ (n=3)	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste *t*, não-pareado).

Em síntese, a lesão por balão cateterismo aumenta a resposta contrátil da Phe em artérias contra-laterais com endotélio à lesão comparativamente a reatividade observada em artérias de animais controles.

As contrações desencadeadas pelas artérias contra-laterais, sem endotélio, sofrem redução no Emax, quando comparadas com o controle.

- ✓ Concluindo, o tratamento com salina não interfere na resposta aumentada para a contração máxima induzida pela Phe nas artérias contra-laterais em relação as artérias controles, permitindo assim o uso do grupo tratado com salina como grupo controle.

8.2.1 – Conseqüências da lesão por cateter balão sobre a contração induzida pelo KCl após sete dias de tratamento com salina

O KCl desencadeou uma contração concentração-dependente (10 a 120 mM) nas artérias carótidas de animais controles (com endotélio: $0,44 \pm 0,04$; sem endotélio: $0,41 \pm 0,05$) e contra-laterais (com endotélio: $0,45 \pm 0,04$; sem endotélio: $0,44 \pm 0,04$), de animais submetidos a lesão por balão cateterismo, figura 4.

Figura 4: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina durante sete dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para o KCl (10 a 120 mM) na presença ou na ausência de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 4 - 6). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

Os parâmetros de E_{max} e pD_2 não sofreram alterações com a lesão, figura 5; tabela 3 e 4.

Figura 5: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina durante sete dias. Efeito máximo (Emax) para o KCl em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante sete dias; na presença e ausência de endotélio. Os dados, obtidos em curvas concentrações-efeito para KCl (10-120 mM), representam a média $\pm$ EPM ($n = 4 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. **SE:** Sem endotélio. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Tabela 3: Valores de Efeito máximo (Emax) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	0,44 $\pm$ 0,04 (5)	0,45 $\pm$ 0,04 (6)
Endotélio -	0,41 $\pm$ 0,05 (6)	0,44 $\pm$ 0,04 (4)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Tabela 4: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para o KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias; na presença e na ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	$1,57 \pm 0,03$ (5)	$1,63 \pm 0,06$ (6)
Endotélio -	$1,65 \pm 0,04$ (6)	$1,65 \pm 0,02$ (4)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

- ✓ Esses resultados sugerem que, a maquinaria contrátil deste músculo liso vascular não foi alterada pela lesão com balão cateterismo e pelo tratamento com salina.

8.2.2 – Consequência da lesão por balão cateterismo sobre o relaxamento induzido pela Acetilcolina (ACh) após sete dias de tratamento com salina

A ACh promoveu relaxamento dependente da concentração (10^{-10} - 10^{-5} M) nas artérias carótidas de animais controle ($100,31 \pm 3,19$) e artérias contra-laterais de animais operados ($99,42 \pm 2,34$). Não foram observadas alterações nos valores de E_{max} ou pD_2 , figuras 6 e 7; tabela 5.

Figura 6: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina durante sete dias. As figuras representam curvas concentrações-efeito para ACh (10^{-10} - 10^{-5} M). Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n= 5 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio.

Figura 7: Efeito máximo de relaxamento (Emax) da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante sete dias. Efeito máximo de relaxamento (Emax) para ACh em artérias isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n= 5 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Tabela 5: Valores de Emax e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da ACh em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais submetidos à lesão por balão cateterismo, tratados com salina durante sete dias.

Grupos Endotélio +	Controles Salina	Contra-laterais Salina
Emax $\pm$ EPM	100,31 $\pm$ 3,19 (n=5)	99,42 $\pm$ 2,19 (n=6)
$pD_2 \pm$ EPM	7,14 $\pm$ 0,11 (n=5)	7,16 $\pm$ 0,09 (n=6)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

- ✓ Em síntese, a lesão por balão cateterismo e o tratamento com salina não alterou o efeito relaxante da ACh, sugerindo que não ocorrem alterações no relaxamento dependente do endotélio, nas artérias contra-laterais.

8.3.0 - Morfologia das artérias carótidas dos animais tratados com celecoxibe por sete dias

A Figura 8 mostra as características morfológicas das artérias dos animais tratados com celecoxibe por sete dias: carótidas controle, contra-lateral e ipsilateral.

As artérias provenientes de animais controle apresentam uma única camada de células endoteliais, três a quatro camadas de células de músculo liso, posicionadas em sentido circular ao lúmen do vaso. Foi observada a presença de fibras de colágeno característico da camada adventícia. As artérias contra-laterais a lesão por cateter balão tratadas com celecoxibe apresentam características morfológicas aparentemente similares às encontradas em artérias provenientes de animais controle.

As artérias ipsilaterais apresentaram ausência de camada endotelial, três ou quatro camadas de células de músculo liso.

O tratamento com celecoxibe durante sete dias, não provocou alterações morfológicas significativas nas artérias controle, contra-lateral e ipsilateral, quando comparadas com as artérias tratadas com salina.

Figura 8: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 4 dias após lesão por cateter balão e tratados com celecoxibe. Coloração: Hematoxilina-Eosina. End: camada endotelial; med: camada média; adv: camada adventícia. Objetiva: 40x

8.4.0 – Conseqüências do tratamento realizado com celecoxibe durante sete dias sobre a reatividade a Phe

No presente trabalho foi estudado as conseqüências do tratamento com celecoxibe (10mg/kg/2 x ao dia) por sete dias, em animais controles e que sofreram lesão por cateter balão, sob reatividade à Phe. Foram feitas curvas concentrações-efeito para Phe em carótidas destes animais, na presença ou na ausência de endotélio.

A Phe (10^{-10} - 10^{-5} M) promoveu contração concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles e tratados com celecoxibe (10mg/kg/2 x ao dia) durante sete dias. Os resultados demonstram que, não foi observada diferença significativa entre os valores de Emax dos dois grupos controle (grupo salina: $0,44 \pm 0,02$); (grupo celecoxibe $0,39 \pm 0,03$) na presença do endotélio, (figuras 9 e 10; tabela 6). Em artérias sem endotélio os valores de Emax foram de $0,64 \pm 0,03$ para o grupo salina e de $0,68 \pm 0,02$ para o grupo celecoxibe, (figuras 9 e 10; tabela 6). Não foram observadas alterações na potência da Phe entre artérias nos grupos estudados, na presença de endotélio. Entretanto, na ausência de endotélio, nota-se um aumento significativo da potência (Valores de pD_2) da Phe em artérias controles tratadas com celecoxibe em relação às artérias controles tratadas com salina, (tabela 7).

A lesão promovida por balão cateter acarretou uma redução do Emax da Phe nas artérias ipsilaterais do grupo salina ($0,27 \pm 0,02$) sem alteração da potência, quando comparados aos valores obtidos nas artérias controle, (figuras 9 e 10; tabela 6). Entretanto, no grupo tratado com celecoxibe a resposta da Phe foi totalmente abolida ($0,0 \pm 0,0$) (figuras 9 e 10; tabela 6).

A lesão por cateter balão promove um aumento no Emax da Phe nas artérias contra-laterais do grupo salina ($0,58 \pm 0,03$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($0,44 \pm 0,02$), na presença do endotélio (figuras 9 e 10; tabela 6). Na ausência do endotélio o valor de Emax na artéria contra-lateral ($0,45 \pm 0,03$) foi da mesma magnitude que o valor observado na artéria controle com endotélio ($0,44 \pm 0,02$), (figuras 9 e 10; tabela 6). O valor de Emax das artérias contra-laterais sem endotélio ($0,45 \pm 0,03$), está reduzido significativamente em relação ao das artérias com endotélio ($0,58 \pm 0,03$), (figuras 9 e 10; tabela 6).

Figura 9: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou celecoxibe (B) durante sete dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L) na presença ou na ausência d endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 3 - 7). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi:** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

Tabela 6: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emax) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe por sete dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controle Salina	Controle Celecoxibe	Contra-lateral Salina	Contra-lateral Celecoxibe
Endotélio +	0,44 $\pm$ 0,02 (n=5)	0,39 $\pm$ 0,16*** (n=7)	0,58 $\pm$ 0,03** (n=5)	0,44 $\pm$ 0,02** (n=6)
Endotélio -	0,64 $\pm$ 0,03 (n=7)	0,68 $\pm$ 0,02 (n=7)	0,45 $\pm$ 0,03## (n=4)	0,47 $\pm$ 0,03### (n=6)
Ipsi	0,27 $\pm$ 0,02 (n=3)	0 (n=5)	—	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 19,75, $P < 0,001$; Cirurgia F: 18,99, $P < 0,001$. (**) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação às artérias controles (salina e celecoxibe) e artéria contra-lateral tratada com celecoxibe, (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação a artéria contra-lateral tratada com salina. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 1,15, $P > 0,05$; Cirurgia F: 55,88, $P < 0,0001$. (##) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação a artéria controle tratada com salina, (###) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação a artéria controle tratada com celecoxibe (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento do grupo operado com celecoxibe, mantém o valor de Emax da Phe na artéria contra-lateral ($0,44 \pm 0,02$), nos mesmos níveis da artéria controle

($0,39 \pm 0,02$), na presença de endotélio (figuras 9 e 10; tabela 6). A retirada do endotélio não provoca mudanças no Emax da Phe em artérias contra-laterais a lesão em animais do grupo celecoxibe ($0,47 \pm 0,03$) em relação ao valor observado na artéria controle, na presença de endotélio ($0,39 \pm 0,02$). O valor de Emax nas contra-laterais na ausência de endotélio ($0,47 \pm 0,03$), foi da mesma magnitude ao valor observado nas artérias contra-laterais, na presença de endotélio ($0,44 \pm 0,02$). Não foram observadas alterações na potência (Valores de pD_2) da Phe nos grupos estudados, exceto o aumento observado nas artérias controles tratadas (tabela 7).

Tabela 7: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe por sete dias; na presença e na ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controle Salina	Controle Celecoxibe	Contra-lateral Salina	Contra-lateral Celecoxibe
Endotélio +	$7,05 \pm 0,18$ (n=5)	$7,22 \pm 0,17$ (n=7)	$7,03 \pm 0,05$ (n=5)	$6,93 \pm 0,13$ (n=6)
Endotélio -	$6,98 \pm 0,18$ (n=7)	$7,67 \pm 0,11^{\#}$ (n=6)	$7,26 \pm 0,06$ (n=4)	$7,42 \pm 0,13$ (n=6)
Ipsi	$7,29 \pm 0,25$ (n=3)	0 (n=5)	—	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 0,05, $P > 0,05$; Cirurgia F: 1,01, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 8,08, $P < 0,05$; Cirurgia F: 0,01, $P > 0,05$. (#) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle tratado com salina. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

- ✓ Os resultados sugerem que, o tratamento com celecoxibe reduz o aumento do Emax da Phe na artéria contra-lateral, aumento este observado em animais que receberam tratamento com salina. O celecoxibe aboliu a resposta a Phe da artéria carótida ipsilateral.

Figura 10: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe durante sete dias. Efeito máximo (Emax) para a Phe em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe durante sete dias; na presença e ausência de endotélio, se necessário. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 3 - 7$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi:** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 19,75, $P < 0,001$; Cirurgia F: 18,99, $P < 0,001$. (**) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação às artérias controles e contra-lateral tratadas com salina, (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação a artéria contra-lateral tratada com salina. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 1,15, $P > 0,05$; Cirurgia F: 55,88, $P < 0,001$. (##) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação a artéria controle tratada com salina, (###) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação a artéria controle tratada com celecoxibe. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

8.4.1 – Consequências do tratamento realizado com celecoxibe durante sete dias sobre a reatividade ao KCl

O KCl (10 a 120 mM) promoveu contração concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles tratados com salina e celecoxibe (10mg/kg/2 x ao dia) durante sete dias. Os resultados demonstram que, foi observada nenhuma alteração significativa entre os valores de E_{max} dos dois grupos controle (grupo salina: $0,44 \pm 0,04$); (grupo celecoxibe: $0,41 \pm 0,01$) na presença do endotélio, (figuras 11 e 12; tabela 8). Em artérias sem endotélio os valores de E_{max} foram de ($0,41 \pm 0,05$) para o grupo salina e de ($0,47 \pm 0,01$) para o grupo celecoxibe, na ausência de endotélio, (figuras 11 e 12; tabela 8). Não foram observadas alterações na potência (Valores de pD_2) do KCl entre artérias nos grupos estudados, na presença e ausência de endotélio. Porém, nota-se uma redução significativa da potência do KCl em artérias controles na ausência de endotélio em relação às suas artérias controles (tabela 9).

Figura 11: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina (A) ou celecoxibe (B) durante sete dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para o KCl (10 a 120 mM) na presença ou na ausência d endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 4 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

A lesão por cateter balão não acarreta diferenças significativas no E_{max} do KCl nas artérias contra-laterais do grupo salina ($0,45 \pm 0,04$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($0,44 \pm 0,04$), na presença

do endotélio (figuras 11 e 12; tabela 8). Na ausência do endotélio os valores de Emax na artéria contra-lateral ($0,44 \pm 0,04$) foi da mesma magnitude ao valor observado na artéria controle com endotélio ($0,44 \pm 0,04$), (figuras 11 e 12; tabela 8). O valor de Emax das artérias contra-laterais sem endotélio ($0,44 \pm 0,04$), não apresenta mudanças em relação ao das artérias contra-laterais com endotélio ($0,45 \pm 0,04$), (figuras 11 e 12; tabela 8).

Tabela 8: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emax) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe por sete dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controles Salina	Controles Celecoxibe	Contra-laterais Salina	Contra-laterais Celecoxibe
ENDOTÉLIO +	$0,44 \pm 0,04$ (n=5)	$0,41 \pm 0,01$ (n=6)	$0,45 \pm 0,04$ (n=6)	$0,45 \pm 0,02$ (n=6)
ENDOTÉLIO –	$0,41 \pm 0,05$ (n=6)	$0,47 \pm 0,01$ (n=6)	$0,44 \pm 0,04$ (n=4)	$0,51 \pm 0,01$ (n=4)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 0,21, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,78, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 4,32, $P > 0,05$; Cirurgia F: 1,25, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento com celecoxibe do grupo operado, mantêm o valor de Emax do KCl na artéria contra-lateral ($0,45 \pm 0,02$), nos mesmos níveis da artéria controle ($0,41 \pm 0,01$), na presença de endotélio (figuras 11 e 12; tabela 8). A retirada do endotélio não provoca mudanças no Emax das artérias contra-laterais do grupo celecoxibe ($0,51 \pm 0,01$) em relação ao valor observado na artéria controle, na presença de endotélio ($0,41 \pm 0,01$). O valor de Emax nas contra-laterais na ausência de endotélio ($0,51 \pm 0,01$), foi da mesma magnitude ao valor observado na artéria das artérias contra-laterais, na presença de endotélio ($0,45 \pm 0,02$) (figuras 11 e 12; tabela 8). Foi observado redução da potência (Valores de pD_2) do KCl nas artérias contra-laterais dos animais tratados com celecoxibe na presença de endotélio em relação ao das artérias controles e contra-laterais, com endotélio, tratados com salina (tabela 9).

Tabela 9: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para o KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe por sete dias; na presença e ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controles Salina	Controles Celecoxibe	Contra- laterais Salina	Contra-laterais Celecoxibe
ENDOTÉLIO +	1,57 $\pm$ 0,03 (n=5)	1,51 $\pm$ 0,02 (n=6)	1,63 $\pm$ 0,06 (n=6)	1,44 $\pm$ 0,03*
ENDOTÉLIO -	1,65 $\pm$ 0,04 (n=6)	1,49 $\pm$ 0,02 ##,### (n=6)	1,65 $\pm$ 0,02 (n=4)	1,66 $\pm$ 0,01 (n=4)

- Os dados representam a média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 10,97, $P < 0,01$; Cirurgia F: 0,001, $P > 0,05$. (*) indica diferença significativa $P < 0,05$ em relação ao grupo tratado com salina. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 7,40, $P < 0,05$; Cirurgia F: 9,80, $P < 0,01$. (##) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação ao grupo tratado com salina, (###) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria contra-lateral tratada com celecoxibe. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

Figura 12: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe durante sete dias. Efeito máximo (Emax) para o KCl em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe durante sete dias; na presença e ausência de endotélio. Os dados, obtidos em curvas concentrações-efeito para KCl (10-120 mM), representam a média $\pm$ EPM ($n = 4 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. **SE:** Sem endotélio. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 0,21, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,78, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 4,32, $P > 0,05$; Cirurgia F: 1,25, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

- ✓ Os resultados sugerem que, o tratamento com celecoxibe não modifica os valores do Emax do KCl nas artérias dos animais controles e operados em relação ao dos animais tratados com salina.

8.4.2 – Conseqüências do tratamento realizado com celecoxibe durante sete dias sobre a reatividade a ACh

A ACh (10^{-10} - 10^{-5} M) promoveu relaxamento concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles tratados com salina e celecoxibe (10 mg/kg/2x ao dia) durante sete dias. Os resultados demonstram que não foram observadas diferenças significativas entre os valores de Emax dos dois grupos controle (grupo salina: $100,31 \pm 3,19$); (grupo celecoxibe: $99,39 \pm 2,34$) na presença do endotélio, (figuras 13 e 14; tabela 10). Foi observada redução significativa da potência das artérias controles do grupo celecoxibe em relação às artérias controles do grupo tratado com salina (figuras 13 e 14; tabela 10).

Figura 13: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina (A) ou celecoxibe (B) durante sete dias. As figuras representam curvas concentrações-efeito para ACh (10^{-10} - 10^{-5} M). Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 5 - 6). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio.

A lesão por cateter balão não promove alteração no Emax da ACh nas artérias contra-laterais do grupo salina ($99,42 \pm 2,19$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($100,31 \pm 3,19$), na presença do endotélio (figuras 13 e 14; tabela 10).

Tabela 10: Valores de Emax e pD_2 (-log EC_{50}) da ACh em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais submetidos à lesão por balão cateterismo, Tratados com salina ou celecoxibe.

Grupos Endotélio +	Controle Salina	Controle Celecoxibe	Contra- lateral Salina	Contra- lateral Celecoxibe
Emax ± EPM	100,31 ± 3,19 (n=5)	99,39 ± 2,34 (n=6)	99,42 ± 2,19 (n=6)	99,83 ± 1,16 (n=6)
pD_2 ± EPM	7,14 ± 0,11 (n=5)	6,91 ± 0,03 [#] (n=6)	7,16 ± 0,09 (n=6)	7,13 ± 0,09 (n=6)

- Os dados representam à média ± EPM. **Emax** (valores de efeito máximo) Tratamento F: 0,01, P> 0,05; Cirurgia F: 0,001, P> 0,05. **Potência** (valores de pD_2) Tratamento F: 7,16, P< 0,05; Cirurgia F: 0,85, P> 0,05. # indica diferença significativa (P< 0,05) em relação ao grupo tratado com salina e à artéria contra-lateral tratada com celecoxibe. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento do grupo operado com celecoxibe, mantêm o valor de Emax da ACh na artéria contra-lateral (99,83 ± 1,16), nos mesmos níveis da artéria controle (99,39 ± 2,34), na presença de endotélio (figuras 13 e 14; tabela 10). Não foram verificadas diferenças significativas da potência (Valores de pD_2) da ACh nas artérias contra-laterais do tratamento com celecoxibe em relação ao das artérias controles e contra-laterais do grupo salina (tabela 14).

Figura 14: Efeito máximo de relaxamento (Emax) da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou celecoxibe durante sete dias. Efeito máximo de relaxamento (Emax) para ACh em artérias isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 5 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. Tratamento F: 0,01, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,001, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

- ✓ Concluindo, o tratamento com celecoxibe não modifica os valores de Emax da ACh nas artérias controles e contra-laterais em relação às artérias controles e contra-laterais dos animais tratados com salina. Porém, reduz a potência em artérias de animais controles tratados com celecoxibe.

8.5.0 - Conseqüências do tratamento realizado com óleo de milho durante sete dias sobre a reatividade a Phe em animais controles

A Phe (10^{-10} - 10^{-5} M) promoveu contração concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles e tratados óleo de milho (veículo do α -tocoferol) por sete dias. Os resultados demonstram que não foi observada diferença significativa entre os valores de E_{max} dos dois grupos controles (grupo salina $0,45 \pm 0,02$; grupo óleo de milho $0,44 \pm 0,03$), na presença do endotélio (figuras 15 e 16; tabela 11). Não foram observadas alterações na potência (Valores de pD_2) da Phe nas artérias estudadas, na presença de endotélio (tabela 11).

Figura 15: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles na presença de endotélio, tratados com salina e óleo de milho, durante sete dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L) na presença de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n=5$). **Cont. CE SALINA:** Artéria carótida controle com endotélio tratada com salina. **Cont. CE ÓLEO DE MILHO:** Artéria carótida controle com endotélio tratada com óleo de milho.

Figura 16: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles na presença de endotélio, tratados com salina e óleo de milho durante sete dias. Efeito máximo (Emax) para a Phe em artérias carótidas controles, tratados com salina e óleo de milho durante sete dias; na presença de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 5). **Cont. CE SALINA:** Artéria carótida controle com endotélio tratada com salina. **Cont. CE ÓLEO DE MILHO:** Artéria carótida controle com endotélio tratada com óleo de milho. Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio** (Teste *t*, não-pareado).

Tabela 11: Valores de Emax e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da Phe em artérias carótidas de animais controle na presença de endotélio, tratados com salina e óleo de milho durante sete dias.

Grupos Endotélio +	Controles Salina	Controles Óleo de milho
Emax $\pm$ EPM	0,45 $\pm$ 0,02 (n=5)	0,44 $\pm$ 0,03 (n=5)
$pD_2 \pm$ EPM	7,05 $\pm$ 0,18 (n=5)	7,22 $\pm$ 0,15 (n=5)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio** (Teste *t*, não-pareado).

- ✓ Concluindo, o óleo de milho não provoca mudanças nos valores da reatividade a Phe, como indicado pelos parâmetros de efeito máximo e potência, assim como acontece com a salina. Portanto, o grupo tratado com a salina será utilizado como comparação ao grupo tratado com α -tocoferol.

8.6.0 - Morfologia das artérias carótidas dos animais tratados com α -tocoferol por sete dias

A Figura 17 mostra as características morfológicas das artérias dos animais tratados por sete dias com α -tocoferol: carótidas controle, contra-lateral e ipsilateral.

As artérias provenientes de animais controle apresentam uma única camada de células endoteliais, três a quatro camadas de células de músculo liso, posicionadas em sentido circular ao lúmen do vaso. Foi observada a presença de fibras de colágeno característico da camada adventícia. As artérias contra-laterais a lesão por cateter balão tratados com α -tocoferol apresentam características morfológicas aparentemente similares às aquelas encontradas em artérias provenientes de animais controle.

As artérias ipsilaterais apresentaram ausência de camada endotelial, três ou quatro camadas de células de músculo liso.

O tratamento com α -tocoferol por sete dias não provoca mudanças significativas na morfologia das artérias controle, contra-lateral e ipsilateral em comparação as artérias dos animais tratados com salina.

Figura 17: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 4 dias após lesão por cateter balão e tratados com α -tocoferol. Coloração: Hematoxilina-Eosina. End: camada endotelial; med: camada média; adv: camada adventícia. Objetiva: 40x.

8.6.1 – Consequências do tratamento realizado com α -tocoferol durante sete dias sobre a reatividade a Phe

A Phe (10^{-10} - 10^{-5} M) promoveu contração concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles e tratados com α -tocoferol (400mg/kg/dia) por sete dias. Os resultados demonstram que não foi observada diferenças significativa entre os valores de Emax dos dois grupos controle (grupo salina $0,44 \pm 0,02$; grupo α -tocoferol $0,47 \pm 0,03$), na presença do endotélio (figuras 18 e 19; tabela 12). Em artérias sem endotélio os valores de Emax foram de $0,64 \pm 0,03$ para o grupo salina e de $0,67 \pm 0,02$ para o grupo α -tocoferol (figuras 18 e 19; tabela 12), deste modo, não encontramos diferenças entre essas artérias. Não foram observadas alterações na potência (Valores de pD_2) da Phe nos grupos estudados, na presença e na ausência de endotélio (tabela 13).

Figura 18: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou α -tocoferol (B) durante sete dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L) na presença ou na ausência d endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 3 - 7). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi.** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

A lesão promovida por cateter balão acarretou uma redução do Emax da Phe nas artérias ipsilaterais do grupo salina $0,27 \pm 0,02$, enquanto no grupo α -tocoferol esse valor foi de $0,15 \pm 0,02$ (figuras 18 e 19; tabela 12). Não foram observadas alterações na potência da Phe nos grupos estudados (tabela 13).

A lesão por cateter balão promove um aumento no Emax da Phe nas artérias contra-laterais do grupo salina ($0,58 \pm 0,03$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($0,44 \pm 0,03$), na presença do endotélio (figuras 18 e 19; tabela 12). Na ausência do endotélio os valores de Emax na artéria contra-lateral ($0,45 \pm 0,03$) foi da mesma magnitude ao valor observado na artéria controle com endotélio ($0,44 \pm 0,03$). Os valores de Emax das artérias contra-laterais sem endotélio ($0,45 \pm 0,03$), estão reduzidos significativamente em relação aos das artérias contra-laterais com endotélio ($0,58 \pm 0,03$) (figuras 18 e 19; tabela 12).

Tabela 12: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emax) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol por sete dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controle Salina	Controle α -Tocoferol	Contra-lateral Salina	Contra-lateral α -Tocoferol
Endotélio +	$0,44 \pm 0,02$ (n=5)	$0,47 \pm 0,03$ (n=5)	$0,58 \pm 0,03^{***}$ (n=5)	$0,50 \pm 0,02^{***}$ (n=5)
Endotélio -	$0,64 \pm 0,03$ (n=7)	$0,67 \pm 0,02$ (n=6)	$0,45 \pm 0,03^{###}$ (n=4)	$0,57 \pm 0,02^{\#}$ (n=6)
Ipsilateral	$0,27 \pm 0,02$ (n=3)	$0,15 \pm 0,04$ (n=3)	—	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 0,41, $P > 0,05$; Cirurgia F: 8,86, $P < 0,01$. (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria controle, e ao grupo tratado com α -tocoferol. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 8,81, $P < 0,05$; Cirurgia F: 28,97, $P < 0,0001$. (#) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação à artéria contra-lateral tratada com salina, (###) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação às artérias controles tratadas com salina ou α -tocoferol. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento com α -tocoferol do grupo operado, mantém o valor de Emax da Phe na artéria contra-lateral ($0,50 \pm 0,02$), para os mesmos níveis da artéria controle ($0,47 \pm 0,03$), na presença de endotélio (figuras 18 e 19; tabela 12). A retirada do endotélio promove um aumento significativo de Emax das artérias contra-laterais do grupo α -tocoferol ($0,57 \pm 0,02$) em relação ao valor observado na

artéria controle na presença de endotélio ($0,47 \pm 0,03$). Foram observadas alterações na potência (Valores de pD_2) da Phe das artérias sem endotélio (controles e contra-laterais) dos animais tratados com α -tocoferol em relação as suas respectivas artérias controles tratadas com salina. Entretanto, não houve mudanças na potência das artérias dos animais na presença de endotélio nos grupos estudados (tabela 13).

Tabela 13: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol por sete dias; na presença e na ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controle Salina	Controle α -Tocoferol	Contra-lateral Salina	Contra-lateral α -Tocoferol
Endotélio +	$7,05 \pm 0,18$ (n=5)	$7,34 \pm 0,15$ (n=5)	$7,03 \pm 0,05$ (n=5)	$7,52 \pm 0,10$ (n=5)
Endotélio -	$6,98 \pm 0,18$ (n=7)	$7,83 \pm 0,07^{###}$ (n=6)	$7,26 \pm 0,06$ (n=4)	$7,83 \pm 0,10^{##}$ (n=4)
Ipsilateral	$7,29 \pm 0,25$ (n=3)	$6,93 \pm 0,28$ (n=3)	—	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 10,60, $P < 0,01$; Cirurgia F: 0,28, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 25,94, $P < 0,0001$; Cirurgia F: 1,07, $P > 0,05$. (##) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação à artéria controle tratada com salina, (###) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria controle tratada com salina. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

Figura 19: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol durante sete dias. Cont.: Artéria carótida controle; Contra: Artéria carótida contra-lateral; Ipsi: Artéria carótida ipsilateral; CE: Com endotélio; SE: Sem endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 3 – 7). **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 0,41, $P > 0,05$; Cirurgia F: 8,86, $P < 0,01$. (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria controle e ao grupo tratado com α -tocoferol. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 8,81, $P < 0,05$; Cirurgia F: 28,97, $P < 0,0001$. (#) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação à artéria contra-lateral tratada com salina, (###) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação às artérias controles tratadas com salina ou α -tocoferol. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

- ✓ Em síntese, em relação aos animais que receberam salina, o tratamento com α -tocoferol normaliza os valores de Emax da Phe nas artérias contra-laterais.

8.6.2 – Consequências do tratamento realizado com α -tocoferol durante sete dias sobre a reatividade ao KCl

O KCl (10 a 120 mM) promoveu contração concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles tratados com salina e α -tocoferol (400mg/kg/dia) durante sete dias. Os resultados demonstram que, foi observada nenhuma alteração significativa entre os valores de E_{max} dos dois grupos controle (grupo salina: $0,44 \pm 0,04$); (grupo α -tocoferol $0,49 \pm 0,03$) na presença do endotélio, (figuras 20 e 21; tabela 14). Em artérias sem endotélio os valores de E_{max} foram de ($0,41 \pm 0,05$) para o grupo salina e de ($0,48 \pm 0,02$) para o grupo α -tocoferol, na ausência de endotélio, (figuras 20 e 21; tabela 14). Não foram observadas alterações na potência (Valores de pD_2) do KCl entre artérias nos grupos estudados, na presença e ausência de endotélio, (tabela 15).

Figura 20: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas isoladas de controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou α -tocoferol (B) durante sete dias. As figuras representam curvas concentrações-efeito para KCl (10-120 mM), na presença e ausência de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 4 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. **SE:** Sem endotélio.

A lesão por cateter balão não acarreta diferenças significativas no E_{max} do KCl nas artérias contra-laterais do grupo salina ($0,45 \pm 0,04$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($0,44 \pm 0,04$), na presença do endotélio (figuras 20 e 21; tabela 14). Na ausência do endotélio os valores de

Emax nas artérias contra-laterais ($0,44 \pm 0,04$) foi da mesma magnitude ao valor observado na artéria controle com endotélio ($0,44 \pm 0,04$), (figuras 20 e 21; tabela 14). O valor de Emax das artérias contra-laterais sem endotélio ($0,44 \pm 0,04$), não apresenta mudanças em relação ao das artérias contra-laterais com endotélio ($0,45 \pm 0,04$), (figuras 20 e 21; tabela 14).

Tabela 14: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emax) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol por sete dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controles Salina	Controles α -Tocoferol	Contra-laterais Salina	Contra-laterais α -Tocoferol
ENDOTÉLIO +	$0,44 \pm 0,04$ (n=5)	$0,49 \pm 0,03$ (n=5)	$0,45 \pm 0,04$ (n=6)	$0,48 \pm 0,03$ (n=5)
ENDOTÉLIO -	$0,41 \pm 0,05$ (n=6)	$0,48 \pm 0,02$ (n=5)	$0,44 \pm 0,04$ (n=4)	$0,47 \pm 0,03$ (n=4)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 1,45 $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,01, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 1,68, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,18, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento com α -tocoferol do grupo operado, mantém o valor de Emax do KCl na artéria contra-lateral ($0,48 \pm 0,03$), nos mesmos níveis da artéria controle ($0,49 \pm 0,03$), na presença de endotélio (figuras 20 e 21; tabela 14). A retirada do endotélio não provoca mudanças no Emax das artérias contra-laterais do grupo α -tocoferol ($0,47 \pm 0,03$) em relação ao valor observado na artéria controle, na presença de endotélio ($0,49 \pm 0,03$). O valor de Emax nas contra-laterais na ausência de endotélio ($0,47 \pm 0,03$), foi da mesma magnitude ao valor observado nas artérias contra-laterais, na presença de endotélio ($0,48 \pm 0,03$) (figuras 20 e 21; tabela 14). Não foram observados alterações da potência (Valores de pD_2) do KCl entre as artérias controles e contra-laterais de animais dos grupos tratados com salina e α -tocoferol (tabela 15).

Tabela 15: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para o KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol por sete dias; na presença e ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controles Salina	Controles α -Tocoferol	Contra-laterais Salina	Contra-laterais α -Tocoferol
ENDOTÉLIO +	$1,57 \pm 0,03$ (n=5)	$1,49 \pm 0,02$ (n=5)	$1,63 \pm 0,06$ (n=6)	$1,53 \pm 0,04$ (n=5)
ENDOTÉLIO -	$1,65 \pm 0,04$ (n=6)	$1,63 \pm 0,03$ (n=5)	$1,65 \pm 0,02$ (n=4)	$1,53 \pm 0,03$ (n=4)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 4,64 $P < 0,05$; Cirurgia F: 1,34, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 4,25, $P > 0,05$; Cirurgia F: 1,37, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

Figura 21: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol durante sete dias, na presença e ausência de endotélio. Efeito máximo (Emax) para o KCl em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol durante sete dias; na presença e ausência de endotélio. Os dados, obtidos em curvas concentrações-efeito para KCl (10-120 mM), representam a média $\pm$ EPM (n= 4 - 6). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. **SE:** Sem endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM. Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 1,45 $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,01, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 1,68, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,18, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

- ✓ Em suma, os resultados revelam que o tratamento com α -tocoferol não modifica os valores do Emax do KCl nas artérias dos animais controles e operados em relação ao dos animais tratados com salina.

8.6.3 – Conseqüências do tratamento realizado com α -tocoferol durante sete dias sobre a reatividade a ACh

A ACh (10^{-10} - 10^{-5} M) promoveu relaxamento concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles tratados com salina e α -tocoferol (400 mg/kg/dia) por sete dias. Os resultados demonstram que não foram observadas diferenças significativas entre os valores de E_{max} dos dois grupos controle (grupo salina: $100,31 \pm 3,19$); (grupo α -tocoferol: $101,66 \pm 3,45$) na presença do endotélio, (figuras 22 e 23; tabela 16). Foi observada redução significativa da potência (Valores de pD_2) das artérias controles do grupo α -tocoferol em relação às artérias controles do grupo tratado com salina (figuras 22 e 23; tabela 16).

Figura 22: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina (A) ou α -tocoferol (B) durante sete dias. As figuras representam curvas concentrações-efeito para ACh (10^{-10} - 10^{-5} M). Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 5 - 6). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio.

A lesão por cateter balão não promove alteração no E_{max} da ACh nas artérias contra-laterais do grupo salina ($99,42 \pm 2,19$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($100,31 \pm 3,19$), na presença do endotélio (figuras 22 e 23; tabela 16).

Tabela 16: Valores de E_{max} e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da ACh em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais submetidos à lesão por balão cateterismo, Tratados com salina ou α -tocoferol.

Grupos Endotélio +	Controle Salina	Controle α -Tocoferol	Contra-lateral Salina	Contra-lateral α -Tocoferol
$E_{max} \pm EPM$	100,31 $\pm$ 3,19 (n=5)	101,66 $\pm$ 3,45 (n=5)	99,42 $\pm$ 2,19 (n=6)	100,57 $\pm$ 1,57 (n=6)
$pD_2 \pm EPM$	7,14 $\pm$ 0,11 (n=5)	6,78 $\pm$ 0,12 [#] (n=5)	7,16 $\pm$ 0,09 (n=6)	7,13 $\pm$ 0,09 (n=6)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **E_{max}** (valores de efeito máximo) Tratamento F: 0,23, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,15, $P > 0,05$. **Potência** (Valores de pD_2) Tratamento F: 3,85, $P > 0,05$; Cirurgia F: 3,45, $P > 0,05$. (#) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo tratado com salina (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento com α -tocoferol do grupo operado, mantém o valor de E_{max} da ACh na artéria contra-lateral (100,57 $\pm$ 1,57), nos mesmos níveis da artéria controle (100,66 $\pm$ 3,45), na presença de endotélio (figuras 22 e 23; tabela 16). Foi encontrada redução significativa da potência (Valores de pD_2) da ACh nas artérias controles tratados com α -tocoferol em relação as artérias controles e contra-laterais do grupo salina, e contra-laterais do grupo α -tocoferol (tabela 16).

- ✓ Os resultados demonstram que, o tratamento com α -tocoferol não modifica o E_{max} para ACh nas artérias controles e contra-laterais quando comparadas as artérias controles e contra-laterais do tratamento com salina.

Figura 23: Efeito máximo de relaxamento (E_{max}) da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou α -tocoferol durante sete dias. Efeito máximo de relaxamento (E_{max}) para ACh em artérias isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 5 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. - Os dados representam à média $\pm$ EPM. Tratamento F: 0,13, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,39, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

8.7.0 – Morfologia das artérias carótidas após dezoito dias de tratamento com salina

Os estudos morfológicos das artérias tratadas com losartan durante 18 dias. Através da coloração por Hematoxilina-Eosina em artérias controle, ipsilateral e contra-lateral à lesão endotelial por cateter balão.

A coloração histológica por Hematoxilina-Eosina evidencia na coloração azul (Hematoxilina) estruturas celulares como, núcleo, proteínas ácidas do citoplasma e proteoglicanas. Na coloração rosa (eosina) é possível identificar filamentos protéicos do citoesqueleto, fibras colágenas e proteínas mitocondriais.

Na artéria de animais controle é possível observar três a quatro camadas de células de músculo liso, posicionadas em sentido circular ao lúmen do vaso. As características morfológicas da artéria contra-lateral à lesão são às observadas em artérias de animais controle.

Por outro lado, a artéria ipsilateral apresentou a formação de camada neoíntima espessa caracterizando a lesão desencadeada pelo cateter balão. A camada neoíntima é formada pela proliferação e migração de células musculares lisas (Figura 24).

Figura 24: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 15 dias após cateter balão. Coloração: Hematoxilina-Eosina. End: Camada endotelial; Med: camada média; Adv: Camada adventícia; Neo: Camada neoíntima. Objetiva: 40x.

8.7.1 - Consequência da lesão por cateter balão sobre contração induzida pela Angiotensina II (Ang II) após dezoito dias de tratamento com salina

Os resultados demonstram que a lesão por balão cateter promove aumento significativo no parâmetro farmacológico de Emax da Ang II em artérias contra-laterais de animais submetidos à lesão com endotélio ($0,39 \pm 0,01$), quando comparado ao de artérias de animais controles ($0,28 \pm 0,01$). Este parâmetro está reduzido em artérias ipsilaterais ($0,17 \pm 0,02$), onde o endotélio foi retirado mecanicamente (Figuras 25 e 26; tabela 17).

Figura 25: Efeito contrátil da Ang II em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante 18 dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L) na presença ou na ausência de endotélio. Os dados representam a média $\pm$ EPM ($n = 3 - 7$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi.** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

Na ausência de endotélio, este parâmetro não está modificado nas artérias contra-laterais ($0,36 \pm 0,01$) a lesão em relação ao controle, sem endotélio ($0,37 \pm 0,03$), (Figuras 25 e 26; tabela 17).

Figura 26: Efeito contrátil máximo (Emax) da Ang II (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com Salina durante dezoito dias. Efeito máximo (Emax) para a Phe em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante sete dias; na presença e ausência de endotélio, se necessário. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n=3-7$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi.** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio. **Artérias com endotélio (***)** indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria controle tratada com salina. **Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Tabela 17: Valores de Efeito máximo (Emax) da Ang II (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	0,28 $\pm$ 0,01 ($n=4$)	0,39 $\pm$ 0,01*** ($n=4$)
Endotélio -	0,37 $\pm$ 0,03 ($n=3$)	0,36 $\pm$ 0,01 ($n=3$)
Ipsi	0,17 $\pm$ 0,01*** ($n=3$)	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n=3-4$). **Artérias com endotélio: (***)** indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria controle tratada com salina. **Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Foram também analisados os parâmetros de potência (valores de pD_2) e não sendo observada alteração nos diferentes grupos (tabela 18).

Tabela 18: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Ang II em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por sete dias; na presença e na ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	$9,04 \pm 0,06$ (n=4)	$9,20 \pm 0,07$ (n=4)
Endotélio -	$8,89 \pm 0,19$ (n=3)	$9,14 \pm 0,03$ (n=3)
Ipsi	$8,72 \pm 0,13$ (n=3)	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste *t*, não-pareado).

- ✓ Em síntese, a lesão por cateter balão aumenta o Emax contrátil a Ang II aos 15 dias da lesão em artérias contra-laterais com endotélio comparativamente a reatividade observada em artérias de animais controle e esta resposta não é modulada pelo endotélio.

8.7.2 - Consequência da lesão por cateter balão sobre contração induzida pela Phe após dezoito dias de tratamento com salina

Os resultados demonstram que a lesão por balão cateter após quinze dias, não promove alterações significativas no parâmetro farmacológico de Emax da Phe em artérias contra-laterais de animais submetidos à lesão, com endotélio ($0,39 \pm 0,02$) e sem endotélio ($0,50 \pm 0,04$), quando comparado ao de artérias de animais controles na presença ($0,39 \pm 0,03$) e na ausência de endotélio ($0,56 \pm 0,02$), (Figuras 27 e 28 ; tabela 19).

Figura 27: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante 18 dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L) na presença ou na ausência de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n= 3 - 7$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **ipsi.** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

Não foram observadas alterações significativas na potência (valores de pD_2) da Phe (tabela 20).

Figura 28: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina durante dezoito dias. Efeito máximo (Emax) para a Phe em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com Salina durante dezoito dias; na presença e ausência de endotélio, se necessário. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 5 - 8$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Tabela 19: Valores de Efeito máximo (Emax) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	0,39 $\pm$ 0,03 (n=5)	0,39 $\pm$ 0,02 (n=8)
Endotélio -	0,56 $\pm$ 0,02 (n=6)	0,50 $\pm$ 0,02 (n=8)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Tabela 20: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por dezoito dias; na presença e na ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	$7,47 \pm 0,15$ (n=5)	$7,37 \pm 0,11$ (n=8)
Endotélio -	$7,59 \pm 0,13$ (n=6)	$7,65 \pm 0,06$ (n=8)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio e Artérias sem endotélio** (Teste t, não-pareado).

- ✓ Em síntese, a lesão por cateter balão não provoca mudanças significativas nas curvas concentrações-resposta da Phe após quinze dias de lesão e 18 dias de tratamento com salina.

8.7.3 - Consequência da lesão por cateter balão sobre contração induzida pelo KCl após quinze dias de lesão

O KCl desencadeou uma contração concentração-dependente (10 a 120 mM) nas artérias carótidas de animais controles (com endotélio: $0,51 \pm 0,01$; sem endotélio: $0,55 \pm 0,04$) e contra-laterais (com endotélio: $0,30 \pm 0,01$; sem endotélio: $0,54 \pm 0,02$), de animais submetidos a lesão por balão cateterismo, (figura 29). O parâmetro de Emax está reduzido na artéria contra-lateral tratada com salina, na presença de endotélio em relação à artéria contra-lateral sem endotélio, e artérias controles na presença e ausência de endotélio, (figuras 29 e 30; tabela 21).

Figura 29: Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina durante dezoito dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para o KCl (10 a 120 mM) na presença ou na ausência de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 6 - 7). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

A potência (valores de pD_2) do KCl não sofreu alterações com a lesão por balão cateterismo, tabela 22.

Figura 30: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina durante dezoito dias. Efeito máximo (Emax) para o KCl em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com Salina durante sete dias; na presença e ausência de endotélio. Os dados, obtidos em curvas concentrações-efeito para KCl (10-120 mM), representam a média $\pm$ EPM ($n = 6 - 7$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. **SE:** Sem endotélio. **Artérias com endotélio:** (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria controle tratada com salina. **Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Tabela 21: Valores de Efeito máximo (Emax) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	0,51 $\pm$ 0,01 (n=6)	0,30 $\pm$ 0,01*** (n=5)
Endotélio -	0,55 $\pm$ 0,04 (n=7)	0,54 $\pm$ 0,02 (n=7)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria contra-lateral tratada com salina. **Artérias sem endotélio** (Teste t , não-pareado).

Tabela 22: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina por dezoito dias; na presença e na ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controle Salina	Contra-lateral Salina
Endotélio +	$1,54 \pm 0,02$ (n=6)	$1,56 \pm 0,02$ (n=5)
Endotélio -	$1,53 \pm 0,02$ (n=7)	$1,52 \pm 0,06$ (n=7)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 5 – 7). (Teste *t*, não-pareado).

- ✓ Em síntese, a contração desencadeada pelo KCl foi reduzida na artéria contra-lateral na presença de endotélio 15 dias após a lesão e o tratamento por 18 dias com salina não o reverte.

8.7.4 - Consequência da lesão por cateter balão sobre o relaxamento induzido pelo ACh após quinze dias de lesão

A ACh promoveu relaxamento dependente da concentração (10^{-10} - 10^{-5} M) nas artérias carótidas de animais controle ($100,72 \pm 3,27$) e artérias contra-laterais de animais operados ($102,12 \pm 2,34$). Não foram observadas alterações nos valores de E_{max} ou pD_2 , figuras 31 e 32; tabela 23.

Figura 31: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina durante dezoito dias. As figuras representam curvas concentrações-efeito para ACh (10^{-10} - 10^{-5} M). Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n=5-6$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio. (Teste t , não-pareado).

Figura 32: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina durante sete dias. As figuras representam curvas concentrações-efeito para ACh (10^{-10} - 10^{-5} M). Os dados representam à média $\pm$ EPM (n= 5 - 6). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio. (Teste *t*, não-pareado).

Tabela 23: Valores de Emax e pD_2 ($-\log EC_{50}$) da ACh em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais submetidos à lesão por balão cateterismo, Tratados com salina.

Grupos Endotélio +	Controles Salina	Contra-laterais Salina
Emax $\pm$ EPM	100,72 $\pm$ 3,27 (n=5)	102,12 $\pm$ 3,35 (n=5)
$pD_2 \pm$ EPM	7,00 $\pm$ 0,09 (n=5)	7,04 $\pm$ 0,25 (n=5)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. (Teste *t*, não-pareado).

- ✓ Em síntese, a lesão por balão cateterismo e o tratamento com salina não alterou o efeito relaxante da ACh, sugerindo que não ocorrem alterações no relaxamento dependente do endotélio.

8.8.0 – Morfologia das artérias carótidas controles e contra-laterais dos animais tratados com losartan por 18 dias

Os estudos morfológicos foram realizados em animais controles e operados, tratados com losartan por 18 dias através da coloração por Hematoxilina-Eosina em artérias controle, ipsilateral e contra-lateral à lesão endotelial por cateter balão.

Na artéria de animais controle é possível observar três a quatro camadas de células de músculo liso, posicionadas em sentido circular ao lúmen do vaso. As características morfológicas da artéria contra-lateral à lesão são às observadas em artérias de animais controle.

Por outro lado, a artéria ipsilateral apresentou a formação de camada neoíntima espessa caracterizando a lesão desencadeada pelo cateter balão. A camada neoíntima é formada pela proliferação e migração de células musculares lisas (Figura 33).

O tratamento não promove nenhuma alteração significativa na morfologia na morfologia das artérias controle, contra-lateral e ipsilateral tratadas com losartan por 18 dias em relação as artérias tratadas com salina.

Figura 33: Cortes histológicos representativos de artérias carótidas controle, ipsilateral e contra-lateral, de animais intactos e 15 dias após lesão por cateter balão e tratados com losartan. Coloração: Hematoxilina-Eosina. End: Camada endotelial; Med: camada média; Adv: Camada adventícia; Neo: Camada neoíntima. Objetiva: 40x.

8.8.1 – Conseqüências do tratamento realizado com losartan durante 18 dias sobre a reatividade a Ang II

No presente trabalho foi estudado as conseqüências do tratamento com losartan (15 mg/kg/dia) por dezoito dias, em animais controles e que sofreram lesão por cateter balão, sob reatividade à Ang II (10^{-12} - 10^{-7} M). Foram feitas curvas concentrações-efeito para Ang II em carótidas destes animais, na presença ou na ausência de endotélio.

A Ang II promoveu contração concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles tratados com losartan. Os resultados demonstram que foi observada aumento significativo entre os valores de E_{max} dos dois grupos controle (grupo salina $0,28 \pm 0,01$; grupo losartan $0,21 \pm 0,02$), na presença do endotélio, (figuras 34 e 35; tabela 24). Em artérias sem endotélio os valores de E_{max} foram de $0,37 \pm 0,03$ para o grupo salina, aumentados significativamente em relação ao valor de $0,29 \pm 0,02$ para o grupo losartan, (figuras 34 e 35; tabela 24). Não foram observadas alterações significativas da potência (valores de pD_2) da Ang II nas artérias do grupo controle na ausência de endotélio, entretanto, nas artérias com endotélio foi encontrado uma redução significativa da potência em relação as artérias do grupo controle (tabela 25).

Figura 34: Efeito contrátil da Ang II em artérias carótidas isoladas de animais controles e à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou losartan (B) durante dezoito dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para Ang II (10^{-12} a 10^{-7} mol/L). Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 3 - 8$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi:** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

A lesão promovida por cateter balão acarretou uma redução significativa do Emax da Ang II nas artérias ipsilaterais do grupo salina $0,17 \pm 0,01$, enquanto no grupo losartan esse valor foi de $0,12 \pm 0,02$ (figuras 34 e 35; tabela 24). Foi observada redução significativa na potência da Ang II na artéria ipsilateral do grupo tratado com losartan (tabela 25).

A lesão por cateter balão promove um aumento no Emax da Ang II nas artérias contra-laterais do grupo salina ($0,39 \pm 0,01$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($0,28 \pm 0,01$), na presença do endotélio, (figuras 34 e 35; tabela 24). Na ausência do endotélio os valores de Emax na artéria contra-lateral ($0,36 \pm 0,01$) estava aumentado significativamente em relação ao valor observado na artéria controle com endotélio ($0,28 \pm 0,01$). Os valores de Emax das artérias contra-laterais sem endotélio ($0,36 \pm 0,01$), foi da mesma magnitude do valor encontrado em artérias contra-laterais com endotélio ($0,39 \pm 0,01$), (figuras 34 e 35; tabela 24).

Tabela 24: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emax) da Ang II (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais e ipsilaterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controle Salina	Controle Losartan	Contra-lateral Salina	Contra-lateral Losartan
Endotélio +	$0,28 \pm 0,01$ (n=4)	$0,21 \pm 0,02$ (n=7) * ***	$0,39 \pm 0,01$ (n=4) ***	$0,23 \pm 0,03$ (n=8) ***
Endotélio -	$0,37 \pm 0,03$ (n=3)	$0,29 \pm 0,02$ (n=5)	$0,36 \pm 0,01$ (n=3)	$0,34 \pm 0,02$ (n=8)
Ipsi	$0,17 \pm 0,01$ (n=3)	$0,12 \pm 0,01$ (n=3)	—	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 16,90, $P < 0,001$; Cirurgia F: 5,86, $P < 0,05$. (*) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação a artéria controle tratada com salina, (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação às artérias controles (salina e losartan) e contra-lateral tratada com losartan. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 3,74, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,45, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento com losartan do grupo operado, mantém o valor de Emax da Ang II na artéria contra-lateral ($0,23 \pm 0,03$), para os mesmos níveis da artéria controle ($0,21 \pm 0,02$), na presença de endotélio (figuras 34 e 35; tabela 24). A retirada do endotélio promove um aumento significativo de Emax das artérias contra-laterais do grupo losartan ($0,34 \pm 0,02$) em relação ao valor observado na

artéria controle na presença de endotélio ($0,21 \pm 0,02$). Os valores de E_{max} das artérias contra-lateral, na ausência de endotélio ($0,34 \pm 0,02$), esta aumentado significativamente em relação ao valor observado nas artérias contra-laterais com endotélio ($0,23 \pm 0,03$), (figuras 34 e 35; tabela 24). Não foram observadas alterações na potência da Ang II nas artérias dos grupos estudados, exceto para as artérias controles dos animais tratados com losartan com endotélio, que tem uma redução significativa em relação às artérias contra-laterais, com endotélio, tratadas e não tratadas com losartan (tabela 25).

Tabela 25: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para a Ang II em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias; na presença e na ausência de endotélio.

Grupos $E_{max} \pm EPM$	Controle Salina	Controle Losartan	Contra-lateral Salina	Contra-lateral Losartan
Endotélio +	$9,04 \pm 0,06$ (n=4)	$8,61 \pm 0,24^*$ (n=7)	$9,20 \pm 0,07$ (n=4)	$8,81 \pm 0,33$ (n=8)
Endotélio -	$8,89 \pm 0,19$ (n=3)	$9,41 \pm 0,22$ (n=5)	$9,14 \pm 0,03$ (n=3)	$9,38 \pm 0,12$ (n=8)
Ipsi	$8,72 \pm 0,13$ (n=3)	$6,62 \pm 0,79$ (n=3)	—	—

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 5,88, $P < 0,05$; Cirurgia F: 0,21, $P < 0,05$. (*) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo tratado com salina e à artéria contra-lateral tratada com losartan. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 4,39, $P < 0,05$; Cirurgia F: 0,38, $P < 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

- ✓ Em síntese, os resultados revelam que o tratamento dos animais com losartan bloqueia o aumento do Emax da Ang II na artéria contra-lateral e reduz o Emax da Ang II observado nas artérias controles com endotélio em relação a animais que receberam tratamento com salina.

Figura 35: Efeito contrátil máximo (Emax) da Ang II (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan durante dezoito dias. Efeito máximo (Emax) para a Ang II em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan durante dezoito dias; na presença e ausência de endotélio, se necessário. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 3 - 8$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **Ipsi.** Artéria carótida ipsilateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio. Tratamento F: 16,90, $P < 0,001$; Cirurgia F: 5,86, $P < 0,05$. **Artérias com endotélio:** (*) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação a artéria controle tratada com salina, (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação às artérias controles (salina e losartan) e contra-lateral tratada com losartan. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 3,74, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,45, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

8.8.2 – Conseqüências do tratamento realizado com losartan durante 18 dias sobre a reatividade a Phe

A Phe (10^{-10} - 10^{-5} M) promoveu contração concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles tratados com salina e losartan (15 mg/kg/dia). Os resultados demonstram que não foram observadas diferenças significativas entre os valores de Emax dos dois grupos controle (grupo salina: $0,39 \pm 0,03$); (grupo losartan $0,36 \pm 0,02$) na presença do endotélio, (figuras 36 e 37; tabela 26). Em artérias sem endotélio os valores de Emax foram de ($0,56 \pm 0,02$) para o grupo salina e de $0,56 \pm 0,03$ para o grupo losartan, na ausência de endotélio, (figuras 36 e 37; tabela 26). Não foram observadas alterações significativas na potência (Valores de pD_2) da Phe entre artérias controles dos grupos estudados, na presença de endotélio, (tabela 27).

Figura 36: Efeito contrátil da Phe em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina (A) ou losartan (B) durante dezoito dias. As figuras representam as curvas cumulativas concentrações-efeito para Phe (10^{-10} a 10^{-5} mol/L) na presença ou na ausência d endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 5 - 8$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio.

A lesão por cateter balão não promove alteração no Emax da Phe nas artérias contra-laterais do grupo salina ($0,39 \pm 0,02$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($0,39 \pm 0,03$), na presença do endotélio, (figuras 36 e 37; tabela 26). Na ausência do endotélio os valores de Emax na artéria

contra-lateral ($0,50 \pm 0,04$) teve um aumento significativo em relação ao valor observado na artéria controle com endotélio ($0,39 \pm 0,03$), (figuras 36 e 37; tabela 26).

Tabela 26: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emáx) da Phe (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controles Salina	Controles Losartan	Contra-laterais Salina	Contra-laterais Losartan
ENDOTÉLIO +	$0,39 \pm 0,03$ (n=5)	$0,36 \pm 0,02$ (n=6)	$0,39 \pm 0,02$ (n=8)	$0,30 \pm 0,01^*$ (n=5)
ENDOTÉLIO -	$0,56 \pm 0,02$ (n=6)	$0,56 \pm 0,03$ (n=5)	$0,50 \pm 0,04$ (n=8)	$0,40 \pm 0,02^{\#}$ (n=6)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 6,68, $P < 0,05$; Cirurgia F: 1,78, $P > 0,05$. (*) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação à artéria contra-lateral tratada com salina. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 4,12, $P > 0,05$; Cirurgia F: 5,95, $P < 0,05$. (#) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle tratado com salina. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento com losartan do grupo operado, reduz o valor de Emax da Phe na artéria contra-lateral ($0,30 \pm 0,01$), para níveis abaixo da artéria controle ($0,36 \pm 0,02$), na presença de endotélio (figuras 36 e 37; tabela 26). A retirada do endotélio promove valores semelhantes de Emax nas artérias contra-laterais do grupo losartan ($0,40 \pm 0,02$) em relação ao valor observado na artéria controle, na presença de endotélio ($0,36 \pm 0,02$). Os valores de Emax da Phe nas artérias contra-laterais, na ausência de endotélio ($0,40 \pm 0,02$), está no mesmo nível em relação ao valor observado nas artérias contra-laterais com endotélio ($0,30 \pm 0,01$). Não foram observadas alterações na potência da Phe nos grupos estudados (tabela 27).

Tabela 27: Comparação entre Valores de pD_2 da Phe ($-\log EC_{50}$) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controles Salina	Controles Losartan	Contra-laterais Salina	Contra-laterais Losartan
ENDOTÉLIO +	7,47 $\pm$ 0,15 (n=5)	7,65 $\pm$ 0,17 (n=6)	7,37 $\pm$ 0,11 (n=8)	7,19 $\pm$ 0,14 (n=5)
ENDOTÉLIO -	7,59 $\pm$ 0,13 (n=6)	7,70 $\pm$ 0,31 (n=5)	7,65 $\pm$ 0,06 (n=8)	7,39 $\pm$ 0,18 (n=6)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 2,21, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,13, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 0,02, $P < 0,05$; Cirurgia F: 0,61, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

- ✓ Em síntese, os resultados demonstram que o tratamento dos animais com losartan promove uma redução do Emax da Phe nas artérias contra-laterais, na presença e ausência de endotélio, em relação à dos animais tratados com salina.

Figura 37: Efeito contrátil máximo (Emax) da Phe (dados em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina losartan durante dezoito dias. Efeito máximo (Emax) para a Phe em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratadas com salina ou losartan durante dezoito dias; na presença e ausência de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 5 - 8$). Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio; **SE:** Sem endotélio. Tratamento F: 6,68, $P < 0,05$; Cirurgia F: 1,78, $P > 0,05$. **Artérias com endotélio:** (*) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação à artéria contra-lateral tratada com salina. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 4,12, $P > 0,05$; Cirurgia F: 5,95, $P < 0,05$. (#) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle tratado com salina. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

8.8.3 – Conseqüências do tratamento realizado com losartan durante 18 dias sobre a reatividade ao KCl

No presente trabalho foi estudado as conseqüências do tratamento com losartan (15 mg/kg/dia) por dezoito dias, em animais controles e que sofreram lesão por cateter balão, sob reatividade ao KCl (10 a 120 mM). Foram feitas curvas concentrações-efeito para o KCl em carótidas destes animais, na presença ou na ausência de endotélio.

O KCl promoveu contração concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles tratados com salina e losartan. Os resultados demonstram que, não foi observada nenhuma alteração significativa entre os valores de E_{max} dos dois grupos controles (grupo salina: $0,51 \pm 0,01$); (grupo losartan $0,53 \pm 0,04$) na presença do endotélio, (figuras 38 e 39; tabela 28). Em artérias sem endotélio os valores de E_{max} foram de ($0,55 \pm 0,04$) para o grupo salina e de ($0,51 \pm 0,01$) para o grupo losartan, na ausência de endotélio, (figuras 38 e 39; tabela 28). Não foram observadas alterações na potência (Valores de pD_2) do KCl entre artérias nos grupos estudados, na presença e ausência de endotélio, (tabela 29).

Figura 38. Efeito contrátil do KCl em artérias carótidas de animais controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina (A) ou losartan (B) durante dezoito dias. As figuras representam curvas concentrações-efeito para KCl (10-120 mM), na presença e ausência de endotélio. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 5 - 7$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. **SE:** Sem endotélio.

A lesão por cateter balão promove redução significativa no Emax do KCl nas artérias contra-laterais do grupo salina ($0,30 \pm 0,01$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados na presença do endotélio ($0,51 \pm 0,01$) (figuras 38 e 39; tabela 28). Na ausência do endotélio os valores de Emax nas artérias contra-laterais ($0,49 \pm 0,03$) foi da mesma magnitude ao valor observado na artéria controle com endotélio ($0,51 \pm 0,01$), (figuras 38 e 39; tabela 28). O valor de Emax das artérias contra-laterais sem endotélio ($0,44 \pm 0,04$), apresentam aumento significativo em relação ao valor das artérias contra-laterais com endotélio ($0,30 \pm 0,01$), (figuras 38 e 39; tabela 28).

Tabela 28: Comparação entre Valores de Efeito máximo (Emax) do KCl (dado em gramas) em artérias carótidas isoladas de animais controles, contra-laterais submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Emax $\pm$ EPM	Controles Salina	Controles Losartan	Contra-laterais Salina	Contra-laterais Losartan
ENDOTÉLIO +	$0,51 \pm 0,01$ (n=6)	$0,53 \pm 0,04$ (n=6)	$0,30 \pm 0,01^{***}$ (n=5)	$0,28 \pm 0,01^{***}$ (n=7)
ENDOTÉLIO -	$0,55 \pm 0,04$ (n=7)	$0,51 \pm 0,01$ (n=6)	$0,54 \pm 0,02$ (n=7)	$0,49 \pm 0,03$ (n=7)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 1,87, $P > 0,05$; Cirurgia F: 48,49, $P < 0,001$. (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação às artérias controles (salina e losartan). **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 9,35, $P < 0,01$; Cirurgia F: 3,54, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento com losartan do grupo operado, acarreta numa redução significativa para o valor de Emax do KCl na artéria contra-lateral ($0,28 \pm 0,01$), em relação ao da artéria controle ($0,53 \pm 0,04$), na presença de endotélio (figuras 38 e 39; tabela 28). A retirada do endotélio não provoca mudanças no Emax das artérias contra-laterais do grupo losartan ($0,49 \pm 0,03$) em relação ao valor observado na artéria controle, na presença de endotélio ($0,53 \pm 0,04$), (figuras 38 e 39; tabela 28). O valor de Emax nas contra-laterais na ausência de endotélio ($0,49 \pm 0,03$), esta aumentado significativamente em relação ao valor observado nas artéria da artérias contra-laterais, na presença de endotélio ($0,28 \pm 0,01$), (figuras 38 e 39; tabela 28). Foram observados aumentos significativos da potência do KCl nas artérias controles e contra-laterais de animais dos grupos tratados com losartan, na

ausência de endotélio, em relação a suas respectivas artérias com endotélio (tabela 29).

Tabela 29: Comparação entre Valores de pD_2 ($-\log EC_{50}$) para o KCl em artérias carótidas isoladas de animais controles ou submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias; na presença e ausência de endotélio.

Grupos $pD_2 \pm EPM$	Controles Salina	Controles Losartan	Contra-laterais Salina	Contra-laterais Losartan
ENDOTÉLIO +	$1,54 \pm 0,02$ (n=6)	$1,46 \pm 0,04$ (n=6)	$1,56 \pm 0,02$ (n=5)	$1,52 \pm 0,02$ (n=7)
ENDOTÉLIO -	$1,53 \pm 0,02$ (n=7)	$1,67 \pm 0,0$ (n=6)	$1,52 \pm 0,06$ (n=7)	$1,65 \pm 0,02$ (n=7)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 4,77, $P < 0,05$; Cirurgia F: 0,02, $P > 0,05$. **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 0,37, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,02, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

- ✓ Em síntese, o tratamento com losartan não reverte a redução significativa que é observado nas artérias contra-laterais na presença de endotélio dos animais tratados com salina.

Figura 39: Efeito contrátil máximo (Emax) do KCl (dados em gramas) em artérias carótidas controle e contra-laterais a cirurgia realizada com cateter balão, tratados com salina ou losartan durante dezoito dias, na presença e ausência de endotélio. Efeito máximo (Emax) para o KCl em artérias carótidas controles e submetidas à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan durante dezoito dias; na presença e ausência de endotélio. Os dados, obtidos em curvas concentrações-efeito para KCl (10-120 mM), representam a média $\pm$ EPM ($n = 5 - 7$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. **SE:** Sem endotélio. **Artérias com endotélio:** Tratamento F: 1,87, $P > 0,05$; Cirurgia F: 48,49, $P < 0,001$. (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação às artérias controles (salina e losartan). **Artérias sem endotélio:** Tratamento F: 9,35, $P < 0,01$; Cirurgia F: 3,54, $P > 0,05$. (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

8.8.4 – Conseqüências do tratamento realizado com losartan durante 18 dias sobre a reatividade a ACh

No presente trabalho foram estudadas as conseqüências do tratamento com losartan (15 mg/kg/dia) por dezoito dias, em animais controles e que sofreram lesão por cateter balão, sob reatividade à ACh (10^{-10} - 10^{-5} M). Foram feitas curvas concentrações-efeito para ACh em carótidas destes animais, na presença de endotélio.

A ACh promoveu relaxamento concentração-dependente em artérias carótidas de animais controles tratados com salina e losartan. Os resultados demonstram que não foram observadas diferenças significativas entre os valores de E_{max} dos dois grupos controle (grupo salina: $100,72 \pm 3,27$); (grupo losartan $99,96 \pm 1,14$) na presença do endotélio, (figura 40 e 41; tabela 30). Foi observado aumento significativo da potência (valores de pD_2) das artérias controles e contra-laterais do grupo losartan em relação às artérias controles e contra-laterais do grupo tratado com salina (tabela 30).

Figura 40: Efeito de relaxamento da ACh em artérias carótidas de animais controle e submetidos a cirurgia pelo cateter balão, tratados com salina (A) ou losartan (B) durante dezoito dias. As figuras representam curvas concentrações-efeito para ACh (10^{-10} - 10^{-5} M). Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 5 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle; **Contra:** Artéria carótida contra-lateral; **CE:** Com endotélio.

A lesão por cateter balão não promove alteração no E_{max} da ACh nas artérias contra-laterais do grupo salina ($102,12 \pm 3,35$), em relação aos valores obtidos em carótidas de animais não operados ($100,72 \pm 3,27$).

Tabela 30: Comparação entre Valores Emax e de pD_2 da ACh (-log EC_{50}) em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos à cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan por dezoito dias, na presença e ausência de endotélio.

Grupos Endotélio +	Controles Salina	Controles Losartan	Contra-laterais Salina	Contra-laterais Losartan
Emax $\pm$ EPM	100,72 $\pm$ 3,27 (n=5)	99,96 $\pm$ 1,14 (n=6)	102,12 $\pm$ 3,35 (n=5)	101,31 $\pm$ 0,94 (n=7)
$pD_2 \pm$ EPM	7,00 $\pm$ 0,09 (n=5)	7,71 $\pm$ 0,06 [#] (n=6)	7,04 $\pm$ 0,22 (n=5)	7,80 $\pm$ 0,25 [#] (n=7)

- Os dados representam à média $\pm$ EPM. **Emax** (valores de efeito máximo) Tratamento F: 0,13, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,39, $P > 0,05$. **Potência** (valores de pD_2) Tratamento F: 15,23, $P < 0,01$; Cirurgia F: 0,14, $P > 0,05$. (#) indica diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo tratado com salina (ANOVA duas vias, pós-teste de Bonferroni).

O tratamento com losartan do grupo operado, mantém o valor de Emax da ACh na artéria contra-lateral (101,31 $\pm$ 0,94), nos mesmos níveis da artéria controle (99,96 $\pm$ 1,14), na presença de endotélio (figura 40 e 41; tabela 30). Foram encontrados aumentos significativos da potência da ACh nas artérias controles e contra-laterais no grupo losartan em relação as artérias controles e contra-laterais do grupo salina (tabela 30).

Figura 41: Efeito máximo de relaxamento (Emax) da ACh em artérias carótidas isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina ou losartan durante dezoito dias. Efeito máximo de relaxamento (Emax) para ACh em artérias isoladas de animais controles e submetidos a cirurgia com cateter balão, tratados com salina e losartan. Os dados representam à média $\pm$ EPM ($n = 5 - 6$). **Cont.:** Artéria carótida controle. **Contra:** Artéria carótida contra-lateral. **CE:** Com endotélio. Tratamento F: 0,13, $P > 0,05$; Cirurgia F: 0,39, $P > 0,05$.

- ✓ Em síntese, o tratamento dos animais com losartan não promove mudanças nos valores de Emax das artérias controles e contra-laterais quando são comparadas ao Emax das artérias controles e contra-laterais dos animais tratados com salina. Porém, potencializa a ação da ACh nas artérias controles e contra-laterais dos animais tratados com losartan em relação as dos animais tratados com salina.

9. Discussão

DISCUSSÃO

O efeito de uma droga sobre um tecido depende de três fatores: da eficácia intrínseca do agonista, da sua afinidade pelos receptores e das características intrínsecas do tecido em estudo (FURCHGOTT & BURSZTYN, 1967).

Os parâmetros farmacológicos analisados neste estudo, relacionam-se aos valores de efeito máximo induzido pelo agonista (E_{max}) e de pD_2 ($-\log EC_{50}$ ou Potência). Esses parâmetros foram obtidos por regressão não-linear das curvas concentração-efeito realizadas para este agonista. Alterações nos parâmetros de E_{max} e pD_2 do agonista podem ser decorrentes de diferentes fatores tais como: alterações na densidade de receptores, na afinidade do agonista pelo receptor, no acesso da droga ao receptor (solubilidade da droga, condições do líquido nutriente e pH), das condições do tecido estudado e dos mecanismos de transdução (KENAKIN, 1997).

A geração de substâncias pelos tecidos estudados também influenciam a análise dos efeitos desencadeados pelos agonistas farmacológicos (KENAKIN, 1997). Muitas vezes, essas substâncias geradas pelos tecidos estabelecem interações sinérgicas ou antagônicas com os agonistas, constituindo assim, mecanismos locais moduladores das atividades vasomotoras dos agonistas farmacológicos (KENAKIN, 1997). Desse modo, a atuação desses mecanismos moduladores locais podem modificar o perfil da curva concentração-efeito e, conseqüentemente, os parâmetros farmacológicos obtidos pela análise das curvas (KENAKIN, 1997).

A parede das artérias é constituída por três camadas, a saber: adventícia, média e íntima. A camada mais externa, a adventícia, é constituída basicamente por fibroblastos e tecido conjuntivo. As células da musculatura lisa vascular são as constituintes da camada média e as células endoteliais representam a camada mais interna do vaso e uma de suas funções são que elas atuam como barreira física entre o sangue e tecidos subjacentes (DAVIES & HAGEN, 1993).

O modelo de lesão por cateter balão em carótida de ratos tem sido estudado para se compreender o processo de formação da camada neoíntima, em analogia ao processo de restenose clínica, uma importante limitação ao uso do procedimento, que pode ocorrer após a lesão vascular induzida pelo cateter balão (FERNES et al., 1992; FAXON et al., 1997).

O modelo de lesão vascular por cateter balão desencadeia denudação endotelial e distensão da parede do vaso através da ação mecânica de um balão inflável na extremidade (CLOWES et al., 1983). A participação do endotélio como modulador do tônus vascular é bem conhecida. Agindo como liberador de fatores que induzem ao relaxamento (NO, fator hiperpolarizante derivado de endotélio e prostaciclina) e fatores de contração (endoperóxidos, tromboxana A_2 e endotelinas) sob condições basais e quando estimulado por substâncias vasoativas ou estímulos físicos (LÜSCHER, 1993). Um desequilíbrio entre a liberação dos fatores de relaxamento e de contração liberados pelo endotélio resulta em alteração na modulação do tônus vascular (LÜSCHER, 1990). A proliferação das células do músculo liso em resposta a lesão endotelial por cateter balão é um processo característico que ocorre nas primeiras semanas após a injúria (CLOWES et al., 1983; ROSS, 1999).

Considerando que o endotélio regula o tônus vascular, diversos estudos foram realizados com o objetivo de estudar as funções contráteis e relaxantes após a denudação endotelial desencadeada pela lesão por cateter balão. Neste contexto, ANTONACCIO et al. (1994), observaram que duas semanas após a lesão por cateter balão em carótida de rato, ocorre redução significativa na amplitude das contrações máximas induzidas por diversos agonistas vasoconstritores na carótida ipsilateral, quando comparadas às respostas aos mesmos agentes na artéria contralateral a lesão, utilizada como controle nestes experimentos.

MILNER et al., (1997) demonstraram a ocorrência de uma resposta neurocompensatória na carótida contra-lateral à lesão por cateter balão, caracterizada por aumento transitório na densidade de nervos contendo neuropeptídeos sensoriais pró-inflamatórios nesse leito, não observado em artérias de animais controles intactos. Esses dados sugerem que a lesão por cateter balão promove alterações significativas na artéria contra-lateral, o que poderia comprometer seu uso como parâmetro controle das artérias ipsilaterais.

ACCORSI-MENDONÇA et al., (2004) demonstraram que ocorre aumento do E_{max} para Phe (4 e 7 dias da cirurgia por cateter balão) na artéria carótida contralateral em relação às artérias controles e ipsilaterais.

A Phe é uma catecolamina sintética que promove contração da artéria carótida pela estimulação de receptores do subtipo α_1 -adrenoceptores (DE OLIVEIRA et al, 1998), desencadeia contração no músculo liso vascular por ativar os

receptores acoplados a proteína Gq. A ativação da proteína Gq ativa a enzima fosfolipase C (PLC), que atua sob fosfolípides de membrana como, fosfatidil inositol bifosfato, (PIP_2), gerando diacilglicerol (DAG) e trifosfato de Inositol (IP_3). O IP_3 ativa seus receptores do retículo sarcoplasmático fazendo com que este libere cálcio das reservas sarcoplasmáticas. O íon cálcio se liga ao DAG e ativa a proteína quinase C (PKC), a qual fosforila canais de cálcio e com isto permite a entrada de cálcio do meio extracelular (SOMLYO e SOMLYO, 1998; SOMLYO e SOMLYO, 2000; SOMLYO et al., 1999). Essa concentração aumentada de cálcio na célula leva a formação do complexo Ca^{++} -calmodulina, que ativa quinase da cadeia leve da miosina (MLCK) e esta quinase, fosforila a cadeia leve da miosina desencadeando a contração muscular.

As células endoteliais da artéria carótida possuem receptores do tipo α_{1D} acoplados a proteína G_q , a qual promoveria um aumento citoplasmático de cálcio desencadeado via IP_3 e DAG, que ativará também a enzima óxido nítrico sintase endotelial, que atuará sob a L-arginina, produzindo óxido nítrico (NO). O NO irá se difundir para as células da musculatura lisa vascular desencadeando relaxamento, via GMP cíclico (GMPc) (SOMLYO e SOMLYO, 1998; SOMLYO e SOMLYO, 2000; SOMLYO et al., 1999).

ACCORSI-MENDONÇA et al., (2004) observaram aumento significativo do Emax da Phe para as artérias contra-laterais com endotélio aos 4 e 7 dias da lesão. Os resultados obtidos por nosso grupo de pesquisa corroboram com os de (MILNER et al., 1997) sobre mecanismos neurocompensatórios na artéria contra-lateral que são ativados pelo procedimento com o cateter balão.

Visando entender parte deste processo OLIVON (2006) estudou os mecanismos moleculares envolvidos neste aumento do Emax induzido pela Phe na artéria contra-lateral quatro dias após a lesão. Esse autor também confirmou o aumento do efeito máximo da Phe na artéria contra-lateral com endotélio e verificou que com a retirada do endotélio acarretava em redução significativa da resposta contrátil em relação aos respectivos controles.

OLIVON (2006) observou ainda que na presença do inibidor seletivo para ciclooxigenase-2 (COX-2), o SC-236, ocorreu a normalização do Emax da Phe na artéria contra-lateral. Os resultados deste trabalho apontam para o envolvimento do endotélio e de prostanóides vasoconstritores derivados de COX-2 nesta resposta.

Segundo ROSS (1999) a lesão por cateter balão desencadeia uma resposta inflamatória, e nesta resposta ocorre à formação de ânions superóxido (KULKARMI & ARMESTEAD, 2002).

Nos casos de inflamação como a lesão mecânica produzida pela passagem vaso pelo do cateter balão, duas isoformas de enzimas são importantes, a COX-1 e a COX-2, a primeira forma é uma enzima constitutiva ou expressa em baixos níveis nos tecidos normais (O'BANION, 1999; PAULSON et al., 2000), a segunda forma é induzida por processos inflamatórios, induzida em células endoteliais e células inflamatórias de placas ateroscleróticas humanas (SCHONBECK et al., 1999; BELTON et al., 2000).

COX-1 e COX-2 catalisam a reação de ciclooxygenação, em que o substrato ácido araquidônico (AA) e duas moléculas de O₂ são convertidas a Prostaglandina-G₂ (PGG₂). Logo em seguida, ocorre uma reação de peroxidação na qual a PGG₂ é reduzida para a Prostaglandina-H₂ (PGH₂) pela redução de dois elétrons. A PGH₂ é o precursor intermediário para todas isomerases tecido-específicas dos prostanóides (DAVIES et al., 1984; VANE et al., 1998).

No presente estudo tratamos os ratos com um fármaco anti-inflamatório não-esteróidal (AINE) celecoxibe antes e durante os dias que se seguiram a lesão vascular com cateter balão. O celecoxibe é um inibidor seletivo da enzima COX-2 com efeitos analgésico e anti-inflamatório, que é comumente usado em seres humanos para artrite reumatóide, osteoartrite (O'BANION, 1999; PAULSON et al., 2000; LAINE et al., 2008), e antitumoral por seus efeitos anti-proliferativos, pró-aptóicos (YANG, et al., 2004).

O tratamento com celecoxibe reduziu o Emax da Phe em artérias carótidas contra-laterais com endotélio, aos mesmos níveis dos animais controles tratados com celecoxibe ou salina, na presença de endotélio. Não foram observadas alterações da potência para a Phe nestes grupos. Esses resultados corroboram com resultados experimentais *in vitro* com inibidores seletivos da COX-2 realizados por ACCORSI-MENDONÇA et al., (2004) e OLIVON et al., (2006), sugerindo que produtos da COX-2 participam desta resposta.

Vários estudos (SHISHODIA et al., 2004; RAJU et al., 2005) têm demonstrado que o celecoxibe não depende somente da inibição da ciclooxygenase, mas também da síntese ou ativação de fatores nucleares como o NF-κB (fator de transcrição nuclear κB), um fator crucial para síntese de citocinas incluindo a CINC-1

(citocina quimioatraente para neutrófilos), e a produção de COX-2 durante a inflamação e condição febril.

Notavelmente Miyamoto e colaboradores (2006) demonstraram que o celecoxibe é capaz de prevenir encefalopatia autoimune experimental (EAE) em camundongos por bloquear a síntese de peptídeo quimioatraente para monócitos (MCP-1), P-selectina, e ICAM-1 (molécula de adesão intercelular), deste modo previne a infiltração de células inflamatórias dentro do sistema nervoso central (SNC). López-Parra et al., (2005) demonstraram que o celecoxibe potencializa ações do 15d-PGJ2 (um análogo desidratado da PGD₂ que possui atividade antipirética central em ratos) atuando como agonista do receptor PPAR γ (receptor gama ativado pelo proliferador de peroxissomo).

Resultados semelhantes a este, em outros leitos vasculares, tem sido obtidos por outros pesquisadores (MUKAI et al., 2002; CEDIEL et al., 2003). ALVARES et al., (2005) observaram nas aortas de ratos espontaneamente hipertensos utilizando um inibidor seletivo para COX-2 (NS-398) reduzia a curva concentração-resposta para Phe, indicando a participação de produtos derivados da COX-2 neste aumento de resposta, mais não descartando a participação de outros mediadores como o ânion superóxido, que pode ser gerado pela COX-2 (KULKARMI & ARMESTEAD, 2002).

O tratamento dos animais com celecoxibe não normalizou o Emax da Phe nas artérias contra-laterais com a retirada do endotélio. Outra vez estes resultados corroboram com resultados obtidos por OLIVON (2006) nos quais não houve reversão da redução de Emax para a Phe na presença de SC-236. Não houve alterações de potência para estes grupos analisados, exceto a diferença de potência existente entre as artérias controles na ausência de endotélio tratados com celecoxibe e salina.

A lesão provocada pelo cateter balão causa aumento do Emax da contração máxima induzida pela Phe na artéria contra-lateral, aumento este que é em decorrência de produtos derivados da COX-2 (prostanóides). Neste estudo conseguimos normalizar a contração da Phe na contra-lateral utilizando como forma de tratamento o celecoxibe, o qual inibe a COX-2 no início da reação do AA, como já citado. Porém o celecoxibe fornece uma boa ferramenta para estudar os efeitos dos prostanóides gerados pela enzima COX-2, em vários modelos experimentais onde o efeito inflamatório se encontra presente.

Tem sido descrito que curvas para KCl avaliam a função contrátil da musculatura lisa vascular (BRIZZOLARA et al., 1994; ENGLISH et al., 2000). O KCl é um agente estimulante, que não utiliza receptores para induzir seus efeitos. Quando as concentrações do KCl estão aumentadas no meio extracelular ocorre despolarização das membranas celulares e a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem, levando ao aumento da concentração de cálcio citoplasmática e conseqüente contração muscular (BERRIDGE et al., 2005).

Resultados obtidos por este estudo, provenientes de artérias carótidas de animais, tratados com salina, controle e submetidos a quatro dias da lesão corroboram com resultados encontrados por OLIVON et al. (2006), pois ilustram que não há comprometimento da integridade muscular, uma vez que, a contração desencadeada pelo KCl não se encontra alterada quando comparada ao controle (DOUGLAS et al., 1994).

Além disso, o pré-tratamento com o celecoxibe não alterou os Emax do KCl nas artérias controles e contra-laterais, sugerindo que na resposta contracturante do KCl não há envolvimento de produtos da COX-2. A elevação de potência do KCl nas artérias contra-laterais sem endotélio, pode ser devido que o celecoxibe inibe alguma substância que sua ausência induza a uma potencialização da contração desencadeada pelo KCl.

O NO é um radical livre produzido endogenamente, cujos efeitos dependem da sua concentração no meio celular e controla diversos efeitos biológicos, incluindo vasodilatação, neurotransmissão, crescimento celular, apoptose e inflamação (HANAFY et al., 2001).

Para avaliar a integridade do endotélio vascular foram feitas curvas concentrações-resposta com a ACh. A ACh produz relaxamento na musculatura lisa vascular através da ativação dos receptores do tipo M_3 presente nas células endoteliais. Estes receptores são acoplados a proteína G_q , a qual uma vez ativada provoca o aumento citoplasmático de cálcio, desencadeado via IP_3 e DAG, ativando a enzima óxido nítrico sintase endotelial, que sintetiza NO. O NO irá se difundir para as células da musculatura lisa vascular desencadeando relaxamento, via GMP cíclico (GMPc) (SOMLYO e SOMLYO, 1998; SOMLYO et al., 1999; SOMLYO e SOMLYO, 2000). O GMPc pode atuar sob quatro moléculas endógenas que desencadeiam seus efeitos: (1) proteína quinase dependente de GMPc (PKG), (2)

canais ligados a nucleotídeos cíclicos, (3) proteína quinase dependente de AMPc (PKA) e (4) fosfodiesterase (HANAFY et al., 2001).

O relaxamento desencadeado pela ACh foram semelhantes, em artérias carótidas (controle e contra-lateral) de animais tratados com salina, demonstrando a integridade do endotélio nas artérias carótidas contra-laterais. Desta maneira, podemos sugerir que o aumento na reatividade vascular observado nas artérias contra-laterais à Phe não é decorrente de alterações no relaxamento dependente de endotélio. Entretanto, não se pode descartar a possibilidade de que o endotélio esteja liberando fatores contracturantes.

Demonstramos também que o tratamento com celecoxibe em animais controles e lesionados, por este trabalho, não provoca modificações nos parâmetros farmacológicos de efeito máximo e potência da ACh, exceto nas artérias carótidas dos animais controles tratados com celecoxibe.

No sistema vascular o ânion superóxido (O_2^-) pode ser produzido no endotélio, células da musculatura lisa vascular ou fibroblastos presente na camada adventícia pela ação de várias enzimas, entre elas: NAD(P)H oxidase, xantina oxidase, COX-2, isoforma endotelial da NOS (PAPAHARALAMBUS & GRIENDLING, 2007). Quando produzidos em excesso (desequilíbrio oxidativo), o O_2^- e as demais EROs podem promover lesão tecidual, podendo originar, desde distúrbios da homeostasia celular até a necrose celular, por exemplo: peroxidação de lipídios de membrana, fenômeno que altera os processos e gradientes transmembrana (TAYLOR., 1999).

A presença de ânion superóxido na artéria carótida contra-lateral, após a lesão por cateter balão foi confirmada por nosso grupo (OLIVON, 2006). A formação destes ânions reduziu significativamente após tratamento dos animais com celecoxibe (OLIVON, 2006). Considerando essa observação, no presente estudo verificamos quais as conseqüências do tratamento *in vivo* com o antioxidante Vitamina E, sobre a resposta compensatória á lesão com cateter balão, na artéria contra-lateral.

A Vitamina E é o nome dado a um coletivo de oito moléculas de ocorrência natural que agem como antioxidantes de cadeia aberta, prevenindo a formação de radicais livres em membranas biológicas através da remoção de radicais peroxil. A diferença entre estas oito moléculas (4 tocoferóis e 4 tocotrienóis) está no numero de grupamentos metila que estão presentes nos núcleos cromanóis

(alfa contém 3, beta e gama contém 2, enquanto delta possui apenas um) (BURTON E TRABER, 1990; LIEBLER, 1993; TRABER e PACKER, 1995).

Várias evidências associam estresse oxidativo a doenças cardiovasculares. No entanto, estudos realizados com antioxidantes como o α -tocoferol tem mostrado resultados controversos (MANDAMANCHI et al., 2005).

O tratamento com α -tocoferol foi capaz de restabelecer a função endotelial e diminuir os níveis de espécies reativas de oxigênio em pacientes com angina da coronária (MOTOYAMA et al., 1998), bem como reduzir anticorpos contra LDL oxidada em fumantes hipercolesterolêmicos, melhorando a disfunção endotelial destes pacientes (HEITZER et al., 1999), além de reduzir significativamente o risco de morte cardiovascular e infarto não-fatal do miocárdio de pacientes tratados com doses de 400 e 800 unidades internacionais por dia (STEPHENS et al., 1996).

Por outro lado, no Estudo de Avaliação de Resultados Preventivos do Coração (HOPES), foi observado que suplementação a vitamina E não reduziu a morbidade ou mortalidade oriundos de eventos cardiovasculares como derrames, insuficiência cardíaca congestiva, infarto do miocárdio, angina instável, amputações e revascularização em humanos (YUSUF et al., 2000).

BJORNEBOE et al., (1987) estudou a farmacocinética do α -tocoferol radioativo em ratos e observou que a meia-vida deste composto era de aproximadamente 12 minutos, que sofria redistribuição hepática de 50% da dose depois de aproximadamente 1 hora, e observaram que 10 minutos após administração intravenosa do α -tocoferol radioativo uma fração de 91% dele permanecia no plasma ligado a quilomícrons ($d < 1,006$ g/ml) e 7,8% em lipoproteínas de alta densidade (HDL, $1,05 < d < 1,21$ g/ml), e que após 24 horas de sua injeção, 11% do α -tocoferol era recuperado no fígado. BOSCOBOINIK et al., (1991) encontraram a EC_{50} em células da musculatura lisa vascular de ratos que era de 0,02 mg/ml, sendo também encontrada a dose letal para 50% dos animais (DL_{50}) para o α -tocoferol que era de aproximadamente 1g/ml/dia (TAKAHASHI et al., 1990), dose esta que induzia hemorragia em ratos.

Em nosso estudo os animais normais foram tratados com α -tocoferol durante sete dias. Como veículo foi utilizado o óleo de milho, que não alterou o Emax da Phe em artérias controles e contra-laterais a lesão (resultados não apresentados). O tratamento com α -tocoferol não modificou a resposta contrátil induzida pela Phe na artéria controle. Na artéria contra-lateral à lesão com e sem

endotélio, o tratamento com α -tocoferol promoveu alteração no Emax da Phe, que retornou aos níveis do controle. A ação antioxidante α -tocoferol pode justificar estes resultados, uma vez que esta substância remove as EROs presentes na artéria contra-lateral, as quais podem estar alterando a resposta desencadeada pela Phe (BURTON e TRABER, 1990; LIEBLER, 1993; TRABER e PACKER, 1995).

AZEVEDO et al., (2000) demonstraram a formação de EROs dois minutos após a lesão por cateter balão. Sugere-se que derivados do endotélio como o NO podem ser diminuídos pela ação da molécula do O_2^- , o que leva a redução da biodisponibilidade do NO, formando assim o peroxinitrito (NOO^-), que é uma poderosa molécula oxidante (RECKELHOFF e ROMERO, 2003; PAPA HARALAMBUS e GRIENDLING, 2007) reduzindo assim a reatividade do vaso. Deste modo, o α -tocoferol agiria reduzindo radicais livres (EROs) presentes na membrana plasmática evitando desta forma a peroxidação lipídica (LIEBER 1993), que também diminui a biodisponibilidade do NO. Como o desequilíbrio oxidativo supera o poder antioxidante (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e etc) de um organismo depois de uma lesão mecânica do endotélio por angioplastia (PAPA HARALAMBUS e GRIENDLING, 2007), o α -tocoferol entra na reação fazendo o seu papel antioxidante e doa o seu próton H^+ da sua cadeia fenil, para a molécula que está oxidada e impede assim a propagação da reação de peroxidação lipídica (BURTON e TRABER, 1990).

Outros mecanismos que podem ser propostos para os efeitos do α -tocoferol, os quais poderiam ser adicionados a sua ação antioxidante, são suas propriedades não-antioxidantes (WU et al., 1998; FREDMAN e KEANEY, 2001; WU et al., 2001; AZZI et al., 2001; AZZI et al., 2002; AZZI, 2004). Na literatura tem sido descrito que a inibição da proteína quinase C (PKC), é a causa bloqueio da proliferação celular das células da musculatura lisa vascular (AZZI et al., 2002); nas células endoteliais, a trombina induz ativação da PKC e secreção de endotelina, que são inibidas pelo α -tocoferol (AZZI et al., 2002). A inibição da atividade PKC pelo α -tocoferol no nível celular é devida a desfosforilação de proteínas, a proteína fosfatase A_2 (PPA_2) pode ser ativada pelo α -tocoferol e causar a desfosforilação de proteínas (AZZI et al., 2001; AZZI et al., 2002).

Um mecanismo adicional proposto para a redução do Emax de contração da Phe na artéria carótida contra-lateral pelo α -tocoferol, é o da inibição da COX-2, esta enzima é induzida em casos de inflamação por LPS (FABRICIO et al., 2007)

proposto por Wu et al., (1998). No seu trabalho ele mostra a indução da COX-2 em macrófagos do exsudato peritoneal de camundongos jovens e envelhecidos, tratados com Vitamina E (α -tocoferol) numa dieta de 30 ou 500 ppm (partes por milhão) durante um período de trinta dias. Eles adotaram o camundongo tratado com 30 ppm de Vitamina E diária como controle, e posteriormente, comparou com os quatro grupos de animais entre si. E os resultados do seu trabalho apontam que os ratos envelhecidos tratados com uma dieta de 30 ppm de vitamina E eram os que tinham maior atividade da COX-2 expressa pela conversão do AA em PGE₂, e esse aumento da atividade da COX-2 era revertido pelo tratamento desses ratos com uma dieta de 500 ppm de vitamina E. A observação de que o α -tocoferol inibe a atividade da COX em camundongos com faixa etária avançada mais não nos jovens, suporta a noção de muitos estudos que tem demonstrado aumento da formação de peróxidos de lipídeos em diferentes tecidos com a idade animal. O radical livre NO tem sido mostrado estar envolvido na regulação da atividade da COX e metabolismo de eicosanóide. Tem sido sugerido que o NO estimula diretamente a atividade da COX (SALVEMINI et al., 1995).

NO em presença de ânion superóxido, forma o peroxinitrito, e este, aumenta a atividade da COX sem afetar sua expressão. No presente estudo nossa hipótese foi de que a diminuição do NO e formação de ONOO poderiam mediar à inibição da atividade da COX pela Vitamina E. Para testar esta hipótese foi conduzido um estudo similar por BEHARKA et al., (2000) que sugerem que o α -tocoferol reduz a atividade da COX em macrófagos de camundongos envelhecidos por diminuir a produção de NO, que levariam a uma menor produção de ONOO por esses macrófagos.

Corroborando com estes resultados ÇINAR et al., (2001) no qual eles trabalharam com reatividade em anéis de aorta de ratos controles, diabéticos induzido por espreptozotocina, e destes últimos tratados com dieta de suplementação de 1000 mg/Kg da Vitamina E.

ÇINAR et al., (2001) ao estudarem os efeitos da Phe e 5-HT (5-hidroxitriptamina) e da acetilcolina (ACh), demonstraram que as curvas para Phe e 5-HT em aorta sem endotélio, de ratos diabéticos, estavam aumentadas significativamente em relação ao animal controle. E que o tratamento de suplementação de Vitamina E normalizava as curvas de Phe e 5-HT para os níveis do animal controle. O autores verificaram ainda que ocorresse prejuízo para o

relaxamento produzido pela ACh para os ratos diabéticos em relação ao controle, e que foi aumentado nos ratos diabéticos tratados com essa suplementação.

A justificativa proposta por ÇINAR et al., (2001) para as curvas concentrações-resposta foram às seguintes: o prejuízo do relaxamento para a ACh esta no fato de que ratos diabéticos tem uma peroxidação lipídica excessiva e por isto diminuição da biodisponibilidade de NO, o que leva a um menor relaxamento dependente do endotélio, e que a vitamina E reage com essas EROs protegendo o endotélio da peroxidação lipídica. Para as reversões dos Emax nas curvas de contração da Phe e 5-HT ocorreria normalização da via PKC-diacilglicerol que se encontrava aumentada nos ratos diabéticos em resposta aos agonistas além do efeito antioxidante da Vitamina E.

No presente estudo demonstramos que o efeito do tratamento com α -tocoferol não modificaram os parâmetros farmacológicos de Emax e potência do KCl em artérias carótidas de animais controles e lesionados pelo balão cateterismo, na presença e ausência de endotélio. Como evidenciado anteriormente por ÇINAR et al., (2001), pois não encontraram diferenças significativas para a potência e Emax das curvas para o KCl dos três grupos analisados: controles, diabéticos e diabéticos tratados com Vitamina E.

Também observamos em nosso estudo que o tratamento com α -tocoferol não altera o Emax da ACh o qual é dependente de endotélio, entretanto reduz a potência nos animais controles.

ACCORSI-MENDONÇA et al., (2004) observou aumento significativo do Emax para a Ang II nas artérias contra-laterais com endotélio aos 15 e 30 dias de lesão. A angiotensina II é um poderoso peptídeo vasoconstritor que induz a secreção de aldosterona, aumenta moléculas de adesão, citocinas e quimiocinas e exerce efeitos pró-inflamatórios em leucócitos, células endoteliais, da musculatura lisa vascular e apresenta um papel central na patogênese das doenças cardiovasculares e renais (DANDONA et al., 2004; TOYUZ, 2005). O losartan pode ser usado como um fármaco de escolha para tratar patologias como hipertensão e aterosclerose, pertencendo à classe dos antagonistas de receptores AT₁ para angiotensina II, estando os receptores AT₁ bloqueados, os efeitos do sistema renina-angiotensina são mediados pelo receptor AT₂, os quais são: NO, um vasodilatador anti-inflamatório, que também reduz a agregação plaquetária, efeitos anti-proliferativo, anti-apoptótico e etc (DANDONA et al., 2004; TIMMERMANS et al., 1993).

No presente estudo, utilizamos a salina por 18 dias como controle para o tratamento com losartan de ratos controles e lesionados. Nossos resultados corroboram com os resultados obtidos anteriormente pelo nosso grupo, demonstrando aumento de Emax induzido pela Ang II nas artérias contra-laterais em relação a artérias de animais controles na presença de endotélio; e redução do Emax do KCl nas artéria contra-laterais quando comparadas as artérias dos animais controles com endotélio. Este tratamento com losartan normalizou o Emax da Ang II nas artérias contra-laterais em relação a artérias dos animais controles tratados, com salina e losartan, na presença de endotélio, demonstrando que o tratamento com losartan por 18 dias reduz o aumento de Emax da Ang II causado pela lesão por cateter balão. Esse resultado evidencia o retorno da participação do endotélio na contração desencadeada pela Ang II nas carótidas contra-laterais com e sem endotélio. De maneira similar ao efeito máximo da Ang II obtido nas artérias controles tratadas com losartan.

Somoza et al., (2005) utilizando ratos Sprague-Dawley, sugerem que a camada adventícia modula a resposta vascular de vasoconstritores como a Ang II, que também podem agir sobre receptores AT_2 presentes nesta camada e juntamente com os receptores AT_2 do endotélio, atuando na vasodilatação, através da produção do NO. Evidenciam também que o tratamento com antagonistas de receptores AT_1 poderiam ter efeitos em diferentes níveis do sistema renina-angiotensina, tais como: inibição direta da contração de células da musculatura lisa vascular; bloqueio direto do superóxido na parede dos vasos; aumento da liberação de NO por meio da elevação da estimulação de receptores AT_2 da adventícia e redução indireta da produção de superóxido pelo aumento da síntese de NO.

ALVARÉS et al., (2007) demonstraram que em aorta de ratos o receptor AT_1 está envolvido no aumento da expressão de COX-2, sendo que os produtos da ação desta enzima promove aumento do Emax da Phe nas artérias aortas de animais espontaneamente hipertensos. Este grupo utilizou animais normotensos e hipertensos, tratados ou não com losartan. Nos animais hipertensos tratados com losartan, não se observou diferenças no Emax da Phe em relação aos animais hipertensos sem tratamento, sugerindo a participação dos receptores AT_1 na elevação da expressão de COX-2 o que levava a um aumento na geração de produtos derivados da COX-2 que induziria ao aumento da resposta a Phe. Não foi observado alterações no Emax induzido pela Phe em animais normotensos tratados

em comparação aos não tratados. Deste modo, podemos sugerir que o losartan normalizou o efeito máximo induzido pela Ang II nas artérias contra-laterais com endotélio, indicando que os receptores AT_1 participam da resposta aumentada encontrada nas carótidas contra-laterais dos animais tratados com salina. Embora, como sugerido por ACCORSI-MENDONÇA et al., (2004) houvesse a participação de produtos da COX-1 na resposta desencadeada pela Ang II nas artérias contra-laterais com endotélio, quinze e trintas dias após a lesão.

No presente estudo avaliou-se o efeito do tratamento com losartan sobre as curvas de contração induzida pela Phe. Não foram observadas alterações entre as contrações desencadeadas por esse agonista nas carótidas de animais controles tratados com losartan. O losartan reduziu o Emax da Phe de artérias contra-laterais com e sem endotélio, em relação ao das artérias contra-laterais controles, na presença e ausência de endotélio.

Existem vários trabalhos na literatura (BALT et al., 2001; DENDORFER et al., 2002; BALT et al., 2003; DENDORFER et al., 2004; BROWN et al., 2007) que afirmam que o tratamento realizado com antagonistas de receptores AT_1 para Ang II ou inibidores da ECA (iECAs) reduzem o efeito facilitório induzida pela Ang II através do receptores AT_1 pré-sinápticos do neurônios do sistema nervoso simpático, sob a liberação da noradrenalina (NA) para as células da musculatura lisa vascular. Dendorfer et al., (2004) demonstram que o pré-tratamento com losartan e candesartan de animais controles e espontaneamente hipertensos, anestesiados, atenua os efeitos pressóricos da noradrenalina. Neste estudo os autores observaram uma dessensibilização dos receptores adrenérgicos das células da musculatura lisa vascular em função do bloqueio dos receptores AT_1 pelo pré-tratamento com losartan, através da recaptação da noradrenalina via proteína transportadora de NA e do efeito auto-inibitório mediado pelos receptores α_2 -adrenérgicos.

Portanto, baseado neste estudo de DENDORFER et al., (2004), sugerimos que a redução do efeito máximo da Phe obtido pela artérias contra-laterais dos animais tratados com losartan, pode ser em decorrência de uma dessensibilização dos receptores α -adrenérgicos da musculatura lisa vascular.

Esse projeto demonstrou as conseqüências do tratamento com losartan sobre o Emax induzido pelo KCl. E os resultados deste estudo foi que o tratamento com losartan não reverte à redução significativa do Emax nas artérias contra-laterais na presença de endotélio. Esses resultados sugerem a não participação dos

receptores AT_1 para Ang II com a resposta encontrada nas artérias contra-laterais dos animais tratados com salina.

O nosso estudo verificou a influência do tratamento com losartan sobre o E_{max} de relaxamento desencadeado pela ACh. Não foram observados valores com alterações do E_{max} da ACh dos animais lesionados e controles tratados com losartan em relação ao grupo tratado com salina. Embora, uma potencialização para a ACh nas artérias controles e contra-laterais dos animais tratados com losartan em relação as artérias controles e contra-laterais dos animais tratados com salina.

Inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECAs) e antagonistas dos receptores AT_1 para Ang II, tem sido utilizados em seres humanos e animais para melhorar a disfunção endotelial e remodelamento vascular, presentes na hipertensão e no aumento da faixa etária por exemplo (MUKAI et al., 2002; CEDIEL et al., 2003). MUKAI et al., (2002) estudaram a relação entre idade dos animais e função endotelial, e observaram que quanto maior a faixa etária destes animais maior é a disfunção endotelial em analogia a animais jovens. Estes pesquisadores fizeram alguns tratamentos dos animais com faixa etária avançada, e dentre estes tratamentos haviam um iECA e um antagonista de receptores AT_1 , e nestes dois tratamentos houve uma normalização do E_{max} de relaxamento da ACh nas artérias aortas destes animais, em comparação ao E_{max} obtido nas mesmas artérias de animais jovens.

Ainda, ratos controles e hipertensos espontaneamente, tratados com losartan, apresentaram elevações de E_{max} de relaxamento para a ACh nas artérias aortas (ÁLVARES et al., 2007). CEDIEL et al., (2003) estudaram os efeitos do bloqueio dos receptores AT_1 com o candersatan e o status redox hepático em ratos hipertensos espontaneamente em comparação a animais controles. E observaram que o tratamento com candersatan melhorava a disfunção endotelial, aumentando o E_{max} de relaxamento para a ACh nas artérias aortas dos animais hipertensos em relação ao efeito máximo das artérias dos animais controles.

A inibição do sistema renina-angiotensina (SRA) em animais com faixa etária avançada ou hipertensos espontaneamente, com um iECA e/ou antagonista de receptores AT_1 , inibem a produção de fatores vasoconstritores derivados da COX-2, formação de ânion superóxido, melhoram o status redox hepático, aumentam a expressão da eNOS (NO sintase endotelial). Todos esses fatores fazem com que haja maior biodisponibilidade do NO para o endotélio destes

animais, sendo por esta razão que ocorre aumento do Emax da ACh nas artérias afetadas pela disfunção endotelial.

Nossos resultados demonstram que tratamento com losartan potencializa a ACh nos animais controles e lesionados, o que nos leva a sugerir que a Ang II modula negativamente o relaxamento desencadeado pela ACh.

A lesão por cateter balão em carótida de ratos promove alterações funcionais no organismo dos animais submetidos à lesão que se refletem em modificações nos valores de Emax obtidos dos agonistas estudados em artérias ipsilaterais e contra-laterais. Essas alterações de valores estavam relacionados com EROs, prostanóides gerados pelas duas formas de COX e receptores AT₁ em diferentes tempos. Nosso estudo mostrou de maneira inédita, que o tratamento destes animais com celecoxibe, α -tocoferol e losartan fossem capazes de normalizar os valores das curvas aos mesmos níveis de efeito máximos das artérias controles.

10. Referência Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCORSI-MENDONÇA, D., CORRÊA, F.M.A., PAIVA, T.B., de SOUZA, H.P., LAURINDO, F.M.R., de OLIVEIRA, A.M., (2004). The balloon catheter induces an increase in contralateral carotid artery reactivity to angiotensin II and phenylephrine. *British Journal of Pharmacology*, 79-88.

ARDAILLOU, R (1999). Angiotensin receptors *J. Am. Soc. Nephrol.*, S30-S39.

ÁLVARES, Y.; PÉREZ-GIRÓN, J.; HERNÁNZ, R.; BRIONES, A. M.; REDONDO, A. G.; BELTRÁN, A.; ALONSO, M. J.; SALAICES, M. (2007) Losartan reduces the increased participation of cyclooxygenase-2-derived products in vascular responses of hypertensive rats. *JPET* ; 321:381–388.

ÁLVAREZ Y, BRIONES AM, BALFAGÓN G, ALONSO MJ, AND SALAICES M (2005) Hypertension increases the participation of vasoconstrictor prostanoids from cyclooxygenase-2 in phenylephrine responses. *J Hypertension*, 23:767–777.

ANTONACCIO, M. J.; NORMANDIN, D.; FERRER, P (1994). Reduced contractile function after balloon denudation of rat carotid arteries. *European J. Pharm.*; 256: 17-21.

AZEVEDO, L. C. P. et al (2000). Oxidative stress as a signaling mechanism of the vascular response to injury: the redox hypothesis of restenosis. *Cardiovas Res*, 436-45.

AZZI, A (2004). The role of α -tocopherol in preventing disease. *Eur J Nutr*, 18 – 25.

AZZI, A.; BREYER, I.; FEHER, M.; RICCIARELLI, R.; STOCKER, A.; ZIMMER, S. E. ZINGG, JEAN-MARC.(2001). Nonantioxidant Functions of α -Tocopherol in Smooth Muscle Cells. *The Journal of Nutrition*, 378S – 381S

AZZI, A.; RICCIARELLI, R.E; ZINGGA, JEAN-MARC.(2002). Non-antioxidant molecular functions of α -tocopherol (vitamin E). *FEBS Letters*, 8 – 10.

BEHARKA, A. A., HAN, S. N., ADOLFSSON, O., WU, D., SMITH, D., LIPMAN, R., CAO, G., MEYDANI, M. & MEYDANI, S. (2000). Long-term dietary antioxidant supplementation reduces production of selected inflammatory mediators by murine macrophages. *Nutr. Res.* 20: 281–296.

BEIERWALTES W.H.; CARRETERO, O (1992). A. Nonprostanoid endothelium-derived factors inhibit renin release. *Hypertension*, 1168–1173.

BELTON, O., BYRNE, D., KEARNEY, D., LEAHY, A. & FITZGERALD, D.J. (2000). Cyclooxygenase-1 and -2-dependent prostacyclin formation in patients with atherosclerosis. *Circulation*, 102, 840–845.

BERRIDGE, M.J.; BOOTMAN, M.D.; RODERICK, H.L (2005). Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodeling. *Nature*, 517-529.

BIJL, J (2003). Endothelial activation, endothelial dysfunction and premature atherosclerosis in systemic autoimmune diseases. *Neth. J. Med*, 273-7.

BJORNEBOE, A.; BJORNEBOE, A. G.E., DREVON, C.A (1987). Serum half-life, distribution, hepatic uptake and biliary excretion of α -tocopherol in rats. *Biochimica et Biophysica Acta*, 175-181.

BJORNEBOE, A.; BJORNEBOE, A. G.E., HAGEN, B.F.; NOSSEN, J.O.; DREVON, C.A (1987). Secretion of α -tocopherol from cultured rat hepatocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 199-205.

BONOMINI, F.; TENGATTINI, S.; FABIANO, A.; BIANCHI, R.; REZZANI, R (2008). Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol. Histopathol*, 381-390.

BOULANGER, C. M.; CAPUTO, L.; LEVY, B. I (1995). Endothelial AT1-mediated release of nitric oxide decreases angiotensin II contractions in rat carotid artery. *Hypertension*, 752-777.

BRIZZOLARA, A. L.; STEWART-LEE, A.; BURNSTOCK, G (1994). Responses of rabbit basilar arteries to vasoconstrictor and vasodilator agents: The effects of atherosclerosis, age and sex. *J Vasc Res*, 106-113.

BRUIJNS, R.H.; VAN KLEEF, E.M.; SMITS, J.F.; DE MEY, J.G.; DAEMEN, M.J (1998). Effects of chemical sympathectomy on angiotensin II-induced neointimal growth in the balloon-injured rat carotid artery. *J. Vasc. Res*, 124-33.

BURTON, W., & TRABER, M. (1990). Vitamin E: Antioxidant Activity, Biokinetics, and Bioavailability. *Annu. Rev. Nutr.*, 357-382.

CAMPBELL, G. R.; CAMPBELL, J.H.; MANDERSON, J.A.; HERRIGAN, S.; RENNICK, R.E (1988). Arterial smooth muscle. *Arch. Pathol. Lab. Med*, 977-986.

CAPUTO, L.; BENESSIANO, J.; BOULANGER, C. M.; LÉVY, B. I (1995). Angiotensin II increases cGMP content via endothelial angiotensin II AT1 subtype receptors in the rat carotid artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1646-1651.

CEDIEL E, SANZ-ROSA D, OUBINˆA MP, DE LAS HERAS N, GONZÁLEZ PACHECO FR, VEGAZO O, JIMÉNEZ J, CACHOFEIRO V, AND LAHERA V. (2003) Effect of AT1 receptor blockade on hepatic redox status in SHR: possible relevance for endothelial function? *Am J Physiol*, 285:R674–R681.

CHALL, L.A. e LADD, R. J (1976). The effects of prostaglandins E1, E2 and F2-alpha on the cutaneous vasculature of the rat. *Br. J. Pharmacol*, 317-322.

CHAUDHARY, G.; SINHA, K.; GUPTA, Y.K (2003). Protective effect of exogenous administration of α -tocopherol in middle cerebral artery occlusion model of cerebral ischemia in rats. *Fundamental and Clin. Pharm*, 703-707.

CHIEN, L.; DAUM, G.; FOROUGH, R.; CLOWES, M.N.; WALTER, U.; CLOWES, A.W (1998). Over expression of human endothelial nitric oxide synthase on rat vascular smooth muscle cells and in balloon-injured carotid artery. *Circ. Res*, 862-870.

ÇINAR, G.M.; ÜLKER, S.; ALPER, G.; EVİNÇ, A (2001). Effect of Dietary Vitamin E Supplementation on Vascular Reactivity of Thoracic Aorta in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Pharmacology*, 56-64.

CLOWES, A.W., REIDY, M.A., CLOWES, M.M (1983). Kinetics of cellular proliferation after arterial injury, I: smooth muscle growth in the absence of endothelium. *Lab. Investing*, 327-333.

COCHON, S.; MISEREY, S.; MONNOT, C.; CORVOL, P.; CLAUSER, E. (1999). Several interesting phenotypes of the AT1 receptor produced by site-mutagenesis. *J Am Soc Nephrol*, S8-S14.

COOKE, J. P.; ANDON, N. A.; GIRERD, X. J.; HIRSCH, A. T.; CREAGER, M. A (1991). Arginine restores cholinergic relaxation of hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. *Circulation*, 1057-1062.

CRIVELLATO, E.; DAMIANI, D.; MALLARDI, F.; TRAVAN, L (1991). Suggestive evidence for a microanatomical relationship between mast cells and nerve fibres containing substance P, calcitonin gene related peptide, vasoactive intestinal polypeptide, and somatostatin in the rat mesentery. *Acta Anat*, 127-31.

DANDONA, F.; DHINDSA, S.; GHANIM, H.; CHAUDHURI, A (2007). Angiotensin II and inflammation: the effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockade. *J Hum Hypertens*, 20-7.

DANIEL, W. W. (1991). Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences. John Wiley & Sons, Inc, 5 th ed.

DAVIES, M.G., HAGEN, P.O (1993). The vascular endothelium. A new horizon. *Ann surg*, 593-609.

DAVIES, P.; BAILEY, J. GOLDENBERG, M.; FORD-HUTCHINSON, A.W.(1984). The role of arachidonic acid oxygenation products in pain and inflammation. *Ann Rev Immunol*, 2: 335-357.

DE GASPARO M, CATT KJ, INAGAMI T, WRIGHT JW, UNGER TH (2000). International Union of Pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol. Rev*, 415-472.

DE OLIVEIRA, A. M.; CAMPOS-MELLO, C.; LEITAO, M.C.; CORREA, F. M. (1998). Maturation and aging-related differences in responsiveness of rat aorta and carotid to alpha-adrenoceptor stimulation. *Pharmacology*, 305-13.

DENG, L.Y., LI, J.S. & SCHIFFRIN, E.L (1995). Endothelin receptor subtypes in resistance arteries from humans and rats. *Cardiovasc. Res*, 532–535.

DIMITROPOULOU, C.; WHITE, R.E.; FUCHS, L.; ZHANG, H.; CATRAVAS, J.D.; CARRIER, G.O. (2001). Angiotensin II relaxes microvessels via AT₂ receptors and Ca²⁺- activated K⁺ (BK_{Ca}) channels. *Hypertension*, 301-307.

DOUGLAS, S. A.; VICKERY-CLARK, L. M. & OHLSTEIN, E. H. (1994). Functional evidence that balloon angioplasty results in transient nitric synthase induction. *Eur J. Pharmacol*, 81-89.

ENDERMAN, D. H. and SCHIFRIN, E. L (2004). Endothelial dysfunction. *Journal Am. Soc. Nefrol*, 1983-1992.

ENGLISH, K. M.; JONES, R. D.; JONES, T. H. MORICE, A. H.; CHANNER, K. S. (2000). Aging reduces the responsiveness of coronary arteries from male Wistar rats to the vasodilatory action of testosterone. *Clin. Sci (Lond)*, 77-82.

FABRICIO, A. S.C.; VEIGA, F. H.; CRISTOFOLETTI, R.; NAVARRA, P.; SOUZA, G.E.P. (2005). The effects of selective and nonselective cyclooxygenase inhibitors on endothelin-1 induced fever in rats. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol*, 671-677.

FAXON, D.P., COATS, W., CURRIER, J. (1997). Remodeling of coronary artery after vascular injury. *Progr. Cardiovasc. Dis*, 129-140.

FERRARIO, C.L. (2002). Use of angiotensin II receptor blockers in animal models of atherosclerosis. *American Journal of Hypertension*, 9S-13S.

FILEP, J.; BATTISTINI, B.; COTE, Y.P.; BEAUDOIN, A.R.; SIROIS, P. (1991). Endothelin-1-induced prostacyclin release from bovine aortic endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 171-176.

FLEMING, I.; BUSSE, R. (2003). Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am. J Physiol Reg Integr Comp Physiol*, 1-12.

FÖRSTERMANN, U. (2008). Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, 338-349.

FORTUÑO, A.; JOSÉ, G. S.; MORENO, M. U.; DIEZ, J.; Oxidative stress and vascular remodelling. *Exp. Physiol.*, 457-462.

FRUCHART, J.C. & DURIEZ, P. (2001). Fundamental data on atherosclerosis. *Ann. Endocrinol.*, 93-100.

FUKADA, S.Y. e cols. (2004). Perivascular injury leads to a reduction in vascular reactivity of the collared and to an enhancement on contralateral carotid artery of rats. *Cardiovasc. Pathol.*, 251-9.

FUKADA, S.Y.; TIRAPELLE, C.R.; DE GODOY, M.A.; DE OLIVEIRA, A.M. (2005). Mechanisms underlying the endothelium-independent relaxation induced by angiotensin II in rat aorta. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 136-43.

FURCHGOTT, R. F.; BURSZTYN, P (1967). Comparison of dissociation constants of relative efficacies of selected agonists acting on parasympathetic receptors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 139, p. 882-899.

GONÇALVES, G.; ZORNOFF, L. A. M.; RIBEIRO, H. B.; OKOSHI, M. P.; CORDADO, F. R. S.; OKOSHI, K.; PADOVANI, C. R.; ARAGON, F. F.; CICOGNA. (2005). Blockade of renin-angiotensin in rats undergoing aortic stenosis. *Arq. Brasil. Cardio.*, 84: n. 4.

GONZÁLEZ, C.; GOMEZ, C.; MOLERO, F.; FERNÁNDEZ-ALONSO, M. S. (2001). The up regulation of angiotensin-converting enzyme during neoíntima formation does not have functional consequences. *Life Sci*, 1851-1860.

GRIENDLING, K. K.; FRIZTGERALD, G. A. (2003). Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: Basic mechanisms and *in vivo* monitoring of ROS. *Circulation*, 1912-1916.

GRIENDLING, K. K. and FRIZTGERALD, G. A. (2003) Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: Animal and human studies. *Circulation*, 2034-2040.

GROTE, K., DREXLER, H., SCHIEFFER. (2004). Renin-angiotensin system and atherosclerosis. *Nefrol. Dial. Transplant.*, 770-773.

GUPTA, R. S.; GUPTA, E. S.; DHAKAL, B. K.; THAKUR, A. R.; AHNN, JOOHONG. (2004). Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. *Mol. Cells.*, 132-139.

GUPTA, S.; SAROTRA, P.; AGGARWAL, T.; DUTTA, N.; AGNIHOTRI, N. (2007). Role of oxidative stress in celecoxib-induced renal damage in wistar rats. *Dig. Dis. Sci.*, 3092-3098.

HANAFY, K. A.; KRUMENACKER, J. S.; MURAD, F. (2001). NO nitrotyrosine, and GMP in signal transduction. *Med Sci Monit*, 801-819.

HEITZER, T., HERTTUALA, S., WILD, E., LUOMA, J., & DREXLER, H. (1999). Effect of Vitamin E on Endothelial vasodilator function in patients with hypercholesterolemia, chronic smoking or both. *J. Am. Coll. Cardiol*, 499-505.

HERNANDEZ-HERNANDEZ R, ARMAS-PADILLA MC, ARMAS-HERNANDEZ MJ, VELASCO M (1998). The prevalence of hypertension and the state of cardiovascular health in Venezuela and surrounding nations. *Ethn. Dis.*, 398-405.

HUSAIN, A. (1993) The chymase angiotensin systems in humans. *J. Hypertension.*, 1155-9.

HUSHANG, J. (1979) Development of carotide plaque. *Am. J. Surg.*, 224-227.

ISRAEL, A.; CIERCO M.; SOSA B. (2000). Angiotensin AT₂ receptors mediate vasodepressor response to footshock in rats. Role of kinins, nitric oxide and prostaglandins. *Eur. J. Pharmacol.*, 394: 103-108.

JANE E. F. e KEANEY JR. J.F (2001). Vitamin E Inhibition of Platelet Aggregation Is Independent of Antioxidant Activity. *The Journal of Nutrition*, 374S-377S.

JOLY, G. A.; SCHINI, V. B.; VANHOUTTE, P. M. (1992) Ballon injury and interleukin-1 β induce nitric oxide synthase activity in rat carotid arteries. *Circ Res*, 331-338.

KENAKIN, T. Pharmacologic analysis of drug-receptor interaction. Efficacy Lippincott-Raven, ed. 3, p. 289-330, 1997.

KON, J e JABS, K. (2004) Angiotensin in atherosclerosis. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 13: 291-297.

KRUM, H.; DENVER, R.; TZANIDIS, A.; MARTIN, P. (2001). Diagnostic and therapeutic potential of the endothelin system in patients with chronic heart failure. *Heart Failure Reviews*, 6: 341-352.

KULKARNI, M. & ARMSTEAD W. M .(2002). Relationship between NOC/oFQ, dynorphin, and COX-2 activation in impaired NMDAcerebrovasodilation after brain injury. *J. Neurotrauma* , 965-973.

KUNSCH, C; MEDFORD, RM. (1999) Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ. Res.*, 85: 753-766.

LAFONT, A.; FAXON, D. (1998). Why do animal models of post-angioplasty restenosis sometimes poorly predict the outcome of clinical trials? *Cardiov. Res.*, 39: 50-59.

LEAHY, K. M.; ORABERG, R. L.; ZWEIFEL, Y. W. B. S.; KOKI, A. T.; MASFERRER, J. L. (2002) Cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib reduces proliferation and induces apoptosis in angiogenic endothelial cells in vivo. *Cancer Research*, 62: 625-631.

LEE, P. C.; GIBBONS, G. H.; DZAU, V. J. (1993). Cellular and molecular mechanisms of coronary artery restenosis. *Coron. Artery Dis.*, 4: 254-259.

LEMAY, J.; HOU, Y.; TREMBALY, J.; deBLOIS, D. (2000). Evidence that nitric oxide regulates AT1-receptor antagonist and antagonist efficacy in rat injured carotid artery. *J. Cardiovasc Pharmacol*, 693-699.

LERMAN, A.; HOLMES, D.R.Jr.; BELL, M.R.; GARRAT, K.N.; NISHMURA, R.A.; BURNETT, J.C. (1995). Endothelin in coronary endothelial dysfunction and early atherosclerosis in humans. *Circulation*, 92: 2426-31.

LEVINE, J.D. et al. (1984) Intraneuronal substance P contributes to the severity of experimental arthritis. *Science*, 229: 547-549.

LIBBY, P., TANAKA, H. (1997). The molecular basis of restenosis. *Progr. Cardiovasc Dis.*, 40: 97-106.

LIEBLER, C. (1993). The Role of Metabolism in the Antioxidant Function of Vitamin E. *Critical Reviews in Toxicology*, 147-169.

LÓPEZ-PARRA M, CLÀRIA J, TITOS E, PLANAGUMÀ A, PÁRRIZAS M, MASFERRER JL, JIMÉNEZ W, ARROYO V, RIVERA F, RODÉS J. (2005) The selective cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib modulates the formation of vasoconstrictor eicosanoids and activates PPARgamma. Influence of albumin. *J Hepatol.* 42:75-81.

LOSCALZO, J. (2003). Oxidant stress: a key determinant of atherothrombosis. *Bioch Soc Transactions*; 31: part 5, 1059-1061.

LÜSCHER, T. F. (1993) The endothelium as a target and mediator of cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest*, v.23, p. 670-85.

LÜSCHER, T. F.; RICHARD, V.; TSUCHUDI, M.; YANG, Z.; BOULANGER, C. (1990). Endothelial control of vascular tone in large and small coronary arteries. *J Am Coll Card*, 519-27.

MADAMANCHI, N. R.; HAKIM, Z. S.; RUNGE, M. S. (2005) Oxidative stress in atherogenesis and arterial thrombosis: the disconnect between cellular studies and clinical outcomes. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3: 254-267.

MADAMANCHI, N. R.; VENDROV, A.; RUNGE, M. S. (2005). Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 25: 29-38.

MATSUDA, H., BEPPU, S., OHMORI, F., YAMADA, M. e MIYATAKE, K. (1993). Involvement of cyclo-oxygenase-generated vasodilating eicosanoid(s) in addition to nitric oxide in endothelin-1 induced endothelium-dependent vasorelaxation in guinea pig aorta. *Heart Vessels*, 8: 121-127.

McNAMARA, D. B.; BEDI, B.; AURORA, H.; TENA, L.; IGNARRO, L. J.; KADOWITZ, P. J.; AKERS, D. L. (1993). L-arginine inhibits balloon catheter-induced intima hyperplasia. *Bioch Bioph Res Comm*, 291-296.

MEHTA, J. L.; MOLAVI, B. (2004). Oxidative stress in cardiovascular disease: molecular basis of its deleterious effects, its detection, and therapeutic considerations. *Curr. Opin. Cardiol.*, 19: 488-493.

MEHTA, P. K. e GRIENDLING K. K. (2007). Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 292: C82–C97.

MILNER, P., CROWE, R., LOESCH, A., ANGLIN, S., BURNSTOCK, G. e MCEWAN, J. R. (1997). Neurocompensatory responses to balloon-catheter-induced injury of the carotid artery. *J. Vasc. Res.*, 34: 31-34.

MIYAMOTO, K., MIYAKE, S., MIZUNO, M., OKA, N., KUSUNOKI, S., YAMAMURA, T. (2006). Selective COX-2 inhibitor celecoxib prevents experimental autoimmune encephalomyelitis through COX-2-independent pathway. *Brain*, 129, 1984-1992.

MOE, O.; TEJEDOR, A.; CAMPBELL W.B.; ALPERN R.J.; HENRICH W.L. (1991). Effects of endothelin on in vitro renin secretion. *Am. J. Physiol.*, 260: E521–E525.

MORTON, J. J., BEATTIE, E. C., MacPherson, F. (1991). Differential effects of captopril

MOTOYAMA, T., KAWANO, H., & KUGIYAMMA, K. (1998). Vitamin E administration improves impairment of endothelium-dependent vasodilation in patients with coronary spastic angina. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1672-1679.

MUKAI Y, SHIMOKAWA H, HIGASHI M, MORIKAWA K, MATOBA T, HIROKI J, KUNIHIRO I, TALUKDER HM, AND TAKESHITA A. (2002) Inhibition of reninangiotensin system ameliorates endothelial dysfunction associated with aging in rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 22: 1445–1450.

NAVASUMRIT, P.; WARD, T. H.; DOOD, N.J. F.; O'CONNOR, P. J. (2000). Ethanol-induced free radicals and hepatic DNA strand breaks are prevented *in vivo* by antioxidants: effects of acute and chronic ethanol exposure. *Carcinogenesis*, 21: 93-99.

O'MALLEY, M. K.; HAGEN, P. O.; MIKAT, E. M.; COLE, C. W.; RADIC, Z. S.; McCANN, R. L. (1986). Increased vascular contraction and sensitivity to norepinephrine after endothelial denudation is inhibited by prazosin. *Surgery*, 33-44.

O'BANION, M. K. (1999) Cyclooxygenase-2: Molecular biology, pharmacology, and neurobiology. *Critical Reviews in Neurobiology*, 13 (1): 45-82.

OKUNISHI, B.J.; MIYAZAKI, M.; OKAMURA, T.; TADA, N. (1987). Different distribution of two types of angiotensin II generating enzymes in the aortic wall. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 149: 1186-92.

OLIVON, V. C. Mecanismos celulares envolvidos no aumento da reatividade vascular para (Phe) na artéria contra-lateral após a lesão por balão cateterismo. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

PAPAHARALAMBUS, C. A. e GRIENGLING, K. K. (2007). Basic mechanisms of oxidative stress and reactive oxygen species in cardiovascular injury. *Trends Cardiovasc. Med.*, 17: 48-54.

POLONIA, J.; FERREIRA-DE-ALMEIDA, J.; MATIAS, A et al. (1993). Renin-angiotensin-aldosterone, sympathetic and endothelin systems in normal and hypertensive pregnancy: response to postural and volume load stimuli. *J. Hypertens.*, 11: S242-S243.

QIAN, H., YANG, Y., LI, J., HUANG, J., DOU, K., YANG, G. (2007). The role of vascular stem cells in atherogenesis and post-angioplasty restenosis. *Ageing Res Rev.*, 25: 01- 19.

RAJAGOPALAN, S., MENG, X.P., RAMASAMY, S., HARRISON, D.G., GALIS, Z.S. (1997). Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular metalloproteinases *in vitro*. Implications for atherosclerotic plaque stability. *J. Clin. Invest.*, 98: 2572-2579.

RAJU, U., ARIGA, H., DITTMANN, K., NAKATA, E., ANG, K.K., MILAS, L. (2005). Inhibition of DNA repair as a mechanism of enhanced radioresponse of head and neck carcinoma cells by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 63, 520-528.

RAMANATHAN, K.; BALAKUMAR, B. S.; PANNEERSELVAM, C (2002). Effects of ascorbic acid and α -tocopherol on arsenic-induced oxidative stress. *Human and Exp. Toxicology.*, 21: 675-680.

RAO, P.N.P. e KNAUS, E.E. (2008). Evolution of Nosteroidal Anti – Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. *J. Pharm Pharmaceut Sci*, 11: 81S -110S.

RECKELHOFF, F. J. e ROMERO, C.J. (2003). Role of oxidative stress in angiotensin-induced hypertension. *Am. J. Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 893-912.

ROSS R. (1999) Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N. Eng. J. Med.*, 340: 115-126.

ROSSI, G.P.; SACCHETTO, A.; CESARI, M.; PESSINA, A.C. (1999). Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Cardiovasc. Res.*, 43: 300-7.

SALVEMINI, D., SETTLE, S. L., MASFERRER, J. L., SEIBERT, K., CURRIE, M. G. & NEEDLEMAN, P. (1995). Regulation of prostaglandin production by nitric oxide; anin vivo analysis. *Br. J. Pharmacol.* 114:1171–1178.

SCHMIDT-OTT, K. M.; KAGIYAMA, S.; PHILLIPS, M.I. (2000) The multiple actions of angiotensin II in atherosclerosis. *Regu. Pept.*, 25: 65-77.

SCHONBECK, U., SUKHOVA, G.K., GRABER, P., COULTERM, S. & LIBBY, P. (1999). Augmented expression of cyclooxygenase - 2 in human atherosclerotic lesions. *Am. J. Pathol.*, 155, 1281–1291.

SCHWARTZ, R.S. e HENRY, T.D. (2002) Pathophysiology of coronary artery restenosis. *Rev. Cardiovasc. Med.*, 3: S4-S9.

SHERER, Y e SHOENFELD, Y. (2006). Mechanisms of disease: atherosclerosis in autoimmune diseases. *Nature*, 2: 99-106.

SHIRPOOR, A.; SALAMI, S.; KHADEM-ANSARI, M. H.; ILKHANIZADEH, B.; PAKDEL, F. G.; KHADEMVAANI, K. (2008). Cardioprotective effect of vitamin E: rescues of diabetes-induced cardiac malfunction, oxidative stress, and apoptosis in rat. *J of Diabet. and the Complications.*, 1-7.

SHISHODIA, S., KOUL, D., AGGARWAL, B.B. (2004). Cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor celecoxib abrogates TNF-induced NF- κ B activation through inhibition of activation of I κ B α kinase and Akt in human non-small cell lung carcinoma: correlation with suppression of COX-2 synthesis. *J. Immunol.* 173, 2011-2022.

SIM, K.S e CHEN, W.S. (2006). Effects of losartan on angiotensin receptors in the hypertrophic rat heart. *Regulatory Peptides.*, 137: 140-146.

SINGH, U.; JIALAL, I. (2006). Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology*, 13: 129-142.

SOMLYO AP e SOMLYO AV. (1998). From pharmacomechanical coupling to G-proteins and myosin phosphatase. *Acta Physiol Scand* 164: 437–448.

SOMLYO AP e SOMLYO AV. (2000). Signal transduction by G-proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J Physiol* 522: 177–185.

SOMLYO AP, WU X, LALKER LA e SOMLYO AV. (1999). Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 134: 201– 234.

SOMOZA, B.; GONZÁLEZ, M. C.; GONZÁLEZ, J. M.; ABDERRAHIM, F.; ARRIBAS, S. M.; FERNANDES-ALFONSO, M. S. (2005) Modulatory role of the adventitia on noradrenaline and angiotensin II responses: role of endothelium an AT₂ receptors. *Cardiov. Research*, 65: 478-486.

SONG, K.; SHIOTA, N.; TAKAI, S.; TAKASHIMA, H.; IWASAKI, H.; KIM, S et al. (1998). Induction of angiotensin converting enzyme and angiotensin II receptors in the atherosclerotic aorta of high-cholesterol fed Cynomolgus monkeys. *Atherosclerosis*, 138: 171-82.

STEPHENS, N., PARSONS, A., SCHOFIELD, P., KELLY, F., CHEESEMAN, K., & MITCHINSON, M. (1996). Randomised controlled trial of Vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidants Study. *Lancet*, 781-786.

STROTH, U e UNGER, T. (1999) The renin-angiotensin system and its receptors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 33: S21-S28.

SUGDEN PH, CLERK A (1997). Regulation of the ERK subgroup of MAP kinase cascades through G protein-coupled receptors. *Cell Signal* 9: 337–351.

SUNG, CP; ARLETH, AJ; STORER, BL; OHLSTEIN, EH. (1994). Angiotensin type 1 receptors mediate smooth muscle proliferation and endothelin biosynthesis in rat vascular smooth muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 271: 429–437.

TAKAHASHI, K; KOMARU, T; TAKEDA, S; TAKEDA, M; KOSHIDA, R; NAKAYAMA, M; KOKUSHO, Y; KAWAKAMI, Y; KAWAKAMI, Y; YAMAGUCHI, N; MIYAZAWA, T; SHIMOKAWA, H; SHIRATO, K. (2006). γ -Tocopherol, but not α -tocopherol, potently inhibits neointimal formation induced by vascular injury in insulin resistant rats. *Journal of Mol. and Cellular Card.*, 41: 544-554.

TAKAHASHI, O.; ICHIKAWA, H.; SASAKI, M.. (1990) Hemorrhagic toxicity of d- α -tocopherol in the rat. *Toxicology*; 63; 157—165.

TAYLOR, WR. (1999). Hypertensive vascular disease and inflammationn mechanical and, humoral mechanisms. *Curr. Hyp. Rep.*, 1: 96-101.

THYBERG, J.; BLOMGREN, K.; HEDIN, U.; DRYJSKI, M. (1995). Phenotypic modulation of smooth muscle cells during the formation of neointimal thickenings in the rat carotidy artery after ballon injury: an electron-microscopic and stereological study. *Cell Tissue Res*, 421-433.

TIMMERMANS, P.B.W.M.; WONG, P.C.; CHIU, A.T.; HERBLIN, W.F.; BENFIELD, P.; CARINI, J.D.; LEE, R.J.; WEXLER, R.R.; SAYE, J.A.M. SMITH, R.D. (1993). Angiotensin II Receptors and Antagonists. *Pharmacol. Reviews.*, 45: 206-251.

TOYUZ, R. (2005) Reactive oxygen species as mediators of calcium signaling by angiotensin II: implications in vascular physiology and pathology. *Antioxidantes & Redox Signaling*, v. 7; n. 9 e 10: 1302-1314.

TRABER, M., & L., P. (1995). Vitamin E: Beyond Antioxidant Function. *The American Journal of Clinical Nutrition.* , 1501-1509.

VANE, J.R.; BAKHLE, Y.S. e BOTTING, R.M. (1998). Ciclooxygenases 1 and 2. *Ann. Rev. Pharmacol Toxicol*, 38: 97 -120.

VISWANATHAN, M.; STROMBERG, C.; SELTZER, A.; SAAVEDRA, J.M. (1992). Balloon angioplasty enhances the expression of angiotensin II AT₁ receptors in neointima of rat aorta. *J. Clin. Invest.*, 90: 1707-82.

WAINWRIGHT, C. L; MILLER, A. M.; WADSWORTH, R. M. (2001). Inflammation as a key event in the development of neointima following vascular balloon injury. *Clinical and Exp. Pharm. And Phys.*, 28: 891-95.

WEIDINGER, F. F.; McLENACHAN, J. M.; CYBULSKY, M. I.; GORDON, J. B.; RENNKE, H. G.; HOLLENBERG, N. K.; FALLON, J. T.; GANZ, P. COOKE, J. P. (1990). Persistent dysfunction of regenerated endothelium after balloon angioplasty of rabbit iliac artery. *Circulation*, 1667-1679.

WILSON, A. J. (2004). Vascular hyper-reactivity following arterial balloon injury; distant and delayed effects. *British J. Of Pharmacology*. 142, 3-4.

WINKLES, J.A.; ALBERTS, G.F.; BROGI, E.; LIBBY, P. (1993). Endothelin-1 and endothelin receptor atherosclerotic human arteries. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 191: 1081-8.

WU, DAYONG; HAYEK, M. G. E MEYDANI, S.N.(2001). Vitamin E and Macrophage Cyclooxygenase Regulation in the Aged. *The Journal of Nutrition*, 382S-388S.

XIA, Y.; ROMAN, L. D.; MASTERS, B. S.; ZWEIER, J. L. (1998) Inducible nitric-oxide synthase generates superoxide from the reductase domain. *J Biol Chem*, 273: 22635-22639.

YANG, B.C.; PHILLIPS, M.I.; MOHUCZY, D.; MENG, SHEN, L.; MEHTA P et al. (1998). Increase angiotensin II type 1 receptor expression in hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits. *Arteriocler. Thromb. Vasc. Biol.*, 18: 1433-9.

YANG, H.M.; KIM, H. S.; PARK, K. W.; YOU, H. Y.; JEON, S. I.; YOUN, S. W.; KIM, S. H.; OH, B. H.; LEE, M. M.; PARK, Y. B.; WALSH, K. (2004) Celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, reduces neointimal hyperplasia through inhibition of Akt signaling. *Circulation.*, 110: 301-308.

ZARGHAM, R. Preventing restenosis after angioplasty: a multistage approach. *Clinical Science.*, 114: 247-264.

Vale, B. N. Conseqüências dos tratamentos realizados com celecoxibe, α -tocoferol ou losartan sobre a reatividade em carótidas de ratos submetidos à lesão com cateter balão. 2009. 142f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciencias Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

ERRATA

Folha	Parágrafo/linha	Onde se lê	Leia-se
x	3/40	Palavras-chaves	Key words
14	2/15	...continuado até o terceiro dia após a lesão e no quarto dia foram feitos os experimentos de reatividade e morfologia.	...continuado até os terceiro e décimo sétimo dias após a lesão e nos quarto e décimo oitavo dias foram feitos os experimentos de reatividade e morfologia.
27	1/18	$0,45 \pm 0,03^{**}$ (n=5)	$0,45 \pm 0,03^{##}$ (n=5)
36	1/12	Na legenda da Tabela 6, (**) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação às artérias controles (salina e celecoxibe) e artéria contra-lateral tratada com celecoxibe.	(**) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação às artérias controle tratada com salina e contra-lateral tratada com celecoxibe.
38	1/12	Na legenda da Figura 10, (**) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação às artérias controles e contra-lateral tratadas com salina.	(**) indica diferença significativa ($P < 0,01$) em relação às artérias controle tratada com salina e contra-lateral tratada com celecoxibe.
50	2/18	Na legenda da Tabela 12, (***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria controle, e ao grupo tratado com α -tocoferol.	(***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação às artérias controles (salina e α -tocoferol), e a artéria contra-lateral tratada com α -tocoferol.
52	1/6	Na legenda da Figura 19,	(***) indica diferença

		(***) indica diferença significativa ($P < 0,001$) em relação à artéria controle e ao grupo tratado com α -tocoferol.	significativa ($P < 0,001$) em relação às artérias controles (salina e α -tocoferol), e a artéria contra-lateral tratada com α -tocoferol.
59	1/3	Os estudos das artérias tratadas com losartan durante 18 dias.	Os estudos das artérias tratadas com salina durante 18 dias.
72	2/9	Os resultados demonstram que foi observada aumento significativo entre os valores de Emax dos dois grupos controle (grupo salina $0,28 \pm 0,01$; grupo losartan $0,21 \pm 0,02$), na presença de endotélio, (figura 34 e 35; tabela 24).	Os resultados demonstram que foi observada redução significativa entre os valores de Emax dos dois grupos controles (grupo salina $0,28 \pm 0,01$; grupo losartan $0,21 \pm 0,02$), na presença de endotélio, (figura 34 e 35; tabela 24).
77	1/19	... contra-laterais, na ausência de endotélio ($0,40 \pm 0,02$), está no mesmo nível em relação ao valor observado nas artérias contra-laterais com endotélio ($0,30 \pm 0,01$).	... contra-laterais, na ausência de endotélio ($0,40 \pm 0,02$), não está no mesmo nível em relação ao valor observado nas artérias contra-laterais com endotélio ($0,30 \pm 0,01$).